

Universidad CEU Cardenal Herrera

Departamento de Odontología



Estudio “in vitro” de la cantidad de peróxido de hidrógeno que llega a la cámara pulpar y efectos sobre la superficie adamantina tras un proceso de blanqueamiento quimioactivo con diferentes productos comerciales

TESIS DOCTORAL

Presentada por:
Emilio José Sánchez Solís

Dirigida por:
Dra. M^a Celia Haya Fernández
Dr. José Antonio García Bautista

VALENCIA
2016

Agradecimientos:

A mis padres, Manuela y Emilio y a mi hermana Cristina, por ser siempre un apoyo incondicional en todo lo que me he propuesto en la vida, por darme su cariño y su amor.

A la Dra. M^a Celia Haya Fernández, mi directora. Gracias por ser mi profesora, directora y amiga. Por transmitirme tu gran sabiduría, humildad y constancia en toda mi etapa profesional.

Al Dr. José Antonio García Bautista, mi director. Gracias por tu apoyo siempre, tu buen hacer, tu enorme profesionalidad y sabiduría en el mundo de la química. Gracias director y amigo. Gracias Mireia.

Al Dr. José Cabanes Vila, gracias por tu ayuda siempre, este trabajo es el fruto de muchos años de investigación y del que formas una parte importante. Un grandísimo profesional, docente, investigador del que solo se puede escuchar y aprender.

A todos mis compañeros y amigos que han formado parte de mi vida en toda esta etapa de investigación por haberme ayudado en cualquier cosa que he necesitado. Gracias Alex.

ÍNDICE

1	Introducción	13
2	Revisión bibliográfica	21
2.1	Concepto de blanqueamiento dental	21
2.2	Los cromóforos	22
2.3	Discoloraciones dentales	24
2.3.1	Factores externos o extrínsecos	25
2.3.2	Factores internos o intrínsecos	26
2.4	Agentes blanqueadores	28
2.4.1	Concepto	28
2.4.2	Clasificación	28
2.4.3	Peróxido de hidrógeno	29
2.4.4	Peróxido de carbamida	29
2.5	Fundamentos químicos del blanqueamiento dental	30
2.5.1	Química de los blanqueadores	30
2.5.2	La química de los cromóforos	32
2.5.3	Reacciones químicas de los blanqueamientos dentales	34
2.6	Efectos adversos del blanqueamiento dental en la cavidad oral	36
2.6.1	Lesión de los tejidos blandos orales	36
2.6.2	Sensibilidad dentinaria	38
2.6.3	Toxicidad sistémica	41
2.6.4	Efectos microestructurales sobre la superficie dental	42
2.7	Anatomía dental bovina	43
2.8	Penetración del peróxido de hidrógeno a la cámara pulpar tras el blanqueamiento dental	45
2.9	Eficacia de los sistemas de blanqueamiento de peróxido de hidrógeno	47
2.10	Efectos de los agentes blanqueadores sobre la superficie del esmalte estudiados con microscopía electrónica de barrido (SEM)	48
3	Justificación del trabajo	53
4	Hipótesis del trabajo	59
5	Objetivos	63
6	Material y método	65
6.1	Tamaño de la muestra	67
6.1.1	Criterios de inclusión	67
6.1.2	Criterios de exclusión	67
6.2	Tratamiento de la muestra	68
6.3	Productos comerciales blanqueadores a estudiar	70
6.4	Toma de color de los dientes	72
6.5	Determinación de peróxido de hidrógeno en el interior del diente	74
6.5.1	Operaciones previas	74
6.5.2	Reactivos	75
6.5.3	Metodología utilizada para la medición	76
6.6	Estudio de la velocidad de disminución de la concentración de peróxido de hidrógeno durante su uso	77
6.6.1	Metodología	78
6.7	Referentes al estudio mediante el microscopio electrónico de barrido SEM	78
6.7.1	Tratamiento de las muestras	79

6.8	Análisis estadístico	80
7	Resultados	81
7.1	Cantidad total de peróxido de hidrógeno que llega a la cámara pulpar	83
7.1.1	Dentyses Tooth Whitening System	84
7.1.2	Norblanc	85
7.1.3	Opalescence Boost	86
7.1.4	Voco Perfect Bleach	87
7.1.5	Pola Office+	88
7.1.6	White Kiss Total Power	89
7.1.7	Zoom	90
7.2	Medición del color	92
7.2.1	Dentyses Tooth Whitening System	93
7.2.2	Norblanc	94
7.2.3	Opalescence Boost	95
7.2.4	Voco Perfect Bleach	96
7.2.5	Pola Office+	97
7.2.6	White Kiss Total Power	98
7.2.7	Zoom	99
7.3	Alteraciones estructurales del esmalte. SEM	85
7.3.1	Grupo control	102
7.3.2	Dentyses Tooth Whitening System	103
7.3.3	Norblanc	104
7.3.4	Opalescence Boost	105
7.3.5	Voco Perfect Bleach	106
7.3.6	Pola Office+	107
7.3.7	White Kiss Total Power	108
7.3.8	Zoom	109
7.4	Velocidad de disminución de la concentración de peróxido de hidrógeno durante su uso	110
7.4.1	Dentyses Tooth Whitening System	110
7.4.2	Norblanc	111
7.4.3	Opalescence Boost	112
7.4.4	Voco Perfect Bleach	112
7.4.5	Pola Office+	113
7.4.6	White Kiss Total Power	114
7.4.7	Zoom	115
8	Discusión	117
8.1	Cantidad de peróxido de hidrógeno que penetra a la cámara pulpar	119
8.2	Eficacia de los sistemas de blanqueamiento de peróxido de hidrógeno quimioactivado	121
8.3	Efectos del blanqueamiento dental en la superficie del esmalte	124
8.4	Velocidad de disminución de la concentración de peróxido de hidrógeno durante su uso	127
9	Conclusiones	131
10	Bibliografía	135

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

En una sociedad, en la que el culto a la imagen es una realidad, el blanqueamiento dental, es actualmente uno de los tratamientos más demandados en odontología. El estereotipo de belleza actual va unido de forma inexcusable a una sonrisa blanca y luminosa. El patrón de belleza pasa por tener unos dientes blanquísimos, simétricos, bien contorneados y alineados, que transmiten al observador una sensación de juventud, salud y limpieza¹.

La estética dental ha demostrado estar relacionada con la personalidad y el carácter o, en otras palabras, una pobre estética dental frecuentemente se relaciona con una personalidad débil donde prepondera la falta de confianza, generando consecuencias en el área social, educacional y ocupacional. Además de esto, son grandes indicativos de que la estética dental es importante en el contexto general del paciente, y constituye parte fundamental de la imagen que cada individuo tiene de su propia apariencia².

El tercio inferior de la cara revela de manera muy evidente, la imagen del individuo. Los pacientes, se dejan influir frenéticamente, por los artículos periodísticos que aparecen en las revistas de moda. En EE.UU. las exigencias estéticas se manifestaron mucho antes que en Europa, cuando a mediados de los ochenta, se descubrió por casualidad, las propiedades blanqueadoras del peróxido de carbamida. A día de hoy, la población presenta una gran preocupación por la estética dental, buscando en nuevos procedimientos y materiales la mejora de su sonrisa³.

El requerimiento de dientes más blancos, se ha convertido en uno de los mayores quehaceres en la práctica dental, ya que la discoloración de uno o un grupo de dientes, interfiere negativamente con la armonía de la sonrisa^{4, 5}. Para solucionar este problema, la odontología estética cuenta con distintas medidas correctivas como: carillas, coronas, restauraciones de resina y el blanqueamiento dental.

El blanqueamiento dental es un procedimiento terapéutico de carácter conservador, indicado en el tratamiento de las alteraciones del color dental y permite a los pacientes alcanzar un color dental acorde a sus expectativas y a los cánones estéticos aceptados en la actualidad. Este proceso se utiliza para tratar los dientes con fines estéticos, eliminando descoloraciones de origen extrínseco o intrínseco⁶.

El blanqueamiento dental, representa una opción conservadora y de fácil manejo, características que lo han convertido en un tratamiento muy popular^{7,8}.

A pesar de los resultados satisfactorios conseguidos con esta técnica, innumerables investigaciones han puesto en evidencia problemas de lesiones de tejidos blandos, como: úlceras, quemaduras e incluso necrosis de las papilas, hipersensibilidad dental y modificaciones de la estructura dental^{7, 9, 10}, además de una disminución significativa de los valores de adhesión de materiales odontológicos^{11, 12}.

Actualmente, muchas pacientes desean mejorar el aspecto de sus dientes, y se someten a un tratamiento de blanqueamiento dental sin reflexionar sobre sus posibles efectos adversos. La Asociación Dental Americana (ADA)¹³ ha expresado su preocupación con respecto a la seguridad de los productos blanqueadores, principalmente los utilizados de forma incontrolada en el hogar, y ha recomendado limitar inicialmente su uso, hasta que se haya establecido, totalmente su seguridad^{14,15}.

En la misma línea que la ADA, el Consejo de Dentistas de Europa, anunció la implantación de una nueva normativa para finales de 2012.

En ella, se anunció que se iba a restringir el uso de productos blanqueadores de alta concentración, con la intención de regular el manejo de estos productos en cuanto a concentraciones. A este respecto, se publicó la Orden del Ministerio de Sanidad SSI/2260/2012, de 16 de octubre, por la que se modificaba el anexo III del Real Decreto 1599/1977, de 17 de octubre, sobre

productos cosméticos. El objetivo, era evitar que los productos blanqueadores fueran manejados por personas no preparadas, sin ningún tipo de control¹⁶.

Esta nueva normativa, indica que los productos blanqueadores de libre disposición, los que se pueden adquirir libremente en grandes superficies, son aquellos cuya concentración no exceda del 0,1% de peróxido de hidrógeno; mientras que los productos de concentración comprendida entre el 0,1% y el 6% de peróxido de hidrógeno, se denominan “productos cosméticos blanqueadores” y son los únicos que pueden utilizar los dentistas¹⁶.

España consiguió una moratoria mínima de dos años en la que los productos blanqueadores con una concentración por encima del 6% de peróxido de hidrógeno pasaban a ser calificados como “productos sanitarios de higiene personal” y podían ser utilizados en la clínica dental¹⁶.

Amengual J¹⁷, señala que las nuevas líneas de investigación, en torno a los productos blanqueadores, van hacia el uso de una serie de metales que contribuyen a incrementar la velocidad de descomposición de los peróxidos y a una mayor liberación de radicales libres. Incide, en que la intención es potenciar la descomposición, no mediante luz, sino simplemente de forma química, para que las reacciones sean más vigorosas y el producto blanquee más. Una de las líneas de futuro podría ser la nanotecnología aplicada al perborato, para hacer que los “cluster” que transportan el peróxido, sean lo más pequeños posibles

Oviedo JJ¹⁷, señala que los investigadores, están buscando sobre todo, reducir al máximo la sensibilidad, que parece que es lo que más preocupa ahora mismo a algunos organismos oficiales, utilizando para el blanqueamiento lámparas, que generen cada vez menos temperatura.

En el proceso de disociación del peróxido de hidrógeno, se produce una elevada concentración de especies de oxígeno reactivo o radicales libres (EOR), en forma mayoritaria de superóxidos, hidroxilos, y moléculas de

oxígeno reactivo, en estado singlete O_2^* , La hiperestesia originada por los radicales libres, se produce especialmente en las primeras fases del tratamiento, y en general, es afortunadamente reversible¹⁸.

Tras la utilización controlada en la consulta dental durante más de 100 años de peróxido de hidrógeno y de carbamida a diferentes concentraciones en el tratamiento de las discoloraciones dentarias, no se han descrito casos de necrosis pulpar atribuibles a dichos agentes blanqueadores, aunque sí a la elevación de temperatura¹⁹.

Las alternativas que propone la industria para reducir este efecto deletéreo que, aunque reversible, es molesto y puede ser incluso motivo de suspensión del tratamiento, son variadas; por una parte aumentar el pH de las fórmulas (hecho que disminuye su estabilidad) y por otro, incorporar sustancias que tengan un efecto desensibilizante, como son el flúor y el nitrato potásico, asociados o no a pastas remineralizantes sus distintas patentes (*Enamelón®*, *Discus®*; *Novamin®*, *Desensín/Sensodyne®*; *Recaldent®*, *MI Paste Plus®*; *Remin Pro®*), implementado en caso necesario, con analgésicos y antiinflamatorios¹⁹.

Con respecto al pH de las fórmulas, hay que señalar que en los procesos de disociación del peróxido de hidrógeno se producen radicales libres, que en las primeras fases de la reacción provocan una disminución del pH, el cual aumenta tras 15-20 minutos de proceso. A la hora de reacción el pH recupera su valor inicial¹⁹⁻²¹.

El efecto de los mencionados agentes desensibilizantes es doble:

- Fluoruro sódico: Tiene un efecto remineralizante del esmalte y de reducción del tamaño de los poros, con esto se consigue, un menor paso de sustancias a través de la superficie
- Nitrato potásico: Incrementa el umbral de excitación de las terminaciones sensitivas de las pulpas dentales¹⁹⁻²².

A la luz de lo anteriormente expuesto, y para intentar estudiar los efectos sobre la sensibilidad dental de los productos blanqueadores, se plantea aplicar una metodología, capaz de detectar la cantidad total de peróxido de hidrógeno, que llega a la cámara pulpar de un diente sometido a un proceso de blanqueamiento con diferentes productos blanqueadores comerciales, para su uso en la consulta, con concentraciones iguales o superiores al 6 % de peróxido de hidrógeno (PH).

Por último, mediante microscopia electrónica de barrido (SEM), se estudia el efecto de "grabado ácido" que produce el peróxido de hidrógeno sobre el esmalte, que da lugar a un patrón de grabado ácido, cuya profundidad y características varían en función del pH del producto y del tiempo de contacto. Este efecto, en condiciones "*in vivo*", puede resultar poco trascendente y aparentemente reversible, gracias a los mecanismos de remineralización propios del medio oral, existiendo no obstante, una mayor disminución de la microdureza a nivel subsuperficial que la existente a nivel superficial, produciéndose la destrucción de los cristales de hidroxiapatita y su transformación en cristales de ortofosfato cálcico. Contrariamente a lo mencionado hasta ahora, con algunos agentes blanqueadores, a base de peróxido de carbamida al 10%, se aprecia una aumento de la microdureza subsuperficial ²³.

2. REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. CONCEPTO DE BLANQUEAMIENTO DENTAL

El blanqueamiento dental es una técnica, no invasiva, incluida dentro de la odontología conservadora estética, para el tratamiento único o coadyuvante de dientes con discoloraciones. Responde a un tipo de odontología electiva, que no es imprescindible para la salud dental, pero puede serlo para la salud, en el sentido amplio que da la Organización Mundial de la Salud (OMS), de bienestar físico, psíquico y social, intentando devolver a los dientes un color adecuado a los requerimientos estéticos. En el campo del blanqueamiento dental, hay muchas novedades, pero poca evidencia científica y se debe estar actualizado para ofrecer una respuesta válida a los pacientes²⁴.

El blanqueamiento dental, es la alternativa terapéutica más conservadora, integrada dentro del campo de la Odontología Estética, ya que respeta la morfología dental. Normalmente es un tratamiento electivo, es decir, solicitado por los pacientes, con la finalidad de mejorar el aspecto de sus dientes anteriores. Se blanquean: incisivos, caninos, premolares; y a ser posible, no se blanquean los molares.

Los dientes a blanquear pueden presentar colores patológicos, o anómalos. Patológicos, es decir, están asociados a una causa que ha hecho que el diente modifique su color. Anómalos, son aquellos dientes que aunque carezcan de una causa que haya modificado su color, desean ser modificados porque no son aceptados como habituales por los pacientes. A esto se le llama "blanqueamiento dental", aunque algunos autores lo llaman "aclaramiento dental"; porque la acción a realizar, no vuelve el diente más blanco; sino que hace que éste sea más claro, es decir, que modifica su color hacia el blanco²⁵.

En odontología, el blanqueamiento dental es una opción de tratamiento estético conservador, ampliamente utilizado en los últimos tiempos, requerido de forma masiva desde hace 25 años¹³.

Los procedimientos terapéuticos blanqueadores se pueden clasificar según el tipo de diente:

- El blanqueamiento vital: es aquél que se realiza sobre dientes que mantienen la función de sus tejidos pulpaes y en el que el agente blanqueador es colocado sobre la superficie externa del esmalte.
- El blanqueamiento no vital: es el que se efectúa sobre dientes sometidos a tratamiento endodóncico y en el que el agente blanqueador se coloca dentro y fuera del diente²⁵.

Además de la división comentada anteriormente se puede establecer una segunda diferenciación entre las técnicas que se ponen en práctica por parte del equipo odontológico:

- En la consulta dental (blanqueamiento en clínica);
- Las que realiza el paciente en su casa bajo la supervisión directa por parte del profesional (blanqueamiento domiciliario);
- Las que se efectúan de manera conjunta: en la consulta dental por el dentista, y en domicilio por el propio paciente (blanqueamiento combinado)²⁵.

2.2 LOS CROMÓFOROS

Como indican los manuales de química orgánica²⁶, se definen grupos cromóforos, como la parte de la moléculas orgánica responsable de su color. El color se debe a la absorción de energía luminosa de una determinada longitud de onda por parte de los electrones de éstos grupos cromóforos. Son principalmente, doble y triples enlaces C-C, grupos carbonilo C=O, grupos nitrilo C≡N, compuestos aromáticos, etc. Todo ellos son muy ricos en electrones enlazados, como se puede observar en la figura 1.

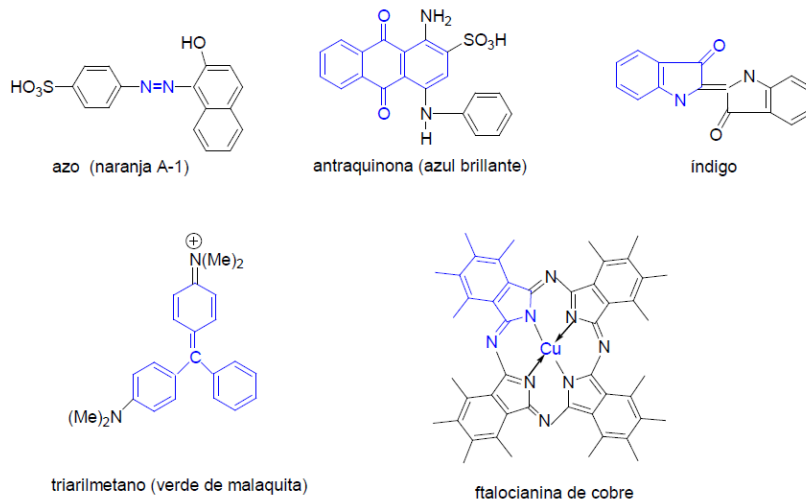


Figura 1: Colorantes representativos con grupos cromóforos.

En la figura 2 se muestra como cuando la luz incide sobre uno de estas moléculas, los electrones de los cromóforos absorben la radiación de una determinada longitud de onda, y pasa a un nivel de energía superior. La longitud de onda viene determinada por la naturaleza del compuesto. El color que se observa es toda la radiación menos la absorbida, es decir si un compuesto absorbe la radiación a 800 nm, (luz roja), se observa de color azul.

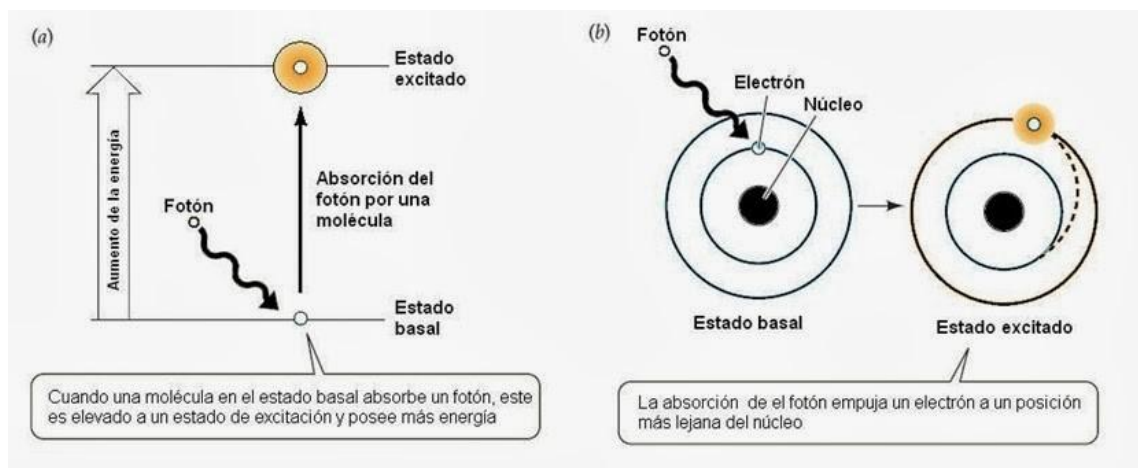


Figura 2: Esquema de absorción de luz por un cromóforo.

Las moléculas que tienen uno o más de estos grupos son las sustancias que en odontología se conocen como cromóforos. Son las responsables de las discoloraciones dentales extrínsecas.

Estas moléculas presentan otra característica común, la gran capacidad de adsorción. Físicamente la adsorción se define como el proceso mediante el cual, una especie se concentra sobre una superficie²⁷. Se produce por interacciones electrostáticas y fuerzas de Van de Waals. El esmalte dental es una superficie ideal para que se produzca la adsorción de especies, especialmente moléculas con grupos funcionales de alta densidad electrónica como son los cromóforos. Esto se produce por atracción electrostática de la superficie del esmalte con los electrones de los grupos funcionales de los cromóforos. Esta unión no es un enlace químico pero si que es muy fuerte, por lo que estos compuestos se fijan al esmalte y producen las discoloraciones.

Al ser el esmalte una membrana semipermeable, en ocasiones los cromóforos atraviesan el esmalte y llegan a la dentina. Allí se adsorben sobre la dentina mediante interacciones electrostáticas con la parte mineral e interacciones moleculares con la parte orgánica de la dentina

2.3. DISCOLORACIONES DENTALES

El uso aleatorio e indiscriminado de distintos términos como: decoloración, tinción, coloración, discromía, mancha, para designar las diferentes alteraciones cromáticas del color dental, lleva implícito en su definición una serie de inconvenientes que impide que puedan ser aceptados como los más adecuados para este fin y plantea la necesidad de establecer uno que permita englobar de forma satisfactoria todos los procesos que implican la alteración cromática de los dientes²⁴.

Por las razones expresadas anteriormente, se usa el término de discoloración dental para expresar el concepto de alteración del color de los dientes y que supone una modificación, incremento o pérdida del color dental, bien sea de carácter fisiológico o patológico²⁴.

Las patologías de las discoloraciones dentales se pueden agrupar en 4 grupos siguiendo una clasificación estructural de las mismas:

- Las originadas por la placa dental.
- Las que afectan al esmalte
- Las que asientan en la dentina.
- Las que afectan al esmalte y a la dentina conjuntamente.

Cada una de las discoloraciones estrictamente dentarias, las de los tres últimos grupos, pueden subdividirse a su vez en dos:

- Las preeruptivas: La etiología de las discoloraciones que afecta al diente durante la odontogénesis, incluye desde situaciones muy poco prevalentes, hasta otras que se ven con más frecuencia. Una de las más frecuentes es la causada por tetraciclinas, éstas afectan tanto al esmalte como a la dentina.
- Las posteruptivas: las que aparecen cuando el diente ya ha erupcionado y que afectan a esmalte y dentina, como las que aparecen tras necrosis, hemorragias, calcificaciones pulpares o, también, las propias del envejecimiento²⁷.

Por tanto, las discoloraciones dentales pueden estar producidas por factores externos o internos a la propia estructura dental. A continuación se desarrollan las causas de las discoloraciones.

2.3.1. FACTORES EXTERNOS O EXTRÍNSECOS

Se producen por el depósito a nivel superficial de los cromóforos u otros elementos externos sobre la superficie del esmalte o dentro de la película adquirida²⁸.

Las discoloraciones extrínsecas se dividen en dos categorías:

-Directas:

Son las producidas por la adsorción de los cromóforos sobre el esmalte. La tinción se forma a partir del color de estos compuestos, es decir las provocadas por los alimentos y el tabaco.

La principal fuente son los alimentos ricos en taninos (café, vino tinto, té, espinacas, pasas negras, granada, alcachofas, caquis, manzana)

El tabaco, mancha los dientes por acción de la nicotina y el alquitrán que se encuentra en el humo y, aunque no es un tanino, contiene algunos componentes de estructura química polifenólica. Se disuelven en la saliva y penetran dentro del diente, atraviesan el esmalte y llegan incluso hasta la dentina, donde se difunde la discoloración.

-Indirectas:

Son producto de la interacción química del cromóforo con otro compuesto que produce el cambio de color. Se asocia al uso de antisépticos catiónicos como la clorhexidina y sales de metales polivalentes presentes en suplementos de hierro, o por exposición laboral ²⁹.

2.3.2. FACTORES INTERNOS O INTRÍSECOS

Se producen por un cambio molecular, en la composición estructural, o en el espesor del esmalte, la dentina, o ambos. Su origen puede ser pre o post eruptivo ²⁸. Las tinciones intrínsecas, son las de blanqueamiento más difícil ya que afectan a la dentina, y se producen durante el desarrollo dental o bien una vez finalizado el mismo.

Las tinciones más características durante el desarrollo dental, por su frecuencia, son los dientes tetraciclínicos y la fluorosis, como se observa en la figura 3.



Figura 3: Discoloración amelodentinaria por administración de tetraciclinas (27).

Las tinciones más destacables producidas una vez acabado el desarrollo dental, son; el envejecimiento del diente (metamorfosis calcificante), la caries, los traumatismos, las tinciones por procesos pulpares (necrosis, hemorragia...), y el oscurecimiento del diente debido a procedimientos odontológicos como; amalgama de plata, fracaso endodóncico, deficiente reconstrucción tras una endodoncia, etc, como se observa en la figura 4 ^{29, 30}.

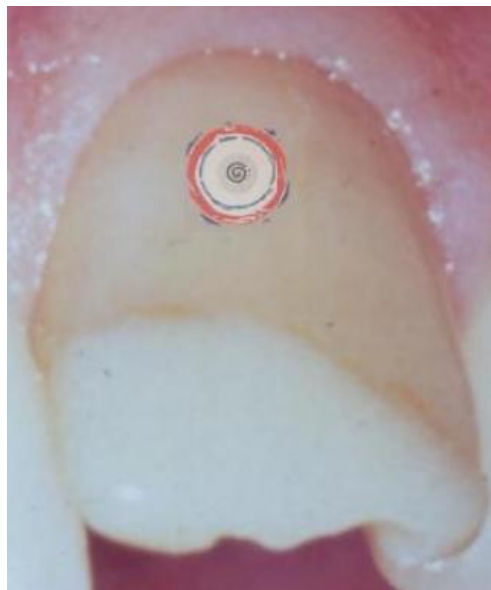


Figura 4: Discoloración dentinaria postendodóntica (27).

2.4. AGENTES BLANQUEADORES

2.4.1. CONCEPTO

Un agente blanqueador es una sustancia con capacidad para modificar el color del diente, cuyo objetivo es conseguir un color más claro o más próximo al blanco; modifica su luminosidad, tonalidad, saturación o varios de los parámetros del color ²⁵.

2.4.2. CLASIFICACIÓN

Los agentes blanqueadores se clasifican en función de su mecanismo de acción (Tabla 1) ²⁵.

<i>Oxidantes:</i> Superoxol, peróxido de hidrógeno, peróxido de carbamida, peróxido de sodio, peróxido de magnesio, perborato sódico, percarbamato potásico, monopersulfato potásico, ozono, hipoclorito sódico, dióxido de cloro
<i>Erosivos:</i> Ácido clorhídrico, ácido fluorhídrico, ácido etilendiaminotetraacético, ácido cítrico, ácido ortofosfórico, ácido poliacrílico, ácido tartárico, ácido maleico
<i>Abrasivos:</i> Bicarbonato sódico, carbonato cálcico, carborundo, citrato de cinc, citrato sódico, alúmina, lactato de aluminio, derivados del silicio, fosfato cálcio dibásico, piedra pómez, pirofosfato tetrapotásico, pirofosfato cálcico, benzoato sódico, fosfato sódico
<i>Mixtos:</i> Citroxaína, pirozona
<i>Otros agentes:</i> Laurilsulfato sódico, N-lauril-sarcosinato de sodio, cocomonoglicérido sulfato sódico, alquil sulfosucinato, arcilla, odontoblastina, dióxido de titanio, covarina azul, papaína y ácido bórico

Tabla 1: Clasificación de los agentes blanqueadores según su mecanismo de acción (25)

En la actualidad, son los agentes oxidantes los que presentan un mayor efecto blanqueador y son también, los más empleados en los procedimientos

blanqueadores puestos en práctica en la consulta o los realizados de forma domiciliaria ²⁵. Los más empleados son el peróxido de hidrógeno y el peróxido de carbamida.

2.4.3. PERÓXIDO DE HIDRÓGENO

El peróxido de hidrógeno o agua oxigenada, es un líquido muy soluble en agua incoloro, inodoro, amargo, caustico, de bajo peso molecular, capaz de quemar los tejidos al contacto y de oxidar una amplia gama de compuestos orgánicos e inorgánicos causando decoloración y por lo tanto el blanqueamiento del sustrato ^{25, 31, 32}. El peróxido de hidrógeno se descompone en agua y oxígeno (Figura 5).

Desde 1993, el uso del peróxido de hidrógeno ha sido aceptado como producto cosmético y de higiene oral, aprobado por la ADA ³¹.

En la mayoría de los casos, se utiliza a concentraciones del 30 o el 35%, pero puede ser usado a concentraciones más bajas. El peróxido de hidrógeno es el agente blanqueador que habitualmente se utiliza en la consulta tanto en dientes vitales como en no vitales ³².

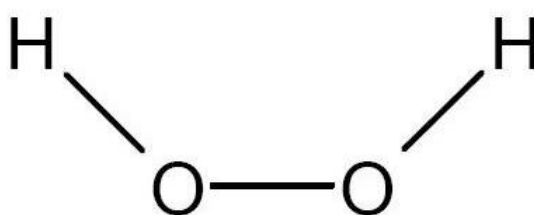


Figura 5: Fórmula del peróxido de hidrógeno.

2.4.4. PERÓXIDO DE CARBAMIDA

Se le conoce también como hidrógeno peróxido urea y se presenta como un elemento sólido, se observa en la figura 6. Se degrada en un 30% de

peróxido de hidrógeno (aproximadamente), que es el componente activo que genera la acción blanqueadora; y en un 70% de urea, que estabiliza el peróxido de hidrógeno y produce un incremento del pH de la solución, lo que potencia el efecto blanqueador ²⁵. El peróxido de carbamida, se descompone en peróxido de hidrógeno más urea, y la urea, a su vez, se descompone en amonio y dióxido de carbono.

Al ser sólido, permite un manejo más sencillo que el peróxido de hidrógeno y además presenta una mayor estabilidad química lo que aumenta su conservación.

Las principales concentraciones disponibles de peróxido de carbamida son de 35 a 40% para uso en la clínica y de entre 5 a 22% para uso en el hogar ³³.

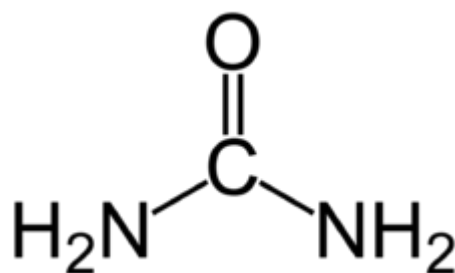


Figura 6: Fórmula del peróxido de carbamida.

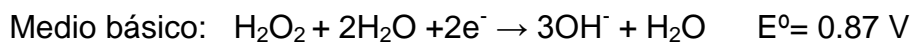
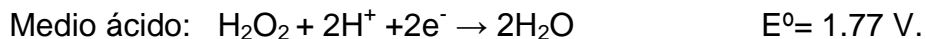
2.5. FUNDAMENTOS QUÍMICOS DEL BLANQUEAMIENTO DENTAL

2.5.1. QUÍMICA DE LOS BLANQUEADORES

La gran mayoría de los productos blanqueadores, contienen peróxido de hidrógeno o productos que lo generen, por esa razón la química del proceso de blanqueamiento se centra en los procesos del peróxido de hidrógeno.

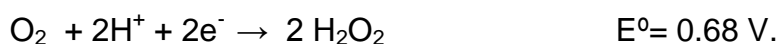
Una de las características del peróxido de hidrógeno es que puede actuar o bien como oxidante o bien como reductor^{34, 35}.

1.- Oxidante:



El poder oxidante de las disoluciones de agua oxigenada es mayor en el medio ácido que en el medio básico, pero en este primero las reacciones discurren con lentitud y en el medio básico discurren con mayor rapidez, de ahí que los tintes del pelo usan amoniaco para basificar el medio y acelerar la reacción del peróxido de hidrógeno.

2.- Reductor:



Esta es la reacción que se usa para la medida del agua oxigenada mediante una valoración con permanganato.

Además de las reacciones redox, también presenta la siguiente reacción de descomposición del peróxido de hidrógeno. Esta reacción es fundamental en el proceso de blanqueamiento dental (Figura 7).

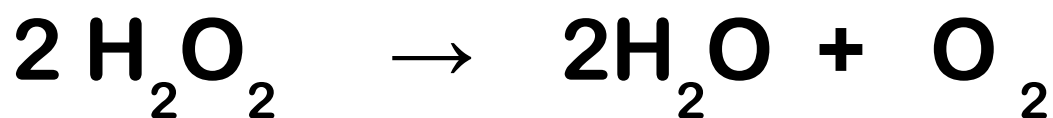


Figura 7: Reacción de descomposición del peróxido de hidrógeno.

Esta reacción puede ser acelerada por el empleo de catalizadores:

- Homogéneos: empleados en la misma fase (disoluciones de metales, etc...)
- Heterogéneos: por catalizadores sólidos (carbón. cobre, hierro, etc.)
- Fotoactivadores (betacarotenos, ficocianina)

- d) Fototermoactivadores (cristales de sílice, partículas metálicas)
- e) Enzimáticos (peroxidases)

A temperatura ambiente, la reacción de descomposición del peróxido de hidrógeno es espontánea incluso, en ausencia de catalizadores. Es muy importante la conservación de todos los productos que contienen peróxidos a 4° c para evitar su degradación y la pérdida de su eficacia. En contenedores grandes, incluso se pueden producir explosiones por acumulación de oxígeno

18.

Cuando esta reacción, es catalizada heterogéneamente por algunos compuestos específicos, se ha comprobado experimentalmente que se produce la formación de una gran cantidad de iones superóxidos, radicales hidroxilo y oxígeno en estado singlete.

2.5.2. LA QUÍMICA DE LOS CROMÓFOROS

Los cromóforos son los responsables de las discoloraciones dentales, los principales grupos existentes son las tetraciclinas y los taninos

- a) Tetracilinas: Las tetraciclinas constituyen un grupo de antibióticos, unos naturales y otros obtenidos por semisíntesis, que abarcan un amplio espectro en su actividad antimicrobiana, se observan en la figura 8.

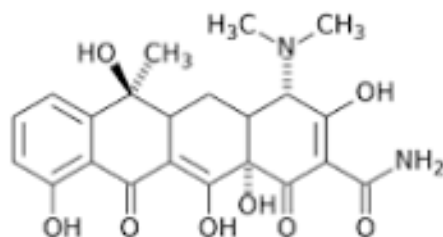


Figura 8: Fórmula química de una tetraciclina

Se fijan mediante la formación de un quelato con el calcio. Este producto, que pasa por diversos procesos de fotooxidación, se oscurece hasta formar la discoloración. Para eliminar estos complejos la única solución es la reacción de este compuesto con un reactivo que provoque la destrucción del quelato insoluble y oscuro hasta hacerlo incoloro^{36, 37}.

- b) Taninos: Estos compuestos tienen una estructura muy compleja y diversa. Se encuentran en gran cantidad de vegetales en la naturaleza, pero los interesante para este aspecto se localizan especialmente en café, té, vino, remolacha..., como se observa en la figura 9. Estos compuestos son los responsables, en parte, de los colores de estos productos y de su estabilidad, en especial en el vino^{36, 37}.



Figura 9: Café, vino, remolacha.

Los taninos son compuestos polifenólicos y muy estables. Reaccionan entre sí para formar cada vez estructuras más complejas e insolubles, como se observa en la figura 10. Forman complejos con diferentes metales incluido el calcio.

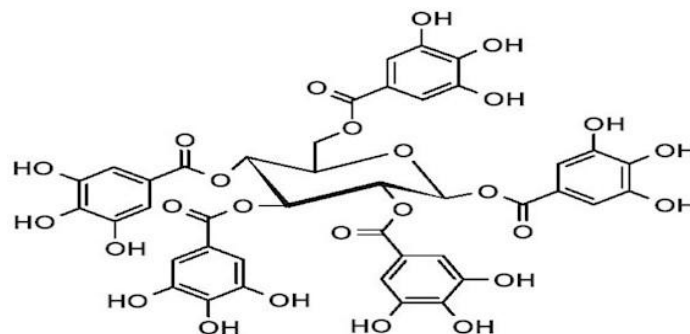


Figura 10: Reacción de los taninos formando estructuras complejas

Su naturaleza polifenólica, da a este grupo de moléculas una especial tendencia a la adsorción sobre superficies, ya que los grupos OH de los polifenoles los hacen susceptibles, a formar puentes de hidrógeno u otro tipo de interacciones polares con diferentes superficies, incluidas las del diente ³⁷.

Son potentes antioxidantes, debido a que reaccionan con el oxígeno, con los radicales libres, e iones superóxido. Estos radicales reaccionan con los grupos de los OH, así se cambia la estructura de la molécula; y por tanto se concluye que, una sola molécula de tanino atrapa a muchos radicales. Esto provoca que el compuesto se convierta en una especie más insoluble y por tanto más fijada a la superficie. De ahí que las manchas se oscurezcan con el tiempo ³⁷.

El fundamento químico se basa en la reacción del peróxido de hidrógeno con los cromóforos. Por lo tanto, la oxidación es producida por el peróxido de los cromóforos ^{36,37}.

2.5.3. REACCIONES QUÍMICAS DE LOS BLANQUEAMIENTOS DENTALES

Las reacciones de los blanqueamientos son aquellas que se producen entre el peróxido de hidrógeno y los cromóforos. Estas reacciones son de oxidación y degradación de los cromóforos; su objetivo es hacer a éstos más solubles con la finalidad de que desaparezcan de la superficie del diente.

La experiencia indica que producir estas reacciones no es tan sencillo ya que la química de los cromóforos es muy compleja y además; éstos no se encuentran en disolución, sino adheridos a la superficie adamantina, por lo que el proceso se complica mucho más. Además estos compuestos se unen a los glicosaminoglicanos de las fibras de colágeno de la dentina ³⁸.

El poder desinfectante del agua oxigenada se debe al oxígeno que se genera cuando el agua entra en contacto con la sangre catalizada por el hierro del grupo hemo de la hemoglobina (burbujas blancas) que se observan en las heridas. Por la misma razón, el verdadero agente blanqueante es el oxígeno generado por el peróxido de hidrógeno.

Si se aplicase directamente oxígeno se debería conseguir un efecto blanqueador muy potente, pero si se vuelve a la experiencia previa, se sabe que no es así.

En muchas ocasiones, si se consigue una gran cantidad de burbujas de oxígeno a partir del peróxido, como se ve en la figura 11, pero esto tampoco resulta ser eficaz.



Figura 11: Efecto burbujeante al entrar en contacto el peróxido con la herida

La reacción entre el oxígeno generado y el cromóforo sigue un mecanismo muy complicado de reacción en que están implicadas éstas especies ^{34, 35}.

- a) Ion superóxido O_2^{2-}
- b) Radical hidroxilo OH^*
- c) Molécula de oxígeno en estado singlete O_2^*

Estas especies son muy reactivas, poseen una vida media de 10^{-10} segundos y son aquellas que provocan las reacciones de degradación de los cromóforos.

El problema que se debe resolver, es que los cromóforos son compuestos antioxidantes, es decir que tienen especial habilidad para reaccionar con estas especies e inhibir sus efectos sobre el organismo. Por tanto en este proceso, es necesario conseguir una gran concentración de especies de oxígeno reactivo (EOR).

Así pues, muchos tratamientos de blanqueamiento se fotoactivan para que se produzcan estas especies ^{34, 35}. Esto explicaría, porque muchos productos blanqueadores no son eficaces y producen sensibilidad dental, ya que no consiguen producir estas especies, y si logran hacerlo, éstas reaccionan o se escapan antes de contactar con los cromóforos. También explica que se usen productos de alta concentración de peróxido de hidrógeno, lo que provoca que éste penetre dentro del diente y produzca efectos fisiológicos ^{34, 35}.

2.6. EFECTOS ADVERSOS DEL BLANQUEAMIENTO EN LA CAVIDAD ORAL

2.6.1 LESIÓN DE LOS TEJIDOS BLANDOS ORALES

Los peróxidos de hidrógeno o de carbamida como agentes oxidantes, son más o menos cáusticos en función de la concentración y del tiempo de exposición. El uso de altas concentraciones de peróxido de hidrógeno (30 – 35%) puede ocasionar quemaduras en la encía y en la mucosa oral, como se observa en la figura 12 ³, también puede ocasionar lesiones en contacto con la piel ³⁸ y los ojos ³¹.



Figura 12: Quemadura tras tratamiento de blanqueamiento dental con peróxido de hidrógeno al 15%, en encía de los dientes anteriores maxilares y mandibulares.

El blanqueamiento dental, ya sea en la consulta dental o de modo ambulatorio, puede causar irritación gingival y/o sensibilidad dental a corto plazo. Estudios clínicos han observado una alta prevalencia de irritación gingival en pacientes en quienes se usó peróxido en alta concentración cuando la protección gingival no fue adecuada ¹³.

Para disminuir los efectos adversos sobre los tejidos blandos que rodean al diente se puede emplear:

En la fase clínica protección tisular estricta, como se observa en la figura 13:

- dique de goma extragrueso (Flexi Dam non látex).
- perforaciones pequeñas.
- ligaduras de seda a nivel cervical anudadas por palatino/lingual.
- dique con arco (OptraDam, OptiDam).

Como coadyuvantes podemos usar:

- diques líquidos fotopolimerizables (Opal Dam, Paint on Dental Dam).
- vaselina.
- cremas hidrosolubles.
- vitamina E (Tocoferol DL-alfa acetato hidrosoluble) potente antioxidante que neutraliza el peróxido en cuanto llega a la encía ²⁵.



Figura 13: Aislamiento absoluto para la realización de blanqueamiento dental en la consulta

En la fase domiciliaria las férulas deben ser individualizadas para conseguir el sellado de la zona marginal, pero sin sobrepasarla, como se

observa en la figura 14. Además de realizar la primera aplicación del producto, según (RD 1837/2008) normativa Europea 76/768/EEC, debe ser efectuada por el odonto-estomatólogo en el gabinete dental.



Figura 14: Férulas de blanqueamiento dental colocadas en la boca del paciente.

2.6.2. SENSIBILIDAD DENTINARIA

La sensibilidad dentinaria es el principal efecto adverso en el blanqueamiento de dientes vitales ^{3, 31, 40}, refleja un estado de pulpitis, el cual es usualmente reversible después del tratamiento ⁴¹.

La incidencia y severidad de esta reacción adversa puede depender de la calidad del agente blanqueador, la técnica usada y la respuesta de cada individuo a los métodos de tratamiento y materiales usados, y se relaciona, al igual que el efecto blanqueador, con la concentración del peróxido y el tiempo de contacto ¹³.

Cuando hablamos de hipersensibilidad o mejor de sensibilidad dentinaria, en datos avalados por muchísimos artículos, hablamos de un 80% de los casos. Esto varía muchísimo y depende del producto que usemos y del paciente, pero tiene una prevalencia de más del 80%, muy elevada y eso se traduce en que al final, el 20% de los pacientes van a interrumpir el tratamiento ¹³.

Si un paciente interrumpe el tratamiento, afecta a su entorno y el abanico de pacientes que no van a blanquearse es muy elevado, porque lo habla con

su familia y al final el paciente transmite una impresión negativa sobre este tratamiento ¹³. A continuación, se describe una tabla (Tabla 2) comparativa de diferentes estudios que relacionan el blanqueamiento dental vital con la sensibilidad dentinaria ^{3,42-46}.

Tipo de tratamiento	Tratamiento blanqueador	Duración del estudio	Nº Pacientes tratados	Nº de casos control	Incidencia de reacciones de sensibilidad dentinaria	Referencia
En consulta	Peróxido de hidrógeno al 30% activado por luz, 3 visitas de 30 minutos durante 3 semanas	30 días	19	0	78%	Cohen and Chase, 1979 ⁴²
En consulta	Peróxido de hidrógeno al 30% activado por luz, 2-6 visitas de 30 minutos	No informa	15	0	67%	Nathanson and Parra, 1987 ⁴³
Domiciliario	Peróxido de carbamida al 10%, 2 horas durante la noche	28 días	28	0	15%	Schulte et al., 1994 ⁴⁴
Domiciliario	Peróxido de carbamida al 10% durante la noche	14 días	24	0	64%	Tam, 1999 ⁴⁵
Domiciliario	Peróxido de carbamida al 10%, durante el día o la noche	6 semanas	37	0	38%	Leonard et al., 1997 ⁴⁶
Domiciliario	Peróxido de carbamida al 10%, 6-8h/día con cambios de solución	6 semanas	38	0	52%	Leonard et al., 1997 ⁴⁶
Domiciliario	Peróxido de carbamida al 10%, durante día + noche o durante el día con cambios de solución	6 semanas	27	0	78%	Leonard et al., 1997 ⁴⁶

Tabla 2: Revisión bibliográfica de la relación entre blanqueamiento vital y la sensibilidad dentinaria (42-46).

Sulieman (2008), determinó que entre el 11 y el 93% de los pacientes tratados con peróxido de carbamida al 10% presentan algún grado de sensibilidad que suele durar entre 1 y 4 días después del tratamiento²⁹, pero en la bibliografía se han reseñado duraciones de sensibilidad dental durante 39 días post tratamiento^{42,43}.

La sensibilidad dental se produce fundamentalmente por dos razones²⁵:

1.- El esmalte aunque esté mineralizado en un 95%, es poroso y se comporta como una membrana semipermeable, y se cree que la sensibilidad es generada por los subproductos de los peróxidos que pasan rápidamente a través del esmalte y dentina, hacia la pulpa generando una pulpitis reversible. Estos subproductos son radicales libres (hidroxilos OH-perhidroxilos HO₂·, anión superóxido O₂⁻·, hidrogeniones H⁺).

2.- Existe entre un 10% hasta un 33% de la población en los que a nivel de la unión amelocementaria, esmalte y cemento no contactan y queda dentina al descubierto facilitando el paso del agente blanqueador a través de los túbulos dentinarios. La presencia de recesión gingival favorece la sensibilidad dentinaria independientemente del tiempo de tratamiento y la presencia previa de sensibilidad constituye un factor de riesgo^{3,25,31}.

Independientemente de la causa, la sensibilidad parece estar relacionada con la concentración de peróxido y su capacidad de penetración a través de la dentina hacia la pulpa.

La sensibilidad dentinaria, se debe fundamentalmente a los mediadores inflamatorios. En base a la teoría hidrodinámica de Brännström M⁴⁷, un estímulo como puede ser el frío, el calor, osmótico, etc. lo que hace, es acelerar el movimiento del fluido interno dentro de los túbulos dentinarios y eso va a hacer que se activen los nociceptores (fibras amielínicas C), que están dentro del túbulo, en las proximidades de la pulpa.

La activación de los nociceptores, lo que hace es segregar unas sustancias, las ciclooxigenasas (COX) y esas a su vez van a segregar prostaglandinas. Las prostaglandinas son vasodilatadoras y ello origina el bombeo de mucha más sangre hacia la pulpa y entonces se genere mucho más dolor e inflamación que el paciente percibe en forma de “calambres”. Estos calambres, son un aviso de que la pulpa ha sido agredida.

Los radicales (ROS), generados por la degradación de los peróxidos originan un estrés oxidativo agudo de carácter transitorio, responsable de una respuesta inflamatoria pulpar, de grado variable⁴⁸.

En el organismo, existen mecanismos antioxidantes enzimáticos (peroxidasas, catalasas, SOD, glutatión peroxidasa) y no enzimáticos (Vitaminas E y C, GSH, ácido úrico), encargados de eliminar dichas especies químicas⁴⁹.

En el caso del blanqueamiento dicho mecanismo no se regula adecuadamente por el incremento exagerado en la producción de ROS a partir de la utilización de peróxidos de carbamida e hidrógeno⁵⁰.

Cuando durante el tratamiento de blanqueamiento de dientes vitales se presenta sensibilidad dentinaria, se recomienda disminuir la cantidad de gel blanqueante que se administra en la férula domiciliaria, disminuir el número de horas continuas del tratamiento o interrumpir el procedimiento durante unos días⁵¹. En la actualidad, para mitigar en lo posible este efecto adverso del blanqueamiento, la mayoría de los agentes blanqueadores incluyen en su fórmula agentes desensibilizantes como nitrato potásico, ya que se ha demostrado su eficacia en la reducción de estos síntomas^{52, 53}.

2.6.3. TOXICIDAD SISTÉMICA

Los radicales libres, perhidroxilo y superóxido, procedentes de la descomposición del peróxido de hidrógeno son capaces de inducir cambios en el ADN celular, por tanto, su genotoxicidad depende de la posibilidad que

tienen estos radicales de ponerse en contacto con el ADN. En estudios experimentales esta toxicidad se ve reducida cuando están presentes algunas enzimas tales como catalasas y peroxidases^{25, 31,54}.

Los radicales libres reaccionan con proteínas, lípidos y ácidos nucleicos causando daño celular^{29, 55}. Aún así, los estudios indican que la genotoxicidad y carcinogenicidad sólo se producen en concentraciones que no se alcanzan durante los tratamientos dentales^{54, 55}.

La International Agency for Research on Cancer (IARC)⁵⁶ concluye que no existe suficiente evidencia para poder considerar al peróxido de hidrógeno como un agente cancerígeno, incluyéndolo en el grupo 3, es decir producto químico no clasificable como cancerígeno en humanos^{4, 25}.

2.6.4. EFECTOS MICROESTRUCTURALES SOBRE LA SUPERFICIE DENTAL

En el esmalte, el uso de peróxido de hidrógeno a altas concentraciones, genera en algunas zonas alteraciones morfológicas de los prismas adamantinos, junto con una menor densidad de los mismos, mayor porosidad, alteración de la estructura química y metalográfica y modificaciones en la concentración de fósforo y calcio.

Habitualmente estas situaciones no tienen repercusión clínica y se pueden minimizar con la fluorización al final del tratamiento. En el esmalte blanqueado se han observado diferentes efectos adversos en minerales y parte orgánica del esmalte, como alteraciones en la morfología de la superficie del esmalte, composición química, valores de microdureza y erosión⁵⁷.

Se han descrito alteraciones morfológicas leves del esmalte después de utilizar peróxido de carbamida al 10% y peróxido de hidrógeno al 35%, tales como cambios en la rugosidad superficial, fisuras más profundas y un pequeño aumento de la porosidad.

De acuerdo al estudio de Minoux y Serfaty⁵⁸, las alteraciones que se producen en la superficie dental fueron proporcionales al tiempo de tratamiento y la concentración del peróxido usado.

Por otro lado, hay que tener en cuenta que el pH de los productos blanqueadores puede oscilar entre 3,7 y 11,6 y que, dependiendo del pH, pueden observarse cambios similares a los provocados por el grabado ácido, aunque estos cambios no penetran más allá de unas 25 micras en el espesor del esmalte. De manera que, los blanqueadores con un pH más ácido van a provocar más defectos en la superficie adamantina.

En general los productos destinados a ser utilizados sin control profesional suelen presentar un pH más ácido, lo cual, asociado al uso de pastas dentales abrasivas, puede provocar alteraciones estructurales en el esmalte con mayor frecuencia y severidad²⁵.

Mientras que, las formulaciones de productos blanqueadores comercialmente disponibles varían su pH de altamente ácido (pH 3,67) a muy básico (pH 11,13), de tal forma que alteraciones superficiales y de microdureza se atribuyen principalmente al pH ácido de la formulación empleada^{29, 59}.

2.7. ANATOMIA DENTAL BOVINA

Las vacas son animales heterodontos, es decir, que tienen dientes de diferentes formas, sin embargo, carecen de caninos; presentando solamente incisivos y molares. Los bovinos presentan una fórmula dental, como se observa en la figura 15

:

Decídua: 2(I 0/4, C 0/0, PM 3/3, M 0/0)= 20 dientes, hasta los 18-20 meses

Permanente: 2(I 0/4, C 0/0, PM 3/3, M 3/3)=32 dientes⁶⁰.

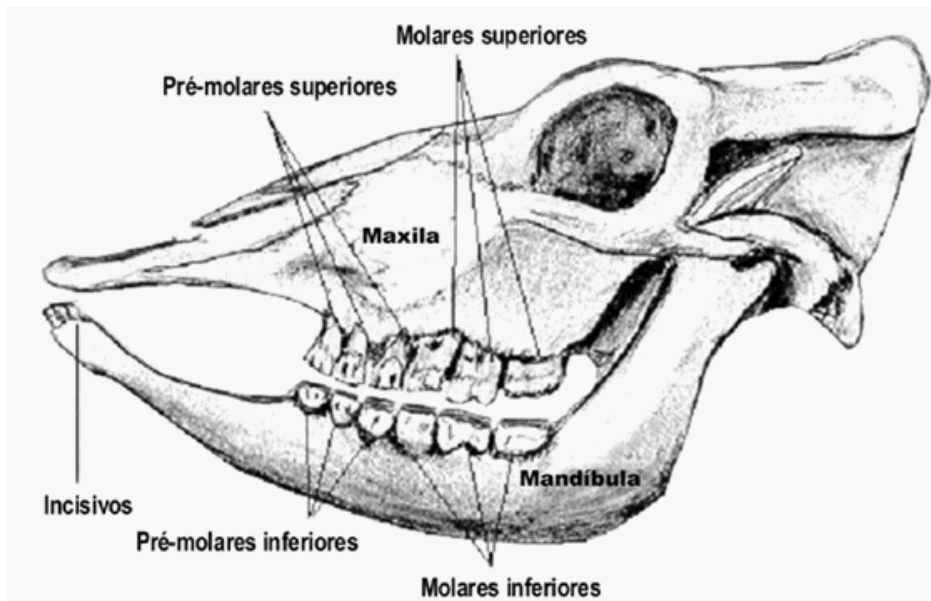


Figura 15: Anatomía dental bovina.

Los incisivos bovinos, de medial a lateral se denominan: pinzas, primeros medios, segundos medios, extremos o cantos.

Los dientes bovinos tienen muy pocas diferencias tanto a nivel macroscópico como microscópico con respecto a los dientes humanos^{60, 61}.

Macroscópicamente, los dientes bovinos son de mayor tamaño que los humanos y, al igual que éstos, tienen tejidos duros (esmalte, dentina y cemento) y tejidos blandos (pulpa dental)^{60, 61}.

Microscópicamente, la unidad básica del esmalte bovino, al igual que en el humano, es el prisma o varilla del esmalte, la cual se crea por las interrelaciones de las direcciones de los cristales. Estas interrelaciones complejas de los cristales dan lugar a características estructurales que se observan tanto en el esmalte bovino como humano, tales como las estrías de Retzius, las estrías transversales y las bandas de Hunter-Schreger.

En los dientes bovinos la unión amelodentinaria corresponde a la dentina que sostiene el esmalte. En ella, al igual que en los dientes humanos, se

observa como una serie de festones con extensiones de túbulos dentinarios que algunas veces cruzan el límite y pasan al esmalte, tomando el nombre de husos adamantinos⁶².

En el análisis químico por espectrografía de emisión, los componentes inorgánicos del esmalte humano y bovino son los mismos pero con pequeñas diferencias en la concentración de elementos tales como el magnesio (5% en el esmalte humano y 7% en el esmalte bovino), el plomo (70 partes por millón (ppm) en el esmalte humano y 50 ppm en bovino), la plata (5 ppm en humano y 10 ppm en bovino) y el estroncio (500 ppm en humano y 700 ppm en bovino)⁶².

La utilización de muestras de esmalte de origen bovino, se fundamenta en la facilidad de obtención, manipulación y estandarización, aunque pueden presentar un comportamiento físico y químico diferente al del esmalte de origen humano, debido a la mayor porosidad del esmalte bovino⁵⁶.

2.8. PENETRACION DEL PERÓXIDO DE HIDRÓGENO A LA CÁMARA PULPAR TRAS EL BLANQUEAMIENTO DENTAL

Actualmente, se encuentran en la literatura numerosos estudios que evalúan la cantidad de peróxido de hidrógeno que penetra a la cámara pulpar tras el blanqueamiento dental⁶³⁻⁷⁰, como se observa en la tabla 3.

Autores	Producto comercial	Agente blanqueador	Cantidad de PH que penetra a la cámara pulpar (µg)
Camargo et al, 2007 ⁶³	Opalescence xtra boost	PH al 38%	Grupo 1: 0,28±0,15 µg Grupo 2: 0,30±0,20 µg Grupo 3: 0,79±0,61 µg Grupo 4: 0,30±0,20 µg
Benetti et al, 2004 ⁶⁴	Opalescence quick	PC al 35% PC al 10%	PC 35%: 0,78±0,30 µg PC 10%: 0,29±0,20 µg
Palo et al, 2013 ⁶⁵	Opalescence	PH al 35%	Grupo 1: 0,957 µg Grupo 2: 0,886 µg Grupo 3: 0,965 µg
Camargo et al, 2009 ⁶⁸	Whiteness	PH al 35%	Grupo 1: 1,3±0,20 µg Grupo 2: 2,26±0,30 µg Grupo 3: 0,15±0,06 µg
Gökay et al, 2005 ⁶⁹	Crest White Strips Crest Night Colgate Simply White Colgate Simply White Nigth	PH al 5,3% PH al 5,3% PC al 18% PH al 8,7%	Grupo 1: 0,726 µg Grupo 2: 0,175 µg Grupo 3: 0,231 µg Grupo 4: 0,443 µg
Gökay et al, 2000 ⁷⁰	Contrast PM Quik start	PC al 10% PC al 15% PC al 35%	Grupo 1: 6,01 µg Grupo 2: 7,17 µg Grupo 3: 8,31 µg

Tabla 3: Revisión bibliográfica de la cantidad de peróxido de hidrógeno que penetra a la cámara pulpar (63-65,68-70).

El peróxido de hidrógeno es capaz de causar cambios a nivel pulpar relacionados con la inhibición de diversas funciones enzimáticas.

A pesar de la gran permeabilidad que presentan el esmalte y la dentina para los peróxidos, especialmente si además se aporta calor, la cantidad de peróxido que puede llegar a la pulpa está en el orden de los microgramos y una concentración de hasta 2,0 mM (milimoles/L) El peróxido de carbamida penetra menos que el peróxido de hidrógeno. No obstante, los incrementos de temperatura pulpar pueden ocasionar cambios pulpares, encontrándose el límite de incremento de temperatura en 5,5°C, a partir del cual se pueden producir lesiones irreversibles en pocos segundos^{25, 28, 53}.

La penetración del agente blanqueador a través de los tejidos dentales puede ser facilitada por las alteraciones en la composición química de los dientes, como la disminución de la proporción de calcio y fosfato en el esmalte y la dentina^{71, 72}. Sin embargo, in vivo, este daño en el componente mineral de

los dientes es reversible, debido al potencial de remineralización de los tejidos dentales después de un tratamiento de blanqueamiento dental ⁶⁸⁻⁷³.

La mayoría de los estudios revisados se realizaron en dientes bovinos, debido a las grandes similitudes microscópicas que presentan respecto a los dientes humanos. Y concluyen que la cantidad de peróxido de hidrógeno que penetra a la cámara pulpar depende del tiempo de exposición y de la concentración del agente blanqueador ^{63-65, 67, 68}.

2.9. EFICACIA DE LOS SISTEMAS DE BLANQUEAMIENTO DE PERÓXIDO DE HIDRÓGENO

A día de hoy, no existe ningún método de blanqueamiento, con el que se puedan resolver la totalidad de casos que se nos presentan, ya que el factor determinante para la consecución de resultados, no es la mayor concentración, sino el tiempo de actuación. La eficacia de la fotoactivación, no ha proporcionado diferencias significativas frente al uso individualizado de peróxido de hidrogeno o peróxido de carbamida ⁷⁴.

En general, según la ADA (2009)¹³, se considera que un producto es efectivo, cuando produce una variación de 5 unidades SGU en la escala VITA, desde el color inicial

Pedrosa et al., 2012 ⁷⁵, en su estudio que compara la eficacia de diferentes técnicas de blanqueamiento dental utilizando peróxido de hidrógeno no encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las técnicas de activación química y las de activación por energía lumínica, lo que cuestiona el uso de lámparas en los blanqueamientos realizados en la clínica dental.

Sin embargo, Tavares et al., 2003 ⁷⁶, concluye que la luz producida por un aparato de arco de plasma aumentó la eficacia del blanqueamiento con peróxido de hidrógeno y además presentaba efecto blanqueador cuando se aplicaba aisladamente⁶⁴. Sin embargo, la evidencia muestra que los sistemas

de energía luminosa no blanquean los dientes sin la asociación de gel de peróxido de hidrógeno.

Estudios realizados, en los que se emplea peróxido de hidrógeno al 35%, concluyen que se producen cambios de color en el esmalte y la dentina tras el tratamiento blanqueador^{43, 71, 77-79}. Otros refieren que no hay cambio de color en la dentina y creen que esto solo ocurre en el esmalte, lo que enmascara la dentina sin cambios⁸⁰.

El resultado de un tratamiento de blanqueamiento dental depende del tipo del agente blanqueador que se utilice, su concentración y la capacidad de éste para alcanzar las moléculas causantes de la decoloración, la duración y el número de veces que el agente está en contacto con dichas moléculas³. También influyen otros factores como el tipo de discoloración dental y la edad del paciente, así como el color inicial de los dientes^{32, 81}.

2.10. EFECTOS DE LOS AGENTES BLANQUEADORES SOBRE LA SUPERFICIE DEL ESMALTE ESTUDIADOS CON MICROSCOPIA ELECTRONICA DE BARRIDO (SEM)

Los radicales libres (ROS) liberados por la degradación de los peróxidos, tienen la capacidad de penetrar a través de la estructura adamantina por vías naturales (zonas hipomineralizadas), como son los microporos y orificios focales, las vainas de los prismas, la matriz intercrystalina, las estrías de Retzius, las laminillas del esmalte y los husos adamantinos o por zonas porosas creadas por desmineralización asociada al bajo pH de algunos agentes blanqueadores⁸².

La erosión adamantina, se debe a la oxidación de sus compuestos orgánicos (proteínas específicas), y modificación de sus compuestos minerales por erosión química⁸³.

No existe un acuerdo general sobre los efectos de los agentes blanqueadores sobre las estructuras dentales^{53, 84}.

En los estudios revisados^{10, 83-87}, se concluye que los agentes blanqueadores, especialmente el peróxido de hidrógeno, causan alteraciones sobre la superficie del esmalte, siendo mayor la afectación de la superficie adamantina cuando se emplean altas concentraciones (35-40%).

Los efectos descritos con más frecuencia son la pérdida del contenido mineral y los cambios en la morfología superficial, además de la disminución de su dureza⁵³.

Hegedüs et al., 1999⁸³, concluyeron que el peróxido de hidrógeno es capaz de causar alteraciones superficiales del esmalte afectando a la fase orgánica del esmalte tanto de las amelogeninas que se localizan entre los cristales de HA como de las no amelogeninas, localizadas en la periferia de los prismas.

Pinto et al., 2004¹⁰, en su estudio observaron la superficie del esmalte con microscopia electrónica de barrido empleando diferentes agentes blanqueadores (peróxido de hidrógeno y peróxido de carbamida). Se concluyó que todos los agentes blanqueadores producían alteraciones de la microdureza y la rugosidad del esmalte tras el tratamiento blanqueador, por otro lado, el empleo de peróxido de hidrógeno al 35% originaba graves alteraciones en la morfología del esmalte.

3. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO

3. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO

Hoy en día, son cada vez más, los pacientes que desean mejorar el aspecto de sus dientes, y se someten a tratamiento de blanqueamiento dental sin reflexionar sobre sus posibles efectos adversos. Consultados los artículos dedicados a evaluar la seguridad biológica de los agentes blanqueadores más utilizados actualmente, se concluye que los peróxidos, en general, se consideran tratamientos seguros, aunque se debe añadir que únicamente lo serán cuando sean utilizados con las condiciones de protección tisular adecuadas, a las concentraciones idóneas para cada técnica, con la selección adecuada del paciente y bajo supervisión profesional ¹⁹.

La Asociación Dental Americana (ADA) ¹³ ha expresado su preocupación con respecto a la seguridad de los productos blanqueadores, principalmente los utilizados de forma incontrolada en el hogar, y ha recomendado limitar inicialmente su uso hasta que se haya establecido totalmente su seguridad. En el Reino Unido sólo se permiten concentraciones muy bajas de peróxido de hidrógeno (igual o inferior al 6%), debido principalmente a su capacidad para generar algunos tipos de neoplasias malignas en la mucosa oral o esofágica. Las gingivitis ulcerativas, la lengua vellosa, las estomatitis descamativas, las anquilosis dentarias en blanqueamientos no vitales y las inflamaciones pulpares, son algunos de los efectos indeseados que podemos constatar por el uso de estos preparados ⁸⁸.

En esta misma línea, el Consejo de Dentistas de Europa, anunció la implantación de una nueva normativa para finales de 2012, en la que se anunciaba que se iba a restringir el uso de productos blanqueadores de alta concentración y que tenía como objetivo, regular el manejo de los productos blanqueadores en cuanto a concentraciones.

A pesar de los resultados satisfactorios conseguidos con estas técnicas, diferentes investigaciones han puesto en evidencia problemas como: la sensibilidad dentinaria, la toxicidad local y sistémica de los peróxidos, el potencial de capacidad mutagénico, las alteraciones de la microdureza del

esmalte y de la dentina, ciertos cambios sobre los materiales estéticos dentales y la resorción cervical ^{7,9,10,89}.

Se han descrito alteraciones morfológicas tales como cambios en la rugosidad superficial, fisuras más profundas y un pequeño aumento de la porosidad, después de utilizar peróxido de carbamida al 10% y peróxido de hidrógeno al 35%. De acuerdo a este estudio, las alteraciones fueron proporcionales al tiempo de tratamiento y concentración del peróxido usado ⁵⁹.

La creciente demanda de estética dental ha ocasionado que, actualmente, se pueda encontrar en el mercado muchos sistemas de blanqueamiento dental. La gran mayoría emplean como agentes blanqueadores, principalmente el peróxido de hidrógeno y el peróxido de carbamida. Todos ellos con diferentes concentraciones que alcanzan en algunos casos el 40% de peróxido de hidrógeno y el 40% de peróxido de carbamida, además de diferentes sistemas de activación (fotoactivados, quimioactivados, enzimáticos) todos ellos con diferentes tiempos de aplicación.

El factor determinante para la consecución de buenos resultados en los tratamientos blanqueadores, no es la mayor concentración, sino el tiempo de actuación y la forma. La eficacia de la fotoactivación, no ha proporcionado diferencias significativas frente al uso individualizado de peróxido de hidrógeno o peróxido de carbamida ⁷⁴.

Se parte de la evidencia de que existen múltiples sistemas de blanqueamiento dental pero; se debe plantear, si todos tienen los mismos efectos adversos sobre la estructura dental.

Se considera que el blanqueamiento dental es actualmente, un tratamiento altamente demandado en nuestras consultas dentales y que los dentistas disponemos de una amplia gama de productos comercializados destinados al blanqueamiento dental, con diferentes agentes blanqueadores, concentraciones, sistemas de activación y componentes asociados como flúor o nitrato potásico

Si se tiene en cuenta la normativa legal en productos sanitarios que trata de reducir la concentración del agente blanqueador con el fin de incrementar la seguridad de estos productos, se ha planteado averiguar “in vitro” cuanto de eficaz (determinando el color) y a la vez de seguro (determinando la concentración de peróxido de hidrógeno y potasio que llega a pulpa, y las características microscópicas de la superficie de esmalte) con 7 sistemas blanqueadores actualmente comercializados en nuestro país, indicados para el tratamiento en el gabinete dental, todos ellos con unas características similares, quimiactivos y con una concentración de peróxido de hidrógeno superior al 5%.

4. HIPÓTESIS DEL TRABAJO

Nuestras hipótesis nulas fueron:

- H₀₁: Al realizar blanqueamiento dental con sistemas blanqueadores quimiactivados con peróxido de hidrógeno superior al 5%, no penetra peróxido de hidrógeno a la cámara pulpar y por tanto son seguros.
- H₀₂: Al realizar blanqueamiento dental con sistemas blanqueadores quimiactivados con peróxido de hidrógeno superior al 5% y observar la superficie del esmalte mediante microscopía electrónica de barrido no se observan alteraciones en la superficie adamantina.
- H₀₃: Al realizar blanqueamiento dental con sistemas blanqueadores quimiactivados con peróxido de hidrógeno superior al 5%, no se produce un cambio de color en el diente al valorarlo con el espectofotómetro vita Easy Shade 4.0.
- H₀₄: Al aplicar sistemas de blanqueamiento quimiactivados con concentraciones de peróxido superiores al 5%, la concentración de peróxido de hidrógeno no disminuye con el tiempo, en relación al tiempo de aplicación recomendado por cada fabricante.

Las hipótesis alternativas fueron las siguientes:

- H₀₁: Al realizar blanqueamiento dental con sistemas blanqueadores quimiactivados con peróxido de hidrógeno superior al 5%, penetra peróxido de hidrógeno a la cámara pulpar y por tanto no son seguros.
- H₀₂: Al realizar blanqueamiento dental con sistemas blanqueadores quimiactivados con peróxido de hidrógeno superior al 5% y observar la superficie del esmalte mediante microscopía electrónica de barrido si se observan alteraciones en la superficie adamantina.
- H₀₃: Al realizar blanqueamiento dental con sistemas blanqueadores quimiactivados con peróxido de hidrógeno superior al 5%, se produce un cambio de color en el diente al valorarlo con el espectofotómetro vita Easy Shade 4.0.
- H₀₄: Al aplicar sistemas de blanqueamiento quimiactivados con concentraciones de peróxido superiores al 5%, la concentración de peróxido de hidrógeno si disminuye con el tiempo, en relación al tiempo de aplicación recomendado por cada fabricante.

5. OBJETIVOS

5. OBJETIVOS

Con el fin de incidir sobre esta cuestión, se ha diseñado un estudio “in vitro” en dientes bovinos con un diseño pre-post en el que se analizan medidas repetidas con el siguiente objetivo principal:

5.1. OBJETIVO PRINCIPAL - Obtener la cantidad total de peróxido de hidrógeno que llega a la cámara pulpar en dientes bovinos de los diferentes sistemas de blanqueamiento quimioactivados estudiados.

5.2. OBJETIVOS COMPLEMENTARIOS Para complementar este objetivo general, se plantean los siguientes objetivos específicos:

1. Estudio al microscopio electrónico de barrido (SEM) de las alteraciones estructurales adamantinas que puedan producir la aplicación de los diferentes geles blanqueadores estudiados.
2. Obtener el diferencial de color, en el espacio CIELab con el espectrofotómetro VITA EasyShade Advance 4.0, medidos antes y después de la aplicación del producto blanqueador.
3. Obtener la gráfica de la disminución de la concentración de peróxido de hidrógeno con el tiempo, en cada producto testado y correlacionarlo con su protocolo de aplicación clínica.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1. TAMAÑO DE LA MUESTRA

Se utilizaron 56 incisivos mandibulares temporales bovinos, procedentes de 7 vacas menores de 12 meses, ya que no se puede comercializar con tejidos bovinos de la cavidad oral y alrededores de más de 1 año de edad, debido a la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob⁹⁰.

6.1.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

1. Vacas menores de 12 meses de edad.
2. Mandíbulas bovinas que tengan los 8 incisivos mandibulares.

6.1.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

1. Mandíbulas bovinas que presenten alteraciones macroscópicas en los incisivos mandibulares.

Dada la relación corono-radicular de los dientes bovinos y con el fin de no lacerar su cara vestibular, inevitable durante las maniobras conducentes a su exodoncia, se decidió efectuar el estudio manteniendo "in situ" los 7 incisivos mandibulares.

Para ello, se procedió a la ostectomía mandibular de la región sinfisaria, en la zona edéntula distal al agujero mentoniano, manteniendo los ocho incisivos mandibulares en su lecho alveolar.

El tamaño de la muestra fue de 8 incisivos bovinos para cada uno de los productos a testar, de ellos, 7 fueron utilizados para la determinación de la cantidad total de peróxido de hidrógeno que llega a la cámara pulpar, mediante apertura cameral y para la medición del cambio de color y 1 para su observación al microscopio electrónico de barrido (SEM), sin apertura cameral (diente pinza).

6.2. TRATAMIENTO DE LA MUESTRA

Tras la ostectomía con sierra de cinta, los bloques mandibulares con sus dientes fueron depositados en agua destilada a 4°C, adicionada con un 0,1% de timol para evitar el crecimiento bacteriano.

Se excluyeron las soluciones salinas, tales como suero fisiológico y saliva artificial, para evitar interferencias analíticas y remineralizaciones durante el periodo de espera.

Sin demora, se procedió a la remoción de todos los restos orgánicos adheridos a la superficie de la muestra con un bisturí y se almacenaron los especímenes en agua destilada a 4°C, adicionada con un 0,1% de timol y renovada diariamente para minimizar su deterioro hasta su utilización.

Los dientes fueron sometidos a detartraje con ultrasonidos y a profilaxis con cepillo y pasta de pulido sin colorantes, se utilizó un contraángulo a baja velocidad o en su defecto mediante un proyector de bicarbonato (Prophy Flex 3, KaVo).

Posteriormente, se efectuó la apertura cameral y la conductometría, se ensanchó así la cámara pulpar lo suficiente, con el fin de obtener un volumen de 30 a 100 microlitros.

Para la apertura cameral (Figura 15) se utilizó una fresa redonda de carburo de tungsteno (Komet/H1 314-014, turbina), se amplió el acceso mediante fresa lanceolada de punta inactiva (Komet/H269QGK 314-016, turbina) y taladro (FKG/Race .10, contrángulo) con el fin de obtener un volumen interno comprendido entre 30 y 100 microlitros.

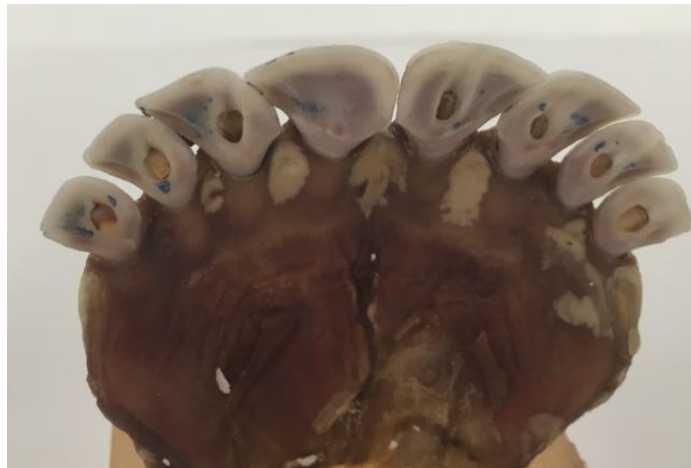


Figura 15: Bloque mandibular.

Nuevamente se almacenaron los especímenes en agua destilada a 4°C, adicionada de un 0.1% de timol y renovada diariamente hasta su utilización.

Los bloques mandibulares (Figura 16), con sus dientes, fueron zocalados mediante encastrado en resina de poliéster (Plainsur®) para obtener 7 grupos de 8 dientes cada uno.



Figura 16: Bloque mandibular.

6.3. PRODUCTOS COMERCIALES BLANQUEADORES A ESTUDIAR

Tras un estudio de los productos blanqueadores disponibles en el mercado, se seleccionaron siete sistemas blanqueadores quimioactivados para uso en la consulta (in-office), de concentración igual o superior al 6% de Peróxido de Hidrógeno (PH).

1. Dentyses Tooh Whitening®, Sesderma S.L.

Es un gel blanqueador de peróxido de hidrógeno al 6%.

Uso: extender el catalizador cubriendo toda la cara vestibular, y colocar el peróxido sobre él, ambos distribuidos en capa fina. Dejar actuar 5 minutos. El procedimiento se repite una segunda vez.

2.- Norblanc (Normon).

Uso: La mezcla de los dos componentes se efectúa mediante la cánula de automezcla y se deposita mediante la punta aplicadora en la superficie vestibular de los dientes a blanquear. Se aplica una ligera capa en la cara vestibular, y se mantiene durante 30 minutos. Se puede repetir el proceso 4 veces.

3. - Opalescence® Boost 40 %, Ultradent Products Inc.

Es un gel blanqueador del 40 % de peróxido de hidrógeno. La jeringa lleva dos cilindros. En uno de ellos se encuentra el activador, junto el fluoruro de sodio y el nitrato potásico. En el otro cilindro el gel de peróxido de hidrógeno al 40 %. La mezcla se realiza uniendo los dos cilindros, Se oprime el embolo de la jeringa del gel, sobre la jeringa roja y a la inversa, varias veces hasta conseguir una mezcla homogénea, Una vez mezclado el producto tiene una concentración del 1,1% de fluoruro y 3 % de nitrato de potasio. Se procede a la protección tisular estricta del paciente, se recomienda usar dique líquido. Se coloca la aguja y se deposita el gel en la cara vestibular del diente. Se deja actuar 20 minutos. Se retira con aspirador.

4.-Perfect Bleach Office +® Voco.

Es un gel blanqueador de peróxido de hidrógeno al 35%.

Uso: la mezcla de los dos componentes se efectúa mediante la cánula de automezcla y se deposita con la punta aplicadora en la superficie vestibular de los dientes a blanquear. Se coloca una capa de 1 o 2 mm y se mantiene entre 10 y 15 minutos.

5. - Pola office +® SDI.

Es un gel blanqueador de peróxido de hidrógeno al 37,5%. Uso: La mezcla de los dos componentes se efectúa mediante la cánula de automezcla y se deposita mediante la punta aplicadora en la superficie vestibular de los dientes a blanquear. Se aplica una ligera capa en la cara vestibular, y se mantiene durante 8 minutos. Se puede repetir el proceso 4 veces.

6.- White Kiss total power profesional® Biocosmetics Laboratories.

Es un gel blanqueador de peróxido de hidrógeno al 35%.

Uso: La mezcla de los dos componentes, polvo/líquido se efectúa manualmente por presión y agitación de los recipientes. Se deposita mediante un aplicador en la superficie vestibular de los dientes a blanquear. Se aplica una ligera capa en la cara vestibular, y se mantiene durante 20 minutos.

7.- Zoom® Phillips Dental.

Es un gel blanqueador de peróxido de hidrógeno al 25%.

Uso: Mediante la torunda del acelerador del sistema, aplicar el producto sobre el diente. Depositar el gel blanqueador mediante la punta aplicadora suministrada y dejarlo por espacio de 15 minutos. El procedimiento se repite tres veces.

6.4. TOMA DE COLOR DE LOS DIENTES

La medición del color se realizó de forma sistemática con un espectrofotómetro VITA EasyShade Advance 4.0 (Figura 16), antes e inmediatamente después de la aplicación del producto blanqueador para evitar la deshidratación de los dientes y con ella el cambio de color.

La experiencia nos indica que el color de los dientes varía días después del blanqueamiento, debido a la deshidratación parcial del esmalte y el efecto de los agentes blanqueadores que se van liberando lentamente mientras dura el proceso, por lo que mantenemos los dientes hidratados para evitar falsas mediciones. Por esta razón se realizó, la medición del color después del blanqueamiento y a la semana del mismo.

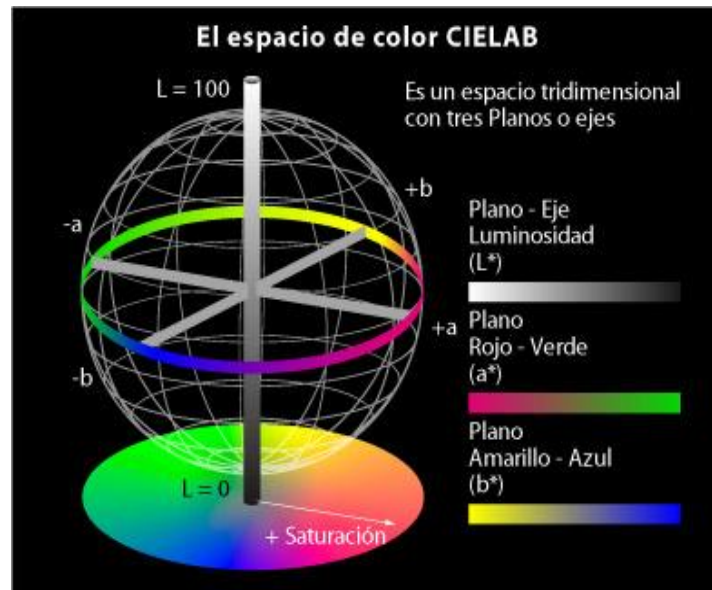
El espectrofotómetro VITA EasyShade Advance 4.0, está compuesto por un equipo de medida que posee una punta lectora y una pantalla inferior, donde se registran los parámetros a determinar en cada medida. Al ser un dispositivo inalámbrico tiene una base que actúa como cargador. Se coloca la punta lectora en la zona del diente, siempre en la intersección inciso-gingival y medio-distal, mediante férulas de posicionamiento.



Figura 17: Espectrofotómetro Vita EsayShade Advance 4.0

Este equipo nos facilita los datos de la toma de color, en los valores de la guía vita Clásica y los de la 3D-Master. Con estos datos se pueden hacer registros objetivos en grados o en unidades SGU. coordenadas Entramos en

las capacidades de la máquina y aquí están las $L^*a^*b^*$, del sistema CIELab⁹¹ (Figura 18).



L: medida del valor o luminosidad y está cuantificado de la siguiente manera:
 $L \Rightarrow 0$ negro $L \Rightarrow 100$ -reflexión total de la luz (blanco)

a: Eje de coordenadas que mide la cantidad de rojo y de verde:

a positivo \rightarrow tendencia hacia el rojo + 120
 a negativo \rightarrow tendencia hacia el verde - 120

b: Eje de coordenadas que mide la cantidad de amarillo y de azul:

b positivo \rightarrow tendencia hacia el amarillo +120
 b negativo \rightarrow tendencia hacia el azul -120

Se tomarán los valores de L, a y b, antes y después de blanquear los dientes para estudiar las variaciones producidas por los diferentes sistemas.

Con el sistema CIELab podemos calcular el diferencial de color, que se representa por el valor delta-E ΔE^{25} . La diferencia de color expresa mediante una cifra la distancia que existe en el espacio cromático CIELab entre dos

colores (color A y color B), o lo que es lo mismo cuán diferentes son relacionando sus coordenadas L^* a^* y b^* .

A continuación se describe la fórmula para el cálculo de ΔE :

$$\Delta E^*_{AB} = ((L^*_B - L^*_A)^2 + (a^*_B - a^*_A)^2 + (b^*_B - b^*_A)^2)^{1/2}$$

ΔE superiores a 2 ya son visibles por el ojo humano por el 50 % de los observadores (tolerancia de color) y de 5 se consideran un valor equivalente a un éxito en blanqueamiento dental^{91,92}.

6.5. DETERMINACIÓN DEL PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN EL INTERIOR DEL DIENTE

El objetivo de este análisis es la determinación de la cantidad total de peróxido de hidrógeno que llega a la cámara pulpar de un diente sometido a un proceso de blanqueamiento con diferentes productos blanqueadores comerciales que contienen concentraciones iguales o superiores al 6 % de peróxido de hidrógeno. Esta cantidad está comprendida según estudios anteriores entre 0,01 -1, 00 μg ⁴⁸.

El análisis se basa en el método desarrollado por Mottola y cols⁹³ para la determinación de muy bajas concentraciones de agua oxigenada. Esta metodología, se adapta a los volúmenes mínimos usados en este tipo de análisis.

6.5.1. OPERACIONES PREVIAS

En primer lugar se lavan las cavidades con agua desionizada tipo I, y se comprueba la estanqueidad de las cavidades realizadas en los dientes.

Para el análisis se utilizaron un pH-metro marca Crison modelo Basic 20, con electrodo de vidrio modelo 5202 y un espectrofotómetro Genesys 20, como se observa en la figura 19.



Figura 19: Espectrofotómetro Genesys 20.

6.5.2. REACTIVOS

1.- Tampón acetato sódico/ácido acético:

Se preparan 500 ml de una disolución de acetato de sodio 2M, y 500ml de una disolución de ácido acético 2M. Se mezclan ambas disoluciones, se mide el pH con el pH-metro Crison, se ajusta el pH a 4, 5 con ácido acético y se enrasa a 1 litro. Los reactivos utilizados son:

- Acetato sódico, Reagent grade Scharlau.
- Acetato acético, Analytical grade Baker.

2.- Reactivo de LCV

Preparación: 50mg se disuelven en 100ml de HCl 0,5%. Se pesan 50mg de colorante y se añaden unos 20ml de agua y 2,85ml de HCl 6M. A continuación se completa el volumen matraz forado de 100ml.

Los reactivos utilizados son:

- Violeta leucocristal, Sigma Aldrich.
- HCl 6M, Scharlau.

3.- Reactivo de HRP

Horse peroxidase, Sigma Aldrich.

10mg HRP a 10ml de agua destilada.

Una vez disuelto se alicuotan en 0,5ml y se conservan a -20° por separado.

4.- Agua Oxigenada

Se normaliza la concentración de peróxido de hidrógeno mediante una valoración de KMnO_4 , 0,10 N Baker.

Para realizar el calibrado, se preparan los siguientes patrones en 100 ml: 0,20-0,66-1,32-2,64-3,96-5,28-5,96-6,60 mg/mL

El peróxido de hidrógeno usado es : H_2O_2 ·30% w/w, Baker analytical grade.

6.5.3. METODOLOGÍA UTILIZADA PARA LA MEDICIÓN

En primer lugar se colocan 100 microlitros de tampón acetato en la cavidad practicada en el diente.

A continuación, se coloca el producto blanqueador en la cara vestibular, el tiempo recomendado por el fabricante.

Seguidamente, se recoge el reactivo acetato, en un tubo de polipropileno de 1,5 ml y se añade los reactivos en el orden siguiente:

- 0,4 ml de tampón acetato de sodio / ácido acético
- 0,1 ml de Reactivo de LCV
- 0,4 ml de agua desionizada
- 0,05 ml de HRP

En la figura 20 se observa el producto de la reacción.

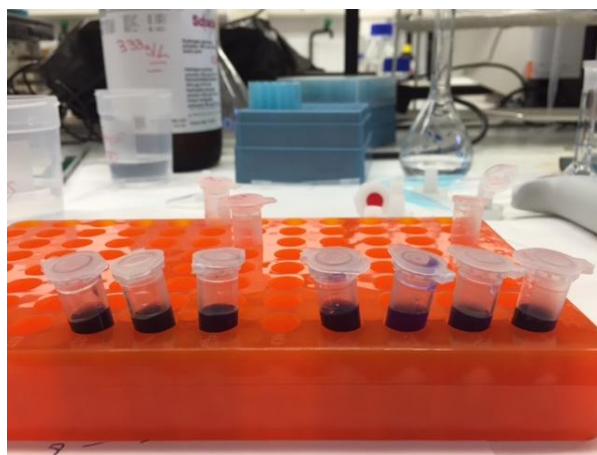


Figura 20: Producto de reacción del peróxido de hidrógeno con los reactivos antes de proceder a la medida.

Se deja reaccionar 5 minutos, y se mide la absorbancia a 596 nm.

Si en el diente no se recogen 100 microlitros de muestra, se completa hasta este volumen con agua desionizada.

6.6. ESTUDIO DE LA VELOCIDAD DE DISMINUCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE PEROXIDO DE HIDROGENO DURANTE SU USO

Como se indica en la introducción el efecto blanqueador va unido a la reacción de descomposición del peróxido de hidrógeno con la formación de las especies ROS. Por otro lado la penetración en cámara pulpar y los efectos sobre la superficie del esmalte están relacionados con la concentración y el tiempo de exposición del agente blanqueador.

Se determina la concentración de peróxido de hidrógeno del gel a diferentes tiempos de actuación. Estas determinaciones nos permiten obtener la gráfica de la reacción de descomposición del peróxido de hidrógeno, y así su relación con el tiempo de aplicación.

6.6.1. METODOLOGÍA

Se coloca sobre la superficie del diente el producto blanqueador. El peso del gel se determina por diferencia. Se pesa el diente sin producto en la balanza analítica, después se le aplica el blanqueador, se pesa en la misma balanza. La diferencia es la masa de agente blanqueante. A un tiempo exacto y determinado se retira del diente con una gasa, y se coloca en un matraz Erlenmeyer; se somete a agitación y a su inmediata valoración con permanganato potásico 0,001 N hasta presencia de un color ligeramente morado⁹⁴.

La reacción de valoración es:



Los datos obtenidos permiten calcular la curva de descomposición del peróxido de hidrógeno

6.7.- REFERENTES AL ESTUDIO MEDIANTE EL MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO (SEM)

Para este estudio, se procede a la decoronación con discos de diamante (\varnothing 220 mm y sección 0.1-0.2 mm), montados en pieza de mano y abundante refrigeración de los 7 dientes pinza sin apertura, se desecha la raíz, siguiendo el estudio de Spalding et al.,⁹⁵. Se efectuó un corte axial a la corona del diente para establecer un grupo control.

Se realizó una primera observación con una lupa estereoscópica Leica M165C antes de la colocación del agente blanqueador en la parte seleccionada de la corona

Se procedió a realizar el tratamiento blanqueador al diente según las indicaciones de cada fabricante en la otra mitad de la corona.

6.7.1. TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Esta fase del proceso se ejecutó en el Servicio Central de Soporte a la Investigación Experimental (S.C.S.I.E.) de la Universidad de Valencia (Campus de Burjassot).

Tras lavado minucioso con agua destilada presurizada, las coronas de los dientes se almacenan separadamente, en placas petri, debidamente identificadas.

Se llevan las placas petri a un desecador y se secan las muestras durante 24 horas.

Se montan en las platinas de carbono (cuatro/tres muestras por platina) con cinta adhesiva de doble cara, de forma que la superficie vestibular pueda ser observada perpendicularmente.

Tras metalizado con oro-paladio (Figura 21), las muestras se observan al SEM, con un equipo S-4800, Hitachi, con cañón de emisión de campo. Este equipo dispone de detector de retrodispersados, detector de transmitida y detector Rx Bruker. Las micrografías se muestran a una magnificación de 900X y 10.000 X.



Figura 21: Proceso de metalización

6.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Tras recopilar todos los datos experimentales anteriormente expuestos, se procedió a su análisis estadístico diferente según el parámetro a estudiar a excepción del estudio de las muestras por microscopía electrónica donde se hizo un análisis descriptivo de las imágenes obtenidas.

- Determinación del contenido de peróxido de hidrógeno en el interior del diente.

En primer lugar se determinó el número de dientes para cada sistema, para ello se tuvo en cuenta la cantidad mínima de peróxido de hidrógeno significativa entre casos, la reproducibilidad del método. Otro factor que incluimos fue que todos los dientes fuesen del mismo animal. Con estos datos, el tamaño muestral adecuado fue de siete.

Para el análisis de cada uno de los sistemas, en primer lugar se realiza un de calibrado con 8 concentraciones conocidas de Peróxido de hidrógeno, de aquí se obtiene por regresión lineal, la correspondiente recta con su coeficiente de regresión nunca inferior a 0,999. Los valores de absorbancia para cada uno de los dientes, se interpolan en esta recta y se obtiene el valor de la concentración de peróxido de hidrógeno. Con el volumen de disolución de tampón ácido acético/ acetato colocado se obtiene la cantidad de microgramos de peróxido de hidrógeno.

Una vez realizados los análisis se calculó la desviación standard relativa y el valor promedio por cada uno de los sistemas.

- Estudio de la velocidad de disminución de la concentración de peróxido de hidrógeno durante su uso.

Para estos experimentos, se realizó previamente un proceso de optimización de este proceso, con el fin de conseguir la reproducibilidad del método hasta conseguir una desviación entre las medidas inferior la 3 %. Una vez fijado el método del análisis, se realizaron tres réplicas de cada una de las medidas con una desviación standard relativa inferior al 3 %. El valor medio y la desviación estándar fue determinada para cada grupo experimental dentro de cada ensayo.

7. RESULTADOS

7.1. CANTIDAD TOTAL DE PERÓXIDO DE HIDROGENO QUE LLEGA A LA CAMARA PULPAR

Para la medición se realizan los siguientes pasos:

- Se realiza una curva de calibrado del peróxido de hidrógeno
- Se rellena la cavidad realizada con el tampón
- Se aplica el sistema blanqueador
- Se recoge el tampón y se añaden los reactivos
- Se mide la absorbancia (A).
- Se calcula la concentración de peróxido de hidrógeno por extrapolación en la recta de calibrado
- Se obtiene la cantidad total de PH que penetra en la cámara pulpar, con el dato del volumen de tampón usado para cada diente

La determinación de peróxido se realizó para cada sistema de blanqueamiento a estudio en los 7 dientes de cada animal donde se realizó la apertura cameral para este experimento. Para cada sistema se realizó una recta de calibración (Figura 22) independiente para minimizar los errores experimentales.

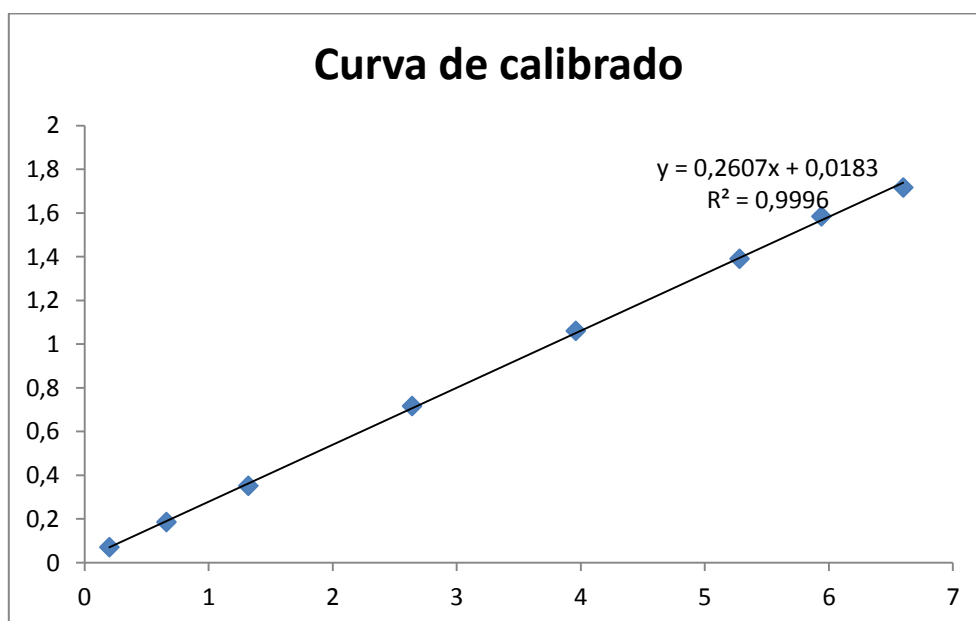


Figura 22: Recta de calibración del peróxido de hidrógeno.

Para algunos sistemas, la concentración obtenida fue tan alta, que la absorbancia fue superior al límite del equipo (>2,5 A). Por ello se realizaron diluciones 1:1

En las tablas de resultados, se muestran los valores para cada diente, como el valor promedio para cada sistema junto a su desviación estándar relativa

A continuación se describen los resultados obtenidos para cada sistema:

7.1.1. DENTYSES TOOH WHITENING SYSTEM

Tipo de diente	Absorbancia	Concentración H ₂ O ₂ (mg/L)	Cantidad total de PH en µG
Extremo	0,0890	0,00	0,00
Segundo medio	0,0970	0,00	0,00
Primer medio	0,0830	0,00	0,00
Pinza	0,0650	0,00	0,00
Primer medio	0,0780	0,00	0,00
Segundo medio	0,0960	0,00	0,00
Extremo	0,1230	0,00	0,00
valor promedio	0,09	0,00	0,00
Desviación estándar relativa %			0,00

Tabla 4: Resultados penetración peróxido de hidrógeno a cámara pulpar de Dentyse.

Como se observa en la tabla 4 los valores de absorbancia son tan bajos que una vez extrapolados en la curva de calibrado, el valor obtenido es cero. Por tanto no hay penetración de peróxido de hidrógeno en la cámara pulpar. Se muestra una gran reproducibilidad en todos los dientes.

7.1.2. NORBLANC

Tipo de diente	Absorbancia	Dilución 1:1	Concentración H ₂ O ₂ (mg/L)	Cantidad total de PH en µG
Extremo	2,4230		8,91	0,89
Segundo medio	≥2,5	2,471	18,15	1,82
Primer medio	1,3750		4,75	0,47
Pinza	≥2,5	2,43	17,81	1,78
Primer medio	≥2,5	2,358	17,26	1,73
Segundo medio	≥2,5	2,25	16,43	1,64
Extremo	≥2,5	2,45	17,99	1,80
valor promedio		2,201	14,47	1,44
Desviación estándar relativa %			34,46 %	34,46%

Tabla 5: Resultados penetración peróxido de hidrógeno a cámara pulpar de Norblanc.

Como se observa en la tabla 5, en la mayoría de los dientes, el valor de la absorbancia fue superior a 2,5, por tanto, se realizaron las correspondientes diluciones 1:1.

La cantidad total de peróxido de hidrógeno que penetra a la cámara pulpar es superior a 1,6µG en la mayoría de los dientes.

7.1.3. OPALESCENCE BOOST

Tipo de diente	Absorbancia	Dilución 1:1	Concentración H ₂ O ₂ (mg/L)	Cantidad total de PH en µG
Extremo	≥2,5	2,43	18,52	1,85
Segundo medio	≥2,5	2,497	19,02	1,90
Primer medio	≥2,5	2,43	18,50	1,85
Pinza	≥2,5	2,38	18,12	1,81
Primer medio	≥2,5	2,58	19,65	1,97
Segundo medio	≥2,5	2,48	18,85	1,88
Extremo	≥2,5	2,23	16,97	1,70
valor promedio		2,43	18,85	1,85
Desviación estándar relativa %			4,19 %	4,19%

Tabla 6: Resultados penetración peróxido de hidrógeno a cámara pulpar de Opalescence.

Como se observa en la tabla 6, en todos los dientes, el valor de la absorbancia fue superior a 2,5, por tanto, se realizaron las correspondientes diluciones 1:1.

La cantidad total de peróxido de hidrógeno que penetra a la cámara pulpar es superior a 1,8µG en la mayoría de los dientes, se muestra gran reproducibilidad en todos los dientes.

7.1.4. VOCO PERFECT BLEACH

Tipo de diente	Absorbancia	Dilución 1:1	Concentración H ₂ O ₂ (mg/L)	Cantidad total de PH en μ G
Extremo	$\geq 2,5$	2,14	16,29	1,63
Segundo medio	$\geq 2,5$	2,4	18,27	1,76
Primer medio	$\geq 2,5$	2,35	17,89	1,79
Pinza	$\geq 2,5$	1,90	14,44	1,44
Primer medio	$\geq 2,5$	1,9	14,44	1,44
Segundo medio	$\geq 2,5$	2,14	16,29	1,63
Extremo	$\geq 2,5$	2,14	16,25	1,63
valor promedio		2,14	16,2	1,62
Desviación estándar relativa %			7,89 %	7,89%

Tabla 7: Resultados penetración peróxido de hidrógeno a cámara pulpar de Voco.

Como se observa en la tabla 7 en todos los dientes, el valor de la absorbancia fue superior a 2,5, por tanto, se realizaron las correspondientes diluciones 1:1.

La cantidad total de peróxido de hidrógeno que penetra a la cámara pulpar es superior a 1,6 μ G en la mayoría de los dientes, se muestra gran reproducibilidad en todos los dientes.

7.1.5. POLA OFFICE+

Tipo de diente	Absorbancia	Dilución 1:1	Concentración H ₂ O ₂ (mg/L)	Cantidad total de PH en μ G
Extremo	$\geq 2,5$	1,50	10,47	1,05
Segundo medio	1,9530		7,03	0,70
Primer medio	1,4300		4,97	0,50
Pinza	1,0690		3,55	
Primer medio	$\geq 2,5$	2,21	16,09	1,61
Segundo medio	$\geq 2,5$	1,28	8,76	0,88
Extremo	2,3390		8,56	0,86
valor promedio		1,66	9,30	0,93
Desviación estándar relativa %			37,26 %	37,26%

Tabla 8: Resultados penetración peróxido de hidrógeno a cámara pulpar de Pola Office+.

Como se observa en la tabla 8 en algunos dientes, el valor de la absorbancia fue superior a 2,5, por tanto, se realizaron las correspondientes diluciones 1:1.

La cantidad total de peróxido de hidrógeno que penetra a la cámara pulpar es superior a 0,9 μ G en la mayoría de los dientes.

7.1.6. WHITE KISS TOTAL POWER

Tipo de diente	Absorbancia	Dilución 1:1	Concentración H ₂ O ₂ (mg/L)	Cantidad total de PH en µG
Extremo	≥2,5	2,37	17,38	1,74
Segundo medio	≥2,5	2,36	17,28	1,73
Primer medio	≥2,5	2,471	18,15	1,82
Pinza	0,6890	-	2,05	
Primer medio	1,2370	-	4,21	0,42
Segundo medio	≥2,5	2,25	16,43	1,64
Extremo	2,4310	-	8,92	0,89
valor promedio		2,20	13,70	1,37
Desviación estándar relativa %			38,38%	38,38%

Tabla 9: Resultados penetración peróxido de hidrógeno a cámara pulpar de White Kiss.

Como se observa en la tabla 9 en la mayoría de los dientes, el valor de la absorbancia fue superior a 2,5, por tanto, se realizaron las correspondientes diluciones 1:1.

La cantidad total de peróxido de hidrógeno que penetra a la cámara pulpar es superior a 1,3µG en la mayoría de los dientes.

7.1.7. ZOOM

Tipo de diente	Absorbancia	Dilución 1:1	Concentración H ₂ O ₂ (mg/L)	Cantidad total de PH en µG
Extremo	≥2,5	2,37	17,40	1,74
Segundo medio	1,9180		6,92	0,69
Primer medio	2,4100		8,86	0,89
Pinza	≥2,5	2,46	18,08	1,81
Primer medio	0,8370		5,31	0,53
Segundo medio	≥2,5	2,25	16,41	1,64
Extremo	≥2,5	2,35	17,20	1,72
valor promedio		2,35	12,29	1,29
Desviación estándar relativa %			40,20 %	40,20%

Tabla 10: Resultados penetración peróxido de hidrógeno a cámara pulpar de Zoom.

Como se observa en la tabla 10, en la mayoría de los dientes, el valor de la absorbancia fue superior a 2,5, por tanto, se realizaron las correspondientes diluciones 1:1.

La cantidad total de peróxido de hidrógeno que penetra a la cámara pulpar es superior a 1,2µG en la mayoría de los dientes.

Llegados a este punto, mostramos una gráfica general (Figura 23) que muestra la cantidad de peróxido de hidrógeno que penetra a la cámara pulpar de todos los sistemas de blanqueamiento estudiado.

Destacamos que Dentyses tiene un valor de 0µG de peróxido de hidrógeno que penetra a la cámara pulpar y Opalescence que muestra el valor más alto con un valor >1,5µG, junto con Voco y Norblanc.

Zoom y White Kiss tienen valores $<1,5\mu\text{G}$ de cantidad total de peróxido de hidrógeno que penetra a cámara pulpar y Pola Office muestra un valor $<1\mu\text{G}$.

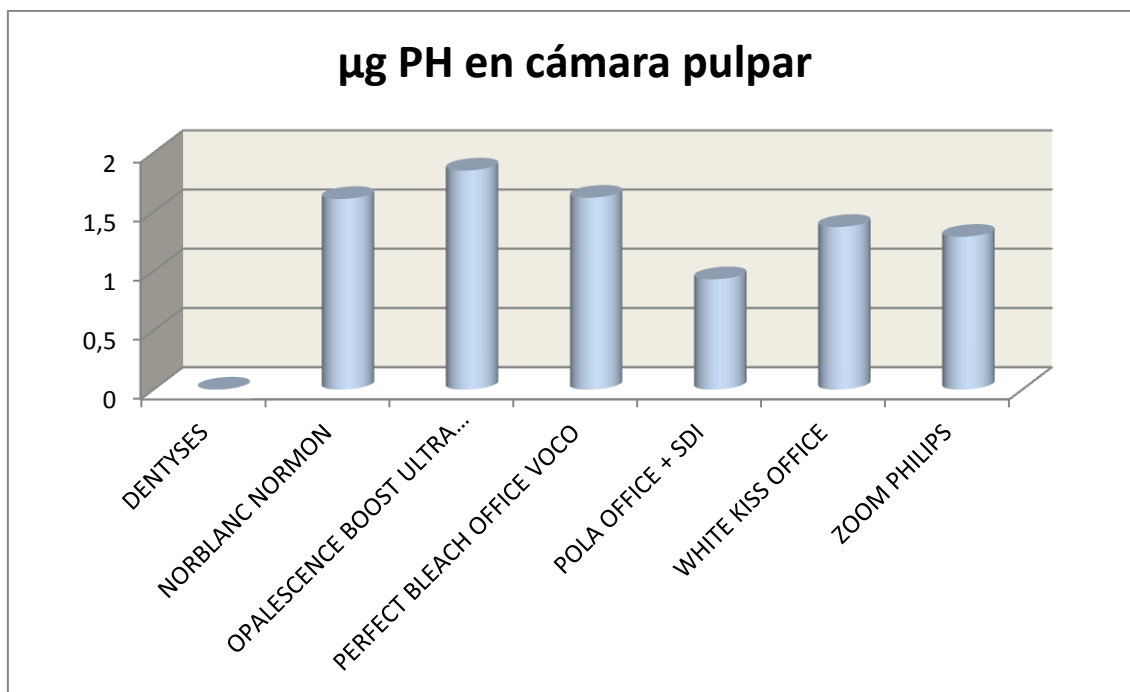


Figura 23: Gráfica general de la cantidad de peróxido de hidrógeno que penetra a cámara pulpar en todos los sistemas de blanqueamiento estudiados.

7.2. MEDICIÓN DEL COLOR

Se realizaron las medidas según lo descrito en el apartado de material y métodos. La experiencia nos indica que el color de los dientes varía días después del blanqueamiento, debido a la deshidratación parcial del esmalte por el efecto de los agentes blanqueadores mientras dura el proceso. Por esta razón se realizó la toma de color después del blanqueamiento y a la semana del mismo. A continuación se describen los resultados obtenidos para cada sistema:

El resultado de la medición, se visualiza como color de la guía VITA Classical y de la VITA SYSTEM 3-D MÁSTER (Tabla 11) y permite obtener las coordenadas L, a y b, para el cálculo del diferencial de color (ΔE) o medida numérica del grado de variación del color. En la siguiente tabla se muestra la equivalencia entre los dos sistemas:

VITA 3D-MASTER	VITA CLASSICAL
1M2	A1
2M2	A2
3M3	A3
3R2.5	A3.5
4L1.4	A4
1M1	B1
2L2.5	B2
3L2.5	B3
3L2.5	B4
3M1	C1
3L1.5	C2
4L1.5	C3
5M1	C4
3M2	D2
3M1 o 4L1.5	D3
3L1.5	D4

Tabla 11: Equivalencia entre la guía VITA Classical y guía VITA SYSTEM 3-D MASTER

7.2.1. DENTYSES WHITENING SYSTEM

La recopilación de los datos obtenidos para la variación total de color (ΔE) y variación de color según escala Vita Classical y 3 D Master para el grupo de dientes tratados con Dentyses Whitening System se muestran en la Tabla 12.

Tipo de diente	GUIA VITA color inicial	ΔE INICIAL	GUIA VITA tras aplicación	ΔE A LA SEMANA	GUIA VITA a la semana
Extremo	A1/1M2	1,51	A1/1M2	4,49	A1/1M2
Segundo medio	A1/1M2	5,31	A1/1M2	5,38	A1/1M2
Primer medio	A1/1M2	5,38	A1/1M2	4,28	A1/1M2
Pinza	A1/1M2	4,74	A1/1M2	4,92	A1/1M2
Primer medio	A1/1M2	1,16	A1/1M2	2,99	A1/1M2
Segundo medio	A1/1M2	1,22	A1/1M2	1,63	A1/1M2
Extremo	A1/1M2	0,51	A1/1M2	3,26	A1/1M2
	Promedio	0,96		3,85	

Tabla 12: Resultados medición del color de Dentyses.

En este grupo de dientes partíamos de un valor muy alto de blanco según la escala Vita Classical/3D -Máster A1/1M2, que se mantuvo tras realizar el tratamiento blanqueador y a la semana de este.

Tras la aplicación del agente blanqueador los valores de ΔE oscilaron de 0,51 a 5,38, con un valor promedio de 0,96 ΔE . Sin embargo a la semana el valor promedio de ΔE de los dientes fue de 3,85. Estos resultados se pueden calificar como satisfactorios con un agente blanqueador de peróxido de hidrógeno al 6%.

7.2.2. NORBLANC

La recopilación de los datos obtenidos para la variación total de color (ΔE) y variación de color según escala Vita Classical y 3 D Master para el grupo de dientes tratados con Norblanc se muestran en la Tabla 13.

Tipo de diente	GUIA VITA color inicial	ΔE INICIAL	GUIA VITA tras aplicación	ΔE A LA SEMANA	GUIA VITA a la semana
Extremo	A3/3M3	5,89	B2/2L2.5	10,19	A1/1M2
Segundo medio	A3/3M3	5,71	B2/2L2.5	11,39	A1/1M2
Primer medio	A3/3M3	5,39	B2/2L2.5	10,36	A1/1M2
Pinza	B3/3L2.5	6,60	A3/3M3	10,83	A1/1M2
Primer medio	B3/3L2.5	6,00	A3/3M3	8,24	A1/1M2
Segundo medio	A1/1M2	4,47	A1/1M2	8,82	B1/1M1
Extremo	A3/3M3	6,02	A1/1M2	8,66	A1/1M2
	Promedio	5,72		9,78	

Tabla 13: Resultados medición del color de Norblanc.

La mayoría de dientes de este grupo partían de un color A3/3M3 y B3/3L2.5 según la escala Vita Classical/ 3D -Máster, se obtuvieron cambios tras aplicar el agente blanqueador, acentuándose a la semana, en la que la mayoría de dientes presentaban un valor de A1/1M2.

Tras la aplicación del agente blanqueador los valores de ΔE oscilaron de 4,47 a 5,38, con un valor promedio de 5,72 ΔE . Sin embargo a la semana el valor promedio de ΔE de los dientes se incrementó a 9,78. Estos resultados se pueden identificar como satisfactorios con un agente blanqueador de peróxido de hidrógeno al 35%.

7.2.3. OPALESCENCE BOOST

La recopilación de los datos obtenidos para la variación total de color (ΔE) y variación de color según escala Vita Classical y 3 D Master para el grupo de dientes tratados con Opalescence Boost se muestran en la Tabla 14.

Tipo de diente	GUIA VITA color inicial	ΔE INICIAL	GUIA VITA tras aplicación	ΔE A LA SEMANA	GUIA VITA a la semana
Extremo	A3,5/3R2.5	6,63	B3/3L2.5	11,64	B3/3L2.5
Segundo medio	B3/3L2.5	5,28	A3/3M3	10,12	A1/1M2
Primer medio	A4/4L1.4	3,07	A3,5/3R2.5	5,68	A3,5/3R2.5
Pinza	A4/4L1.4	12,75	B3/3L2.5	13,47	B3/3L2.5
Primer medio	B3/3L2.5	2,60	B3/3L2.5	4,37	B3/3L2.5
Segundo medio	A3,5/3R2.5	8,57	B3/3L2.5	8,04	B3/3L2.5
Extremo	B3/3L2.5	1,86	B3/3L2.5	6,13	A3/3M3
	Promedio	5,82		8,49	

Tabla 14: Resultados medición del color de Opalescence.

Este grupo de dientes no presentaba uniformidad en el color inicial, en la medición se obtuvieron valores de B3/3L2.5, A3,5/3R2.5 y A4/4L1.4 según la escala Vita Classical/ 3D -Máster, se produjeron cambios tras aplicar el agente blanqueador y a la semana, en la que la mayoría de dientes presentaban un valor de B3/3L2.5.

Tras la aplicación del agente blanqueador los valores de ΔE oscilaron de 1,86 a 12,75, con un valor promedio de 5,82 ΔE . Sin embargo a la semana el valor promedio de ΔE de los dientes se incrementó a 8,49. Estos resultados se pueden identificar como satisfactorios con un agente blanqueador de peróxido de hidrógeno al 40%.

7.2.4. VOCO PERFECT BLEACH

La recopilación de los datos obtenidos para la variación total de color (ΔE) y variación de color según escala Vita Classical y 3 D Master para el grupo de dientes tratados con Voco Perfect Bleach se muestran en la Tabla 15.

Tipo de diente	GUIA VITA color inicial	ΔE INICIAL	GUIA VITA tras aplicación	ΔE A LA SEMANA	GUIA VITA a la semana
Extremo	B2/2L2.5	6,50	A1/1M2	8,47	A1/1M2
Segundo medio	B3/3L2.5	10,28	B2/2L2.5	7,66	B2/2L2.5
Primer medio	A3,5/3R2.5	14,13	A3/3M3	11,29	B3/3L2.5
Pinza	B3/3L2.5	11,87	A3/3M3	12,56	A1/1M2
Primer medio	A3,5/3R2.5	15,90	A1/1M2	14,56	A1/1M2
Segundo medio	B3/3L2.5	9,60	A1/1M2	14,76	A1/1M2
Extremo	A3/3M3	10,20	A1/1M2	10,38	A1/1M2
	Promedio	11,21		11,38	

Tabla 15: Resultados medición del color de Voco.

Este grupo de dientes no presentaba uniformidad en el color inicial, en la medición se obtuvieron valores de B3/3L2.5, B2/2L2.5, A3,5/3R2.5 y A3/3M3 según la escala Vita Classical/ 3D -Máster, se produjeron cambios tras aplicar el agente blanqueador, siendo más notables a la semana, en la que la mayoría de dientes presentaban un valor de A1/1M2.

Tras la aplicación del agente blanqueador los valores de ΔE oscilaron de 6,50 a 15,90, con un valor promedio de 11,21 ΔE . A la semana el valor promedio de ΔE de los dientes tuvo un pequeño incremento a 11,38. Estos resultados se pueden identificar como satisfactorios con un agente blanqueador de peróxido de hidrógeno al 35%.

7.2.5. POLA OFFICE+

La recopilación de los datos obtenidos para la variación total de color (ΔE) y variación de color según escala Vita Classical y 3 D Master para el grupo de dientes tratados con Pola Office+ se muestran en la Tabla 16.

Tipo de diente	GUIA VITA color inicial	ΔE INICIAL	GUIA VITA tras aplicación	ΔE A LA SEMANA	GUIA VITA a la semana
Extremo	A1/1M2	1,40	A1/1M2	3,65	A1/1M2
Segundo medio	A2/2M2	6,61	A1/1M2	8,29	A1/1M2
Primer medio	A2/2M2	3,20	A1/1M2	9,92	A1/1M2
Pinza	A3/3M3	6,55	B2/2L2.5	12,62	A3/3M3
Primer medio	A1/1M2	5,93	A1/1M2	12,43	A1/1M2
Segundo medio	A1/1M2	2,49	A1/1M2	5,48	A1/1M2
Extremo	A1/1M2	4,84	A1/1M2	8,51	A1/1M2
	Promedio	4,43		8,70	

Tabla 16: Resultados medición del color de Pola Office+.

La mayoría de dientes de este grupo partían de valores A1/1M2 y A2/2M2 según la escala Vita Classical/ 3D -Máster, se obtuvieron cambios tras aplicar el agente blanqueador, acentuándose a la semana, en la que la mayoría de dientes presentaban un valor de A1/1M2.

Tras la aplicación del agente blanqueador los valores de ΔE oscilaron de 1,40 a 6,61, con un valor promedio de 4,43 ΔE . Sin embargo a la semana el valor promedio de ΔE de los dientes se incrementó a 8,70. Estos resultados se pueden identificar como satisfactorios con un agente blanqueador de peróxido de hidrógeno al 37,5%.

7.2.6. WHITE KISS TOTAL POWER

Los datos obtenidos para la variación total de color (ΔE) y variación de color según escala Vita Classical y 3 D Master para el grupo de dientes tratados con White Kiss Total Power se muestran en la Tabla 17.

Tipo de diente	GUIA VITA color inicial	ΔE INICIAL	GUIA VITA tras aplicación	ΔE A LA SEMANA	GUIA VITA a la semana
Extremo	A4/4L1.4	15,62	B3/3L2.5	16,87	B3/3L2.5
Segundo medio	A4/4L1.4	12,84	B3/3L2.5	17,34	A3/3M3
Primer medio	A4/4L1.4	14,36	B3/3L2.5	14,20	B3/3L2.5
Pinza	A4/4L1.4	15,24	B3/3L2.5	16,95	A3/3M3
Primer medio	A4/4L1.4	6,89	B3/3L2.5	10,18	B3/3L2.5
Segundo medio	A3,5/3R2.5	12,48	A3/3M3	16,04	A1/1M2
Extremo	B3/3L2.5	6,21	A2/2M2	14,15	A1/1M2
	Promedio	11,95		15,10	

Tabla 17: Resultados medición del color de White Kiss.

La mayoría de dientes de este grupo partían de valores muy oscuros, A4/4L1.4, según la escala Vita Classical/ 3D -Máster, se obtuvieron cambios tras aplicar el agente blanqueador y a la semana, en la que la mayoría de dientes presentaban valores de B3/3L2.5 y A3/3M3.

Tras la aplicación del agente blanqueador los valores de ΔE oscilaron de 6,21 a 15,62, con un valor promedio de 11,95 ΔE . Sin embargo a la semana el valor promedio de ΔE de los dientes se incrementó a 15,10. Estos resultados se pueden identificar como satisfactorios con un agente blanqueador de peróxido de hidrógeno al 35%.

7.2.7. ZOOM

La recopilación de los datos obtenidos para la variación total de color (ΔE) y variación de color según escala Vita Classical/ 3D Máster para el grupo de dientes tratados con Zoom se muestran en la Tabla 18.

Tipo de diente	GUIA VITA color inicial	ΔE INICIAL	GUIA VITA tras aplicación	ΔE A LA SEMANA	GUIA VITA a la semana
Extremo	A3/3M3	6,03	A1/1M2	9,64	A1/1M2
Segundo medio	B3/3L2.5	6,57	B2/2L2.5	10,68	A1/1M2
Primer medio	A3,5/3R2.5	9,37	A3/3M3	9,15	A3/3M3
Pinza	B3/3L2.5	5,19	A3/3M3	10,50	A3/3M3
Primer medio	B3/3L2.5	5,19	A3/3M3	5,89	A3/3M3
Segundo medio	B3/3L2.5	4,52	A3/3M3	12,68	A1/1M2
Extremo	B3/3L2.5	5,90	A3/3M3	5,54	A3/3M3
	Promedio	6,11		9,16	

Tabla 18: Resultados medición del color de Zoom.

La mayoría de dientes de este grupo partían de valores B3/3L2.5 y A3/3M3 según la escala Vita Classical/ 3D -Máster, se obtuvieron cambios tras aplicar el agente blanqueador, acentuándose a la semana, en la que la mayoría de dientes presentaban valores de A1/1M2 y A3/3M3.

Tras la aplicación del agente blanqueador los valores de ΔE oscilaron de 4,52 a 9,37, con un valor promedio de 6,11 ΔE . Sin embargo a la semana el valor promedio de ΔE de los dientes se incrementó a 9,16. Estos resultados se pueden identificar como satisfactorios con un agente blanqueador de peróxido de hidrógeno al 25%.

Una vez estudiados los datos experimentales de los diferentes sistemas, se resumen en las siguientes gráficas.

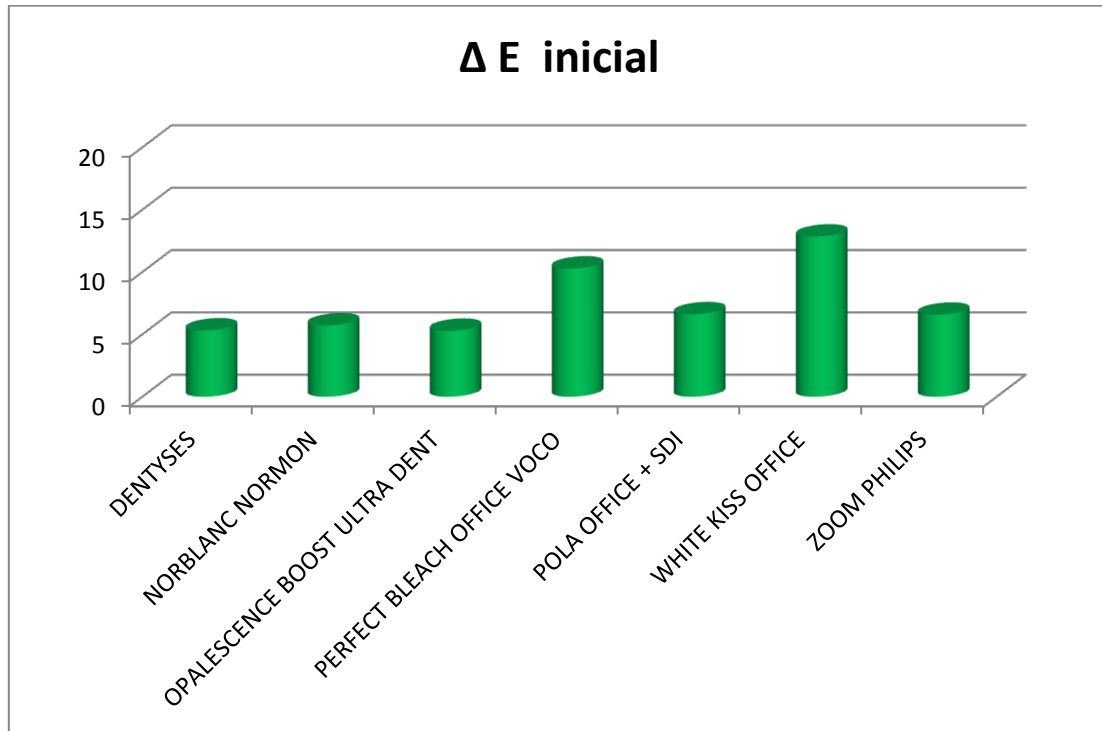


Figura 24: Gráfica general del ΔE tras la aplicación de todos los sistemas de blanqueamiento.

En la figura 24 se observan los valores de ΔE inmediatamente después de la aplicación de los agentes blanqueadores. White Kiss Total Power presenta el valor más alto de ΔE (>10), Voco Perfect Bleach, Zoom y Pola Office+ tienen valores de $\Delta E >5$, mientras que Dentyses Tooth Whitening, Opalesce y Norblanc obtuvieron valores de $\Delta E <5$.

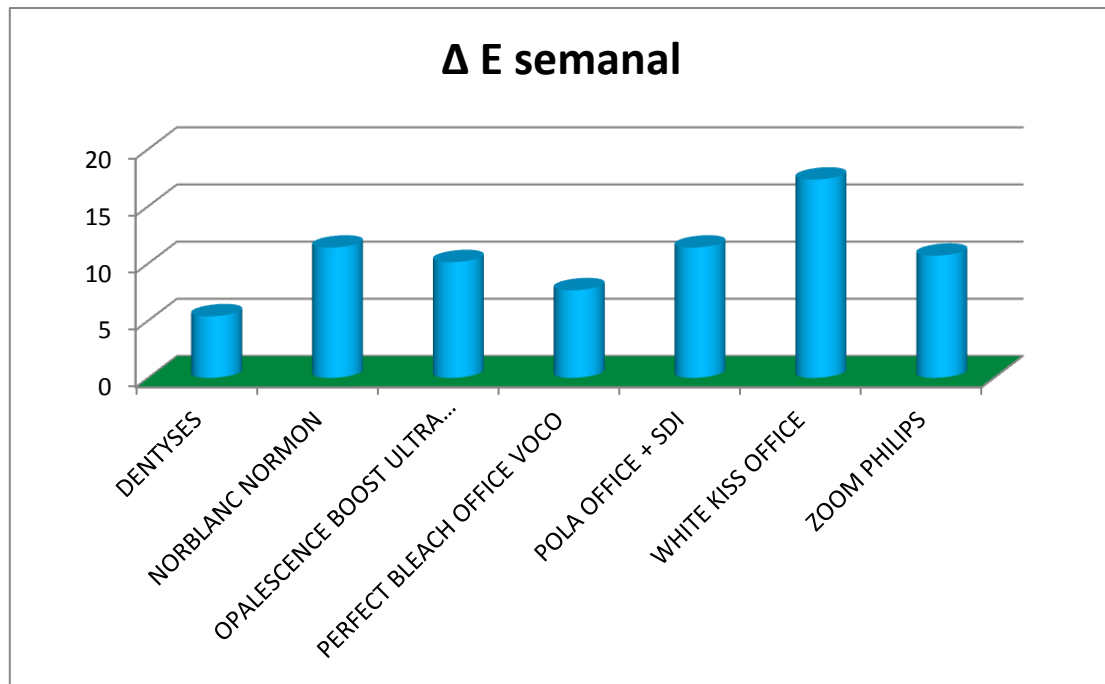


Figura 25: Gráfica general del ΔE a la semana de todos los sistemas de blanqueamiento.

En la figura 25 se observan las mediciones de los valores de ΔE a la semana de la aplicación de los agentes blanqueadores. White Kiss Total Power presenta el valor más alto de ΔE (>15), Norblanc y Pola Office+ tienen valores de $\Delta E >10$, mientras que Opalescence, Voco Perfect Bleach obtuvieron valores de $\Delta E >5$. Dentyse Whitening System presentó un valor de ΔE ligeramente inferior a 5.

Como nos indica la experiencia, el proceso de blanqueamiento dental es más eficaz a partir de colores más oscuros. En general, los trabajos que se mencionan en la literatura, son de pacientes seleccionados que tienen los dientes más oscuros que la media⁷⁵. Estos resultados se pueden identificar como satisfactorios con un agente blanqueador de peróxido de hidrógeno al 35%.

7.3. ALTERACIONES ESTRUCTURALES DEL ESMALTE. MICROSCOPIA ELECTRONICA DE BARRIDO (SEM)

7.3.1. GRUPO CONTROL

Los dientes con esmalte intacto, del grupo control, no sufrieron erosión. En las imágenes a 900 y 10.000 aumentos se observó una superficie de esmalte intacta, con las características morfológicas típicas del esmalte superficial, como son las periquimatías, líneas de imbricación de Pickerill, ranuras, surcos, etc. (Figuras 26 y 27).

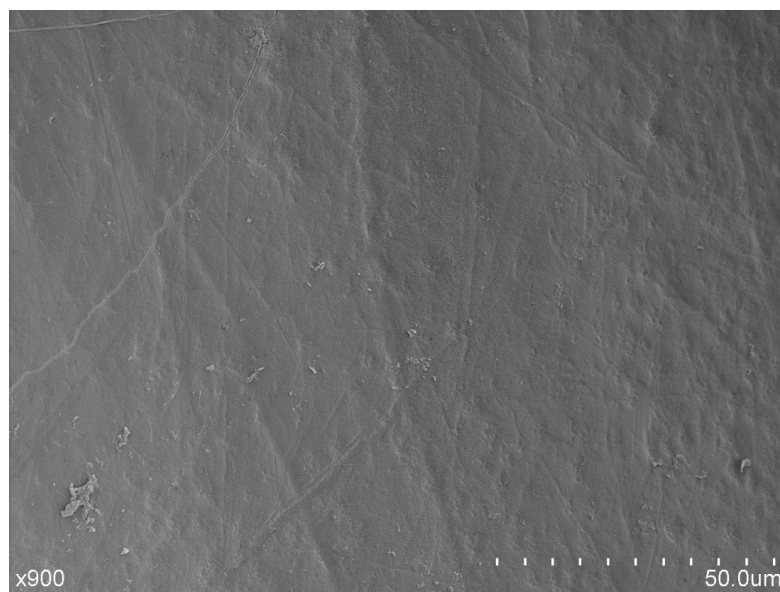


Figura 26 : Imagen grupo control. Superficie de esmalte intacta 900X.

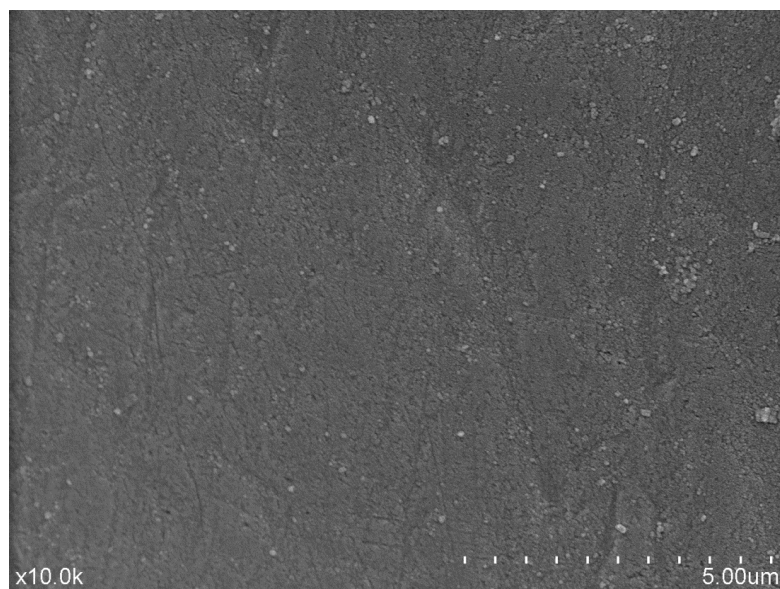


Figura 27: Imagen grupo control. Superficie de esmalte intacta 10.000X.

7.3.2. DENTYSES WHITENING SYSTEM

En las imágenes a 900 y 10.000 aumentos de los dientes tratados con Dentyses Whitening System (PH 6%), se observó una superficie de esmalte sin alteraciones morfológicas, similar a las imágenes del grupo control (Figuras 28 y 29).

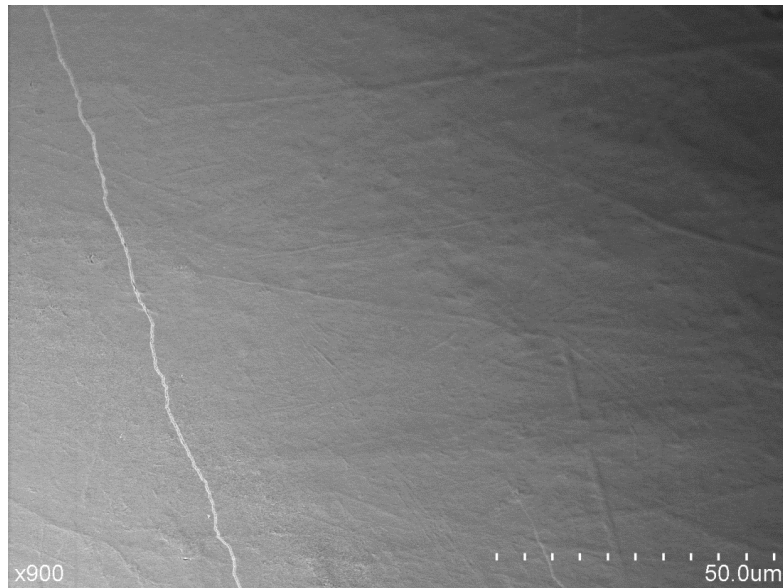


Figura 28: Superficie del esmalte tratada con Dentyses Tooth Whitening (PH 6%) 900X.

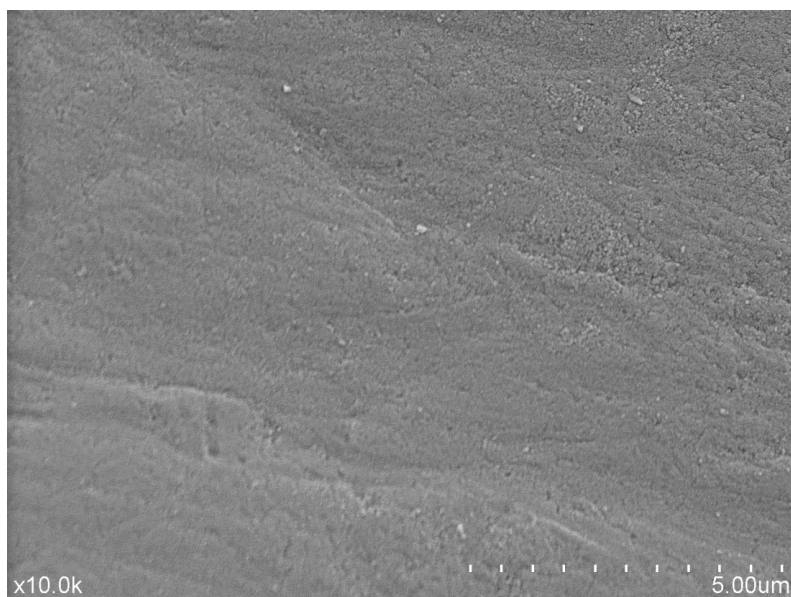


Figura 29: Superficie del esmalte tratada con Dentyses Tooth Whitening (PH 6%) 10.000X.

7.3.3. NORBLANC

En las imágenes a 900 y 10.000 aumentos de los dientes tratados con Norblanc (PH 35%), se observó una superficie de esmalte con alteraciones morfológicas circunscritas, de carácter severo en las que se observa erosión intraprisimática rugosa (Figuras 30 y 31).

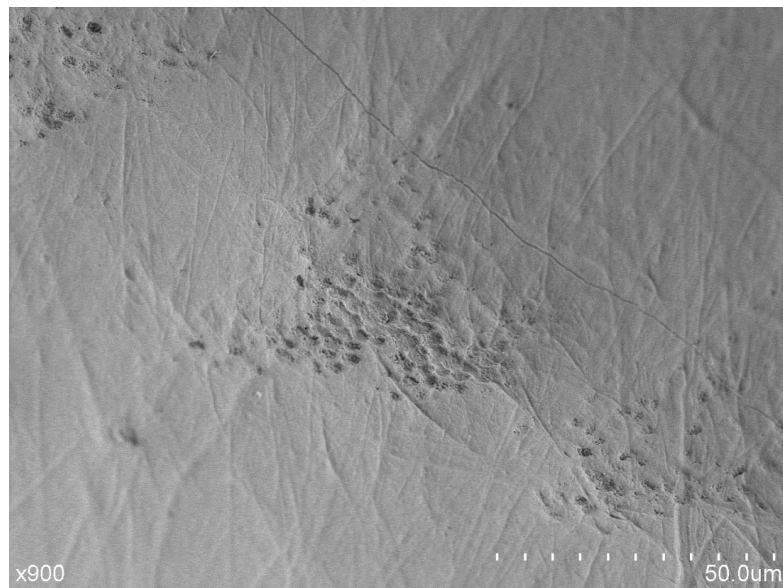


Figura 30: Superficie del esmalte tratada con Norblanc (PH 35%) 900X.

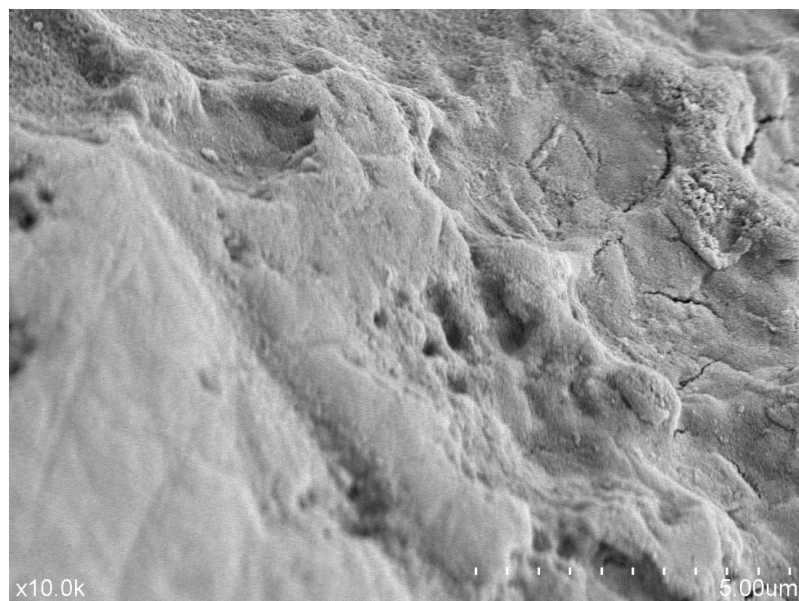


Figura 31: Superficie del esmalte tratada con Norblanc (PH 35%) 10.000X.

7.3.4. OPALESCENCE BOOST

En las imágenes a 900 y 10.000 aumentos de los dientes tratados con Opalescence Boost (PH 40%), se observó una superficie de esmalte con alteraciones morfológicas circunscritas, de carácter severo en las que se observa erosión intraprisimática rugosa y profunda (Figuras 32 y 33).

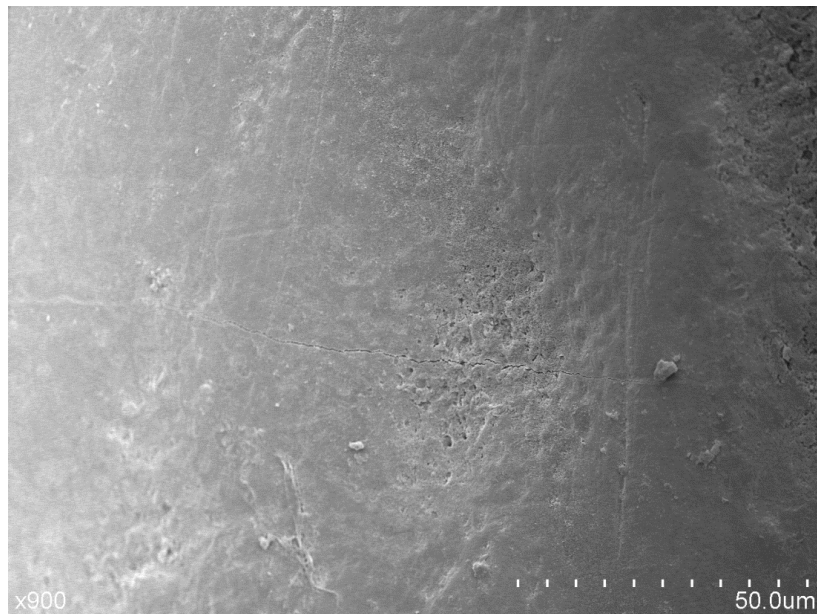


Figura 32: Superficie del esmalte tratada con Opalescence Boost (PH 40%) 900X.

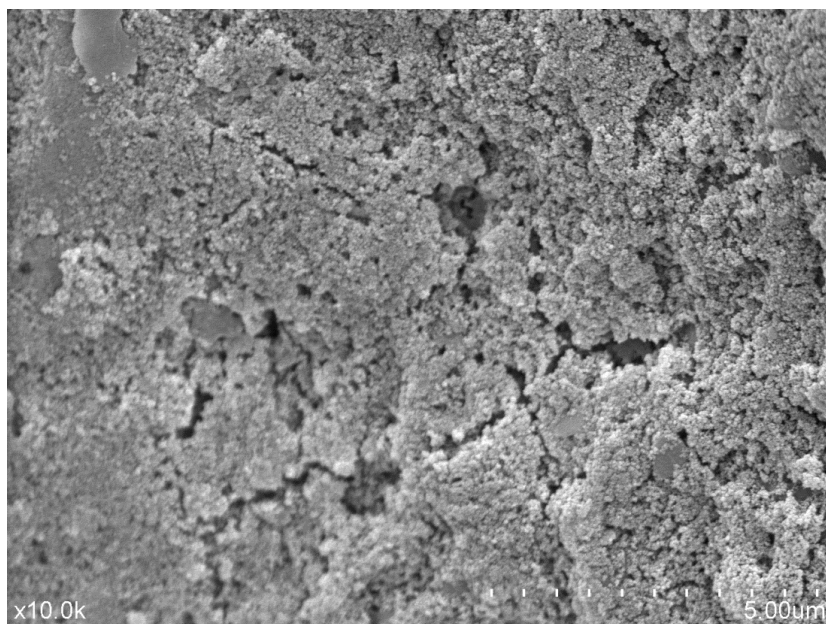


Figura 33: Superficie del esmalte tratada con Opalescence Boost (PH 40%) 10.000X.

7.3.5. *VOCO PERFECT BLEACH*

En las imágenes a 900 y 10.000 aumentos de los dientes tratados con Voco Perfect Bleach (PH 35%), se observó una superficie de esmalte con alteraciones morfológicas circunscritas, de carácter severo en las que se observa erosión intraprismática rugosa y muy profunda (Figuras 34 y 35).

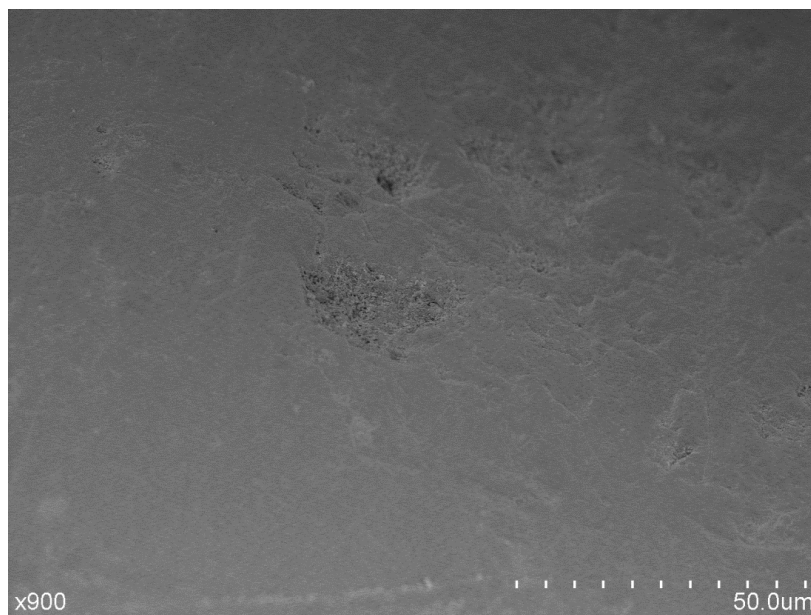


Figura 34: Superficie del esmalte tratada con Voco Perfect Bleach (PH 35%) 900X.



Figura 35: Superficie del esmalte tratada con Voco Perfect Bleach (PH 35%) 10.000X.

7.3.6. POLA OFFICE+

En las imágenes a 900 y 10.000 aumentos de los dientes tratados con Pola Office+ (PH 37,5%), se observó una superficie de esmalte con alteraciones morfológicas generalizadas, de carácter leve en las que se observa erosión intraprisimática lisa (Figuras 36 y 37).

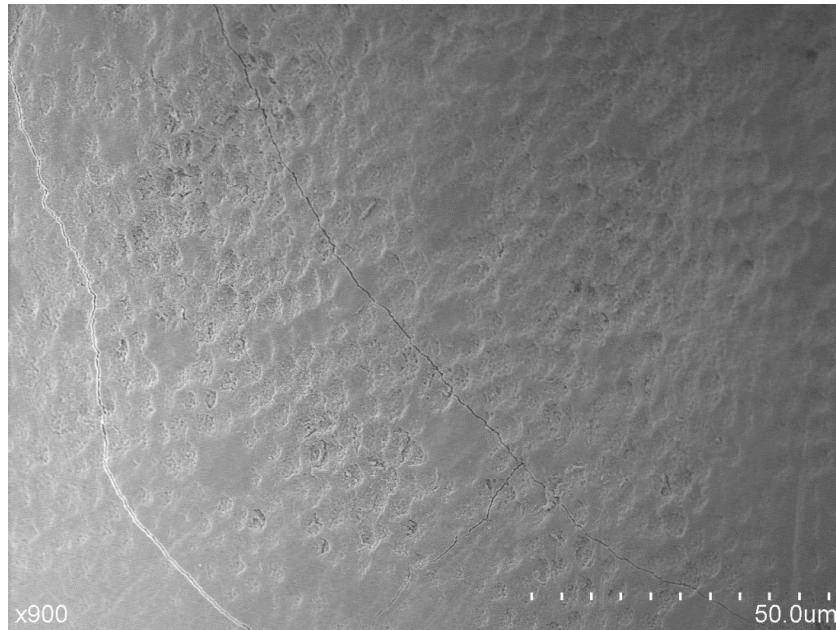


Figura 36: Superficie del esmalte tratada con Pola Office+ (PH 37,5%) 900X.

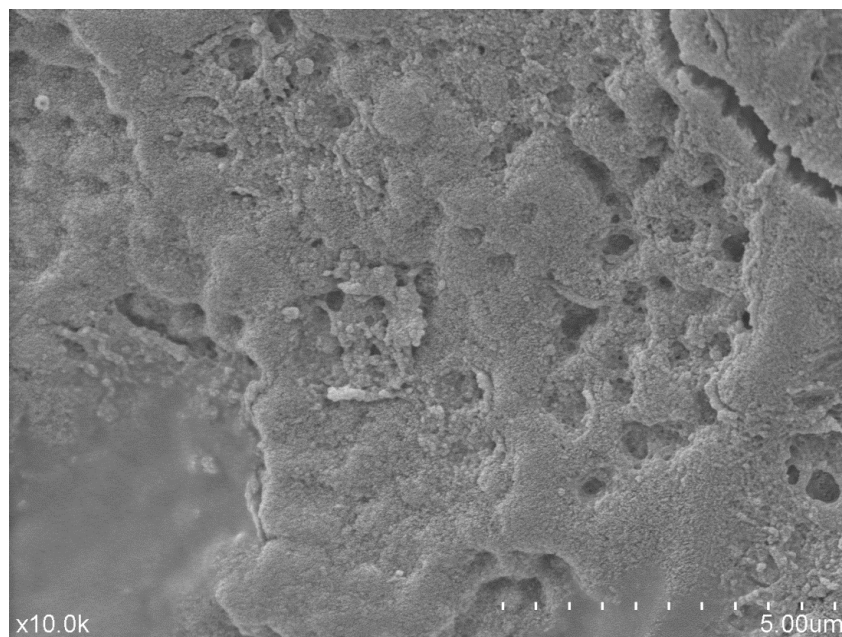


Figura 37: Superficie del esmalte tratada con Pola Office+ (PH 37,5%) 10.000X.

7.3.7. WHITE KISS TOTAL POWER

En las imágenes a 900 y 10.000 aumentos de los dientes tratados con White Kiss Total Power (PH 35%), se observó una superficie de esmalte con alteraciones morfológicas generalizadas, de carácter muy severo en las que se observa erosión inter e intraprisimática rugosa y muy profunda (Figuras 38 y 39).

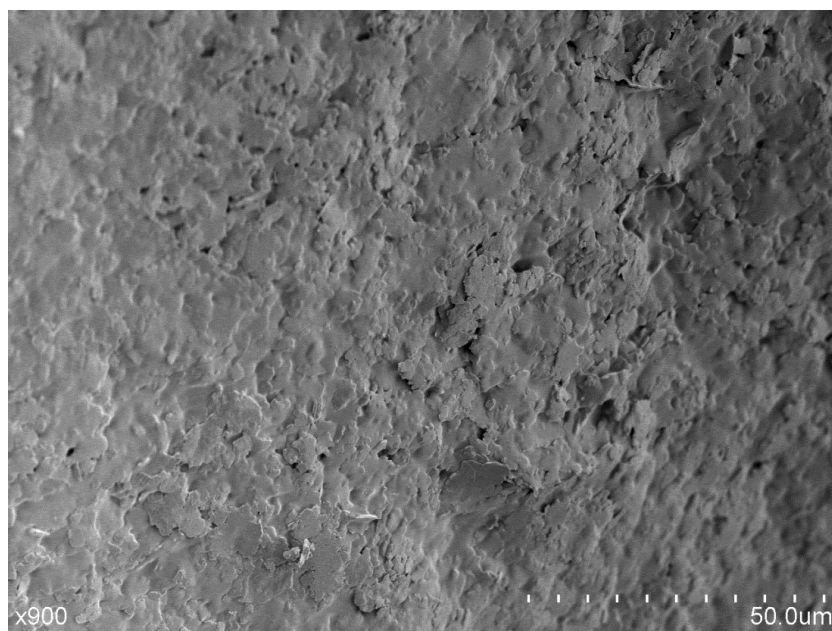


Figura 38: Superficie del esmalte tratada con White Kiss Total Power (PH 35%) 900X.

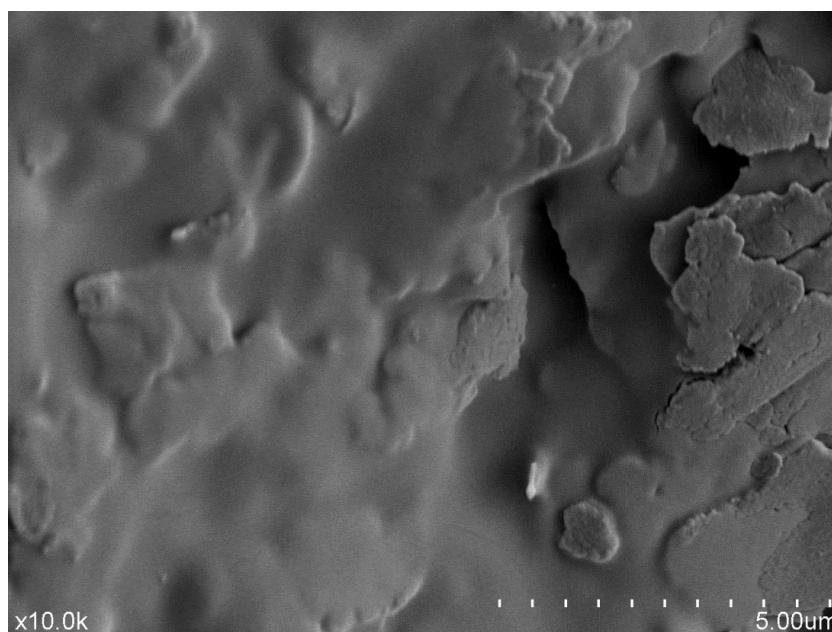


Figura 39: Superficie del esmalte tratada con White Kiss Total Power (PH 35%) 10.000X.

7.3.8. ZOOM

En las imágenes a 900 y 10.000 aumentos de los dientes tratados con Zoom (PH 25%), se observó una superficie de esmalte con alteraciones morfológicas generalizadas, de carácter leve en las que se observa erosión interprismática lisa (Figuras 40 y 41).

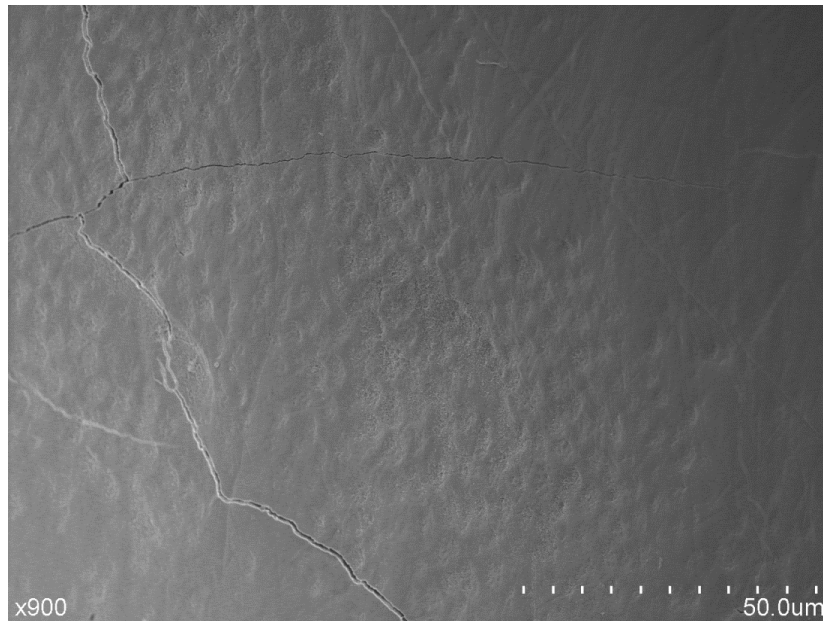


Figura 40: Superficie del esmalte tratada con Zoom (PH 25%) 900X.

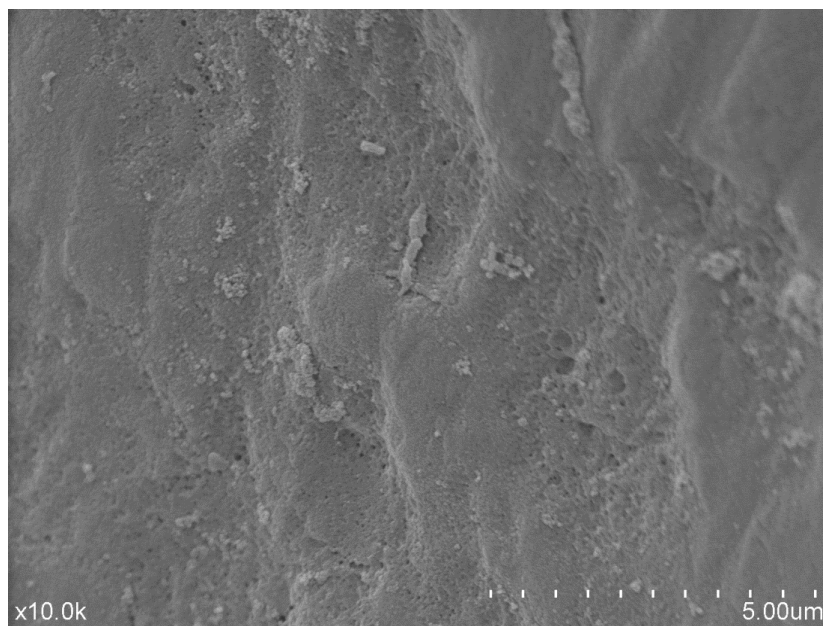


Figura 41: Superficie del esmalte tratada con Zoom (PH 25%) 10.000X.

7.4. VELOCIDAD DE DISMINUCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE PEROXIDO DE HIDROGENO DURANTE SU USO

Se determinó la concentración de peróxido de hidrógeno, mediante el método expuesto anteriormente a los siguientes tiempos:

1 2 5 15 minutos

Con estos datos, se realizó la gráfica de disminución de la concentración de peróxido de hidrógeno durante el proceso de blanqueamiento que representa la cinética de la reacción de descomposición del peróxido.

7.4.1. DENTYSES WHITENING SYSTEM

La grafica de descomposición del peróxido de hidrógeno obtenida se muestra en la figura 42.

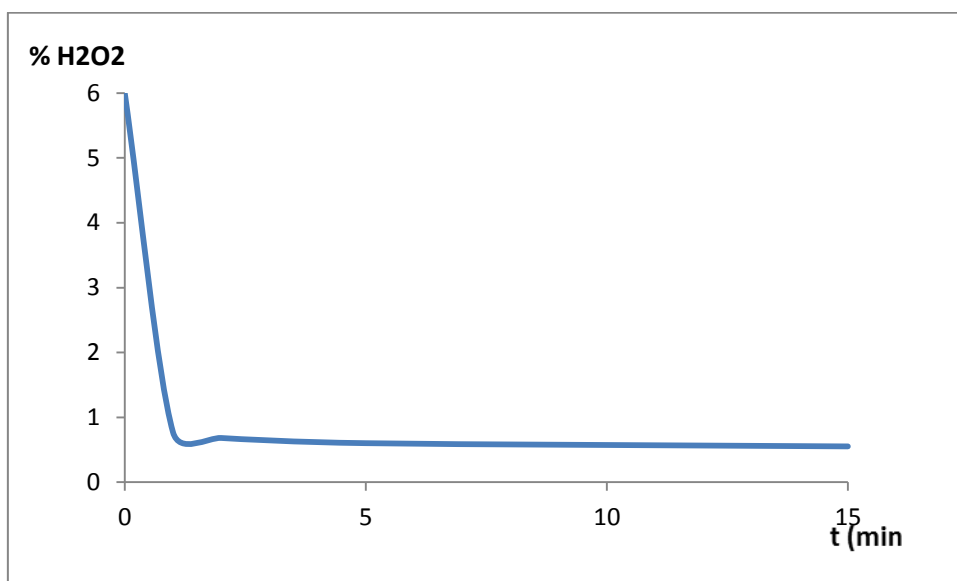


Figura 42: Cinética de descomposición del Peróxido de hidrógeno para Dentyses Whitening System

Se observa un descenso muy brusco en la concentración, ya que al minuto de tratamiento se ha descompuesto casi la totalidad del peróxido. Esta cinética es típica de un proceso catalizado, ya que desde el principio la velocidad de reacción es máxima.

Esto se debe a la eficacia del catalizador heterogéneo aplicado. El peróxido sin descomponer se debe a cantidad de gel que no entra en contacto con el catalizador, al colocar un pequeño exceso de producto para conseguir la reproducibilidad del método.

7.4.2. NORBLANC

Para este producto se obtuvo la siguiente cinética (Figura 43).

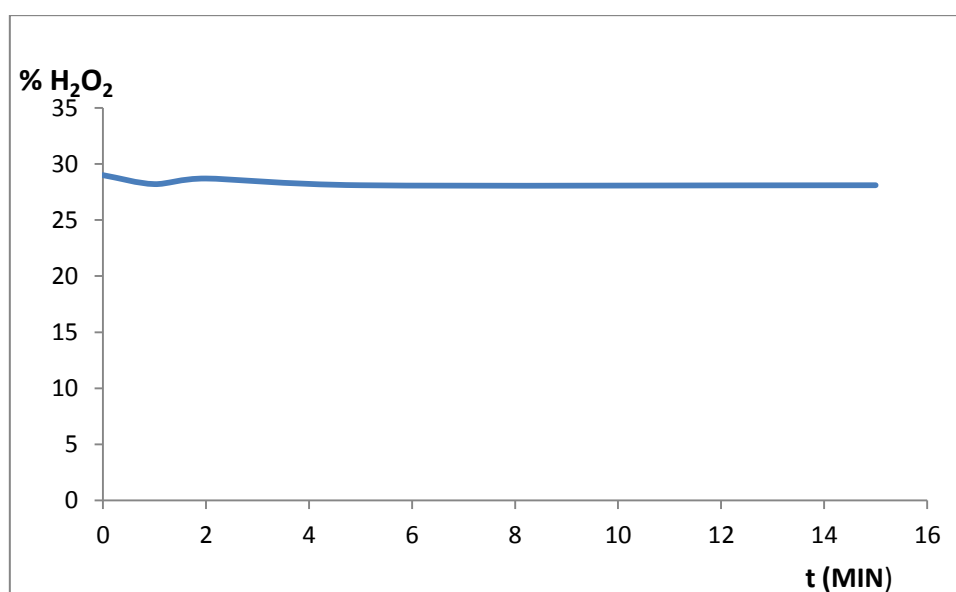


Figura 43: Cinética de descomposición del Peróxido de hidrógeno para NORBLANC

Prácticamente no se observa ningún descenso en la concentración del peróxido durante el tiempo recomendado de uso por el fabricante.

7.4.3. OPALESCENCE BOOST

La curva de descomposición de este gel es (Figura 44):

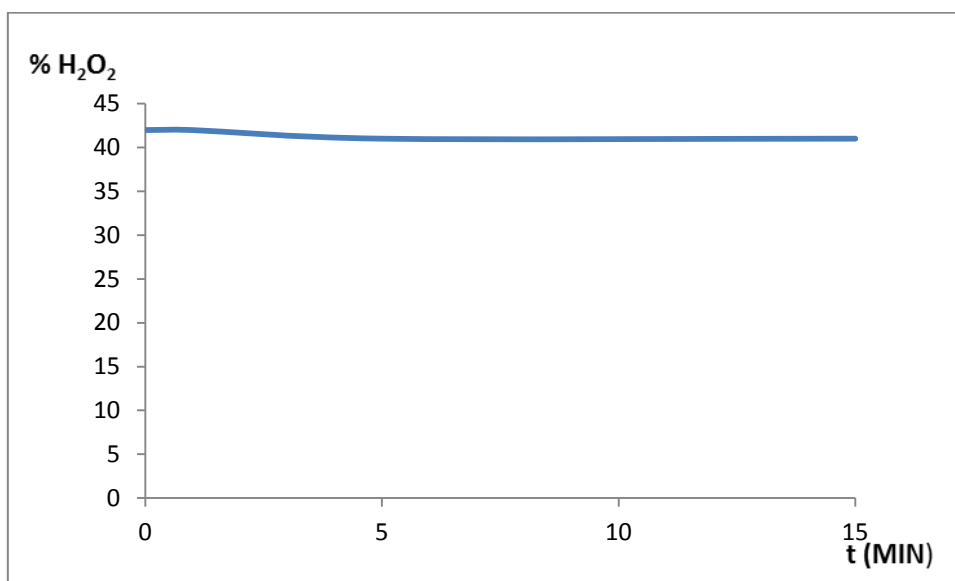


Figura 44: Cinética de descomposición del Peróxido de hidrógeno para OPALESCENCE BOOST

Para este gel, no se aprecia ningún descenso de la concentración en los 15 minutos estudiados.

7.4.3. VOCO PERFECT BLEACH

Para este producto se observa un ligero descenso en el primer minuto, de un 1,5 %, pero luego se estabiliza, como se muestra en la figura 45.

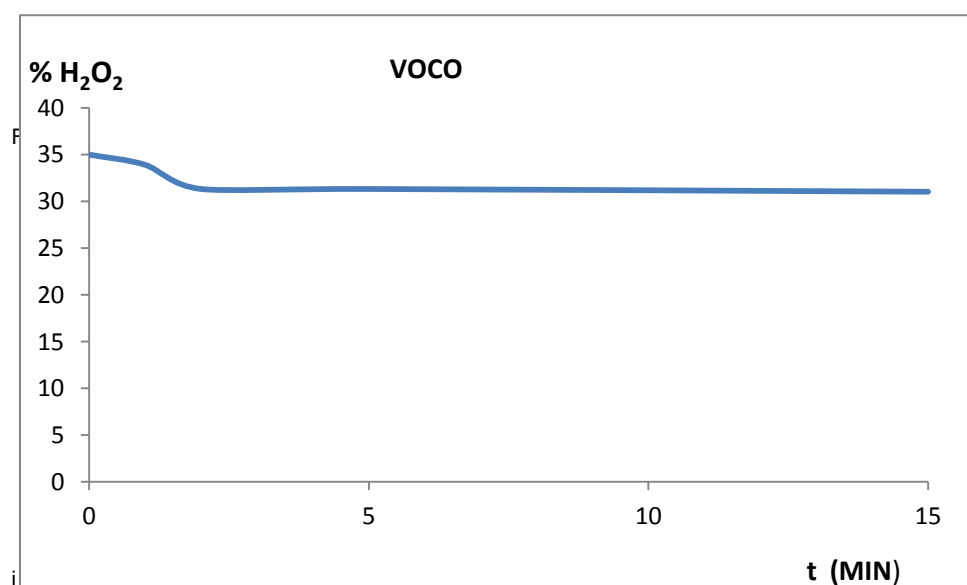


Figura 45: Cinética de descomposición del Peróxido de hidrógeno para VOCO PERFECT BLEACH

Este tipo de cinética nos indica, que el catalizador es eficaz pero su efecto desaparece al primer minuto.

7.4.5. POLA OFFICE+

La gráfica se muestra a continuación (Figura 46):

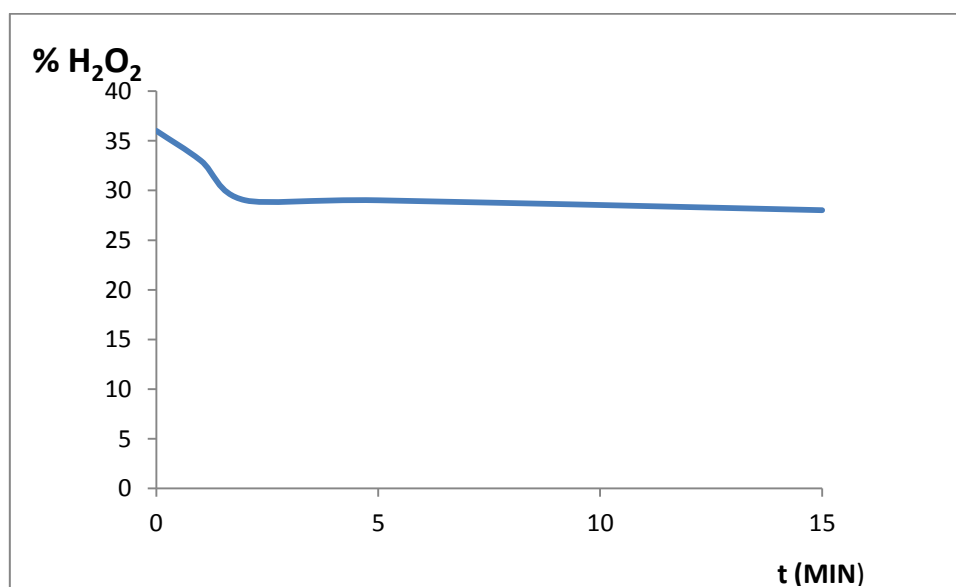


Figura 46: Cinética de descomposición del Peróxido de hidrógeno para POLA OFFICE+

Hay un descenso en los primeros minutos de hasta un 5 %, pero luego se estabiliza. Esta cinética nos indica que el catalizador es eficaz sólo durante este tiempo.

7.4.6. WHITE KISS TOTAL POWER

La cinética de este producto se muestra en la figura 47.

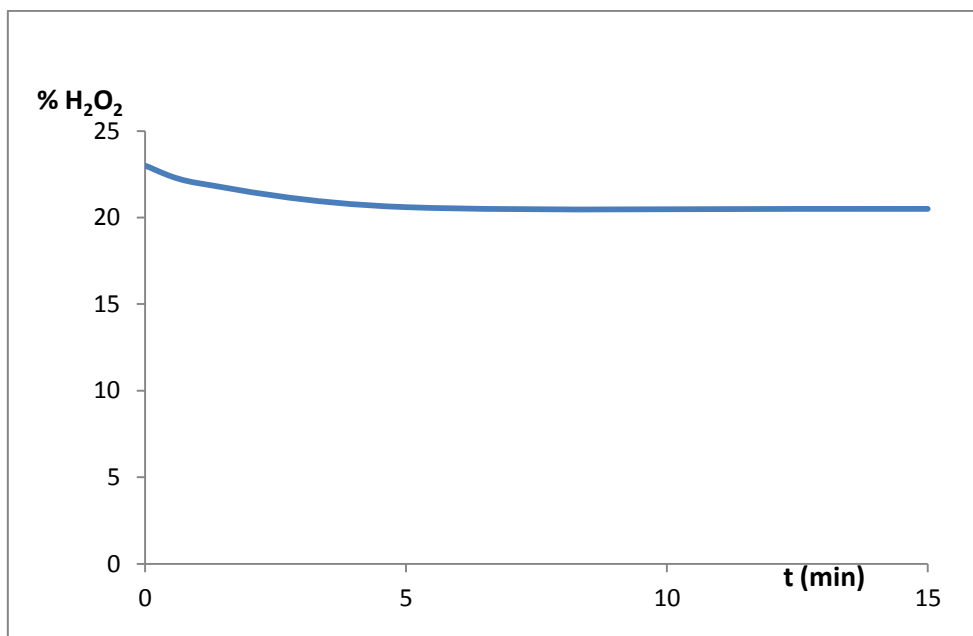


Figura 47: Cinética de descomposición del Peróxido de hidrógeno para WHITE KISS TOTAL POWER

Se observa un descenso muy ligero (2,5 %) en los primeros minutos, y luego se estabiliza.

6.4.7. ZOOM

Este producto presenta un ligero descenso en los primeros minutos, u luego se estabiliza su concentración, como se muestra en la figura

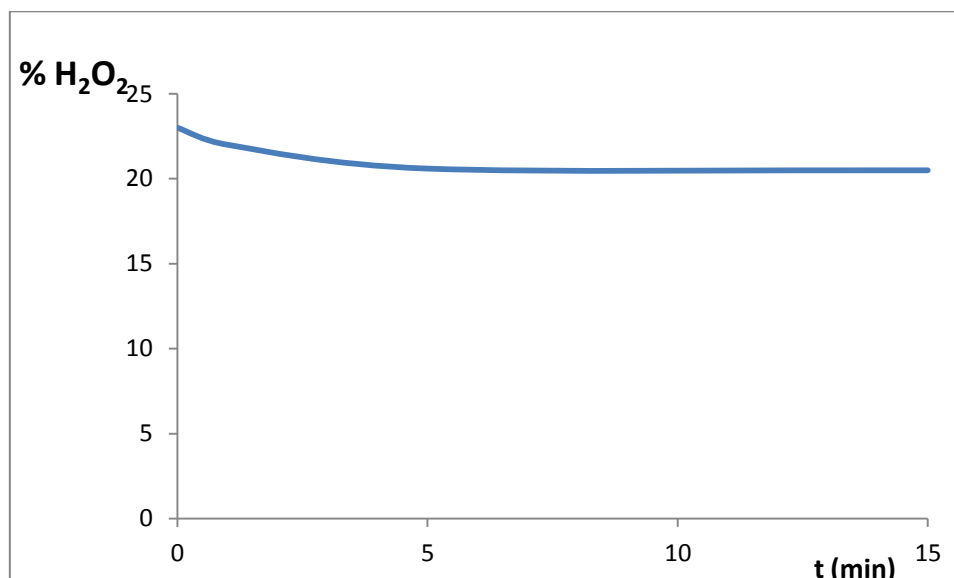


Figura 47: Cinética de descomposición del Peróxido de hidrógeno para ZOOM

Todos los productos estudiados, a excepción de Dentyses Whitening System, muestran el mismo tipo de cinética; se produce un ligero descenso de la concentración del peróxido nunca superior al 5 %, durante los primeros minutos y luego se estabiliza la concentración. Esta gráfica nos muestra que el catalizador de muchos de ellos es muy poco eficaz para la descomposición del peróxido y se agota en muy poco tiempo.

En el caso de Dentyses Whitening System, se produce la descomposición muy rápida del peróxido y no muestra problemas de agotamiento.

8. DISCUSIÓN

En este estudio de investigación se utilizaron dientes bovinos de similar edad, pues se considera que los resultados obtenidos en ellos son comparables a los procedentes de dientes humanos, siempre y cuando sean manipulados y preparados de manera correcta. Por este motivo muchos trabajos de investigación emplean este tipo de dientes Beneti et al., 2004 ⁶⁴, Camargo et al., 2007 ⁶³, Camargo et al., 2009 ⁶⁸, Carrasco et al., 2009 ⁸⁷, Palo et al., 2012 ⁶⁵ y Saleem et al., 2015 ⁸⁶.

La utilización de muestras de esmalte de origen bovino, se fundamenta en la facilidad de obtención, manipulación y estandarización ⁵⁸.

8.1. CANTIDAD DE PERÓXIDO DE HIDRÓGENO QUE PENETRA A LA CÁMRA PULPAR

Hay numerosos métodos disponibles para la determinación espectrofotométrica del peróxido de hidrógeno en cantidades de microgramos que penetra a la cámara pulpar en el blanqueamiento dental.

El método experimental seleccionado en este estudio se considera preciso, selectivo y sensible, fue desarrollado por Mottola et al., 1970 ⁹³. Se ha utilizado en numerosos estudios por los investigadores (Bowles y Ugwuneri 1987 ⁹⁶, Cooper et al., 1992 ⁴⁸, Gökay et al., 2000 ^{70,97} y Gökay et al., 2005 ⁶⁹).

En este estudio, los dientes no se almacenaron en saliva artificial, como en los estudios previos de Cooper et al., 1992 ⁴⁸, Gökay et al., 2000 ^{70,97}. Los dientes fueron depositados en agua destilada a 4°C, adicionada con un 0,1% de timol para evitar el crecimiento bacteriano, como en el estudio de Gökay et al., 2005 ⁶⁹.

Excluimos las soluciones salinas, tales como el suero fisiológico y la saliva artificial, para evitar interferencias analíticas y remineralizaciones durante el periodo de espera, sin embargo, en los estudios de Beneti et al., 2004 ⁶⁴,

Camargo et al., 2007⁶³, Camargo et al., 2009⁶⁸ y Palo et al., 2012⁶⁵ utilizaron soluciones salinas para almacenar los dientes a estudiar.

La penetración de los agentes blanqueadores a la cámara pulpar se produce, principalmente, debido al bajo peso molecular y la capacidad para desnaturalizar las proteínas que tiene el peróxido de hidrógeno, lo que aumenta el movimiento de iones a través del esmalte y la dentina^{65-68,97,98}.

Generalmente, se afirma que el uso de productos blanqueadores que contienen peróxido de hidrógeno de alta concentración presentan mayor cantidad de PH que penetra a la cámara pulpar Cooper et al., 1992⁴⁸, Benetti et al., 2004⁶⁴, Gökay et al., 2004⁹⁹ y Gökay et al., 2005⁶⁹.

En este estudio se da la correlación entre peróxido de hidrógeno de alta concentración y mayor penetración de PH a la cámara pulpar. Opalescence Boost (PH 40%) obtiene el valor más alto, >1,5µG, de cantidad de peróxido de hidrógeno en µG que penetra a la cámara.

Dentyses Tooth Whiteneng, que es el grupo experimental a estudio con menor concentración de peróxido de hidrógeno (PH 6%), tuvo un valor de 0µG de PH que penetra a la cámara pulpar, mientras que en el trabajo de Gökay et al., 2005⁶⁹ obtuvieron un valor de 0,175 µG en el peróxido de hidrógeno al 5,3% y un valor de 0,443 µG en el peróxido de hidrógeno al 8,7%.

Sin embargo, el grupo experimental de Pola Office+ (PH 37,5%), que es el segundo grupo experimental con mayor concentración de PH de este trabajo, tuvo un valor de <1µG, mientras que Voco Perfect Bleach (PH 35%) Y Norblanc (PH 35%) obtuvieron valores de >1,5µG de peróxido de hidrógeno que penetra a la cámara pulpar.

En el estudio de Camargo et al., 2007⁶³ en el que emplearon un peróxido de hidrógeno al 38%, obtuvieron valores de penetración de PH a la cámara pulpar comprendidos entre 0,25-0,8 µG, a diferencia de este trabajo.

En el trabajo de Palo et al., 2012⁶⁵ en el que utilizaron PH al 35%, obtuvieron valores de cantidad de peróxido que penetra a la cámara pulpar <1 µG, como en este estudio. Sin embargo Camargo et al., 2009⁶⁸ los valores de cantidad de PH que penetra a la cámara pulpar eran >1 µG para el PH al 35%, en dos de los tres grupos a estudio.

En todos los estudios revisados, se concluye que hay penetración de peróxido a la cámara pulpar tras el blanqueamiento dental, independientemente del principio activo que se utilice y la concentración del mismo^{48,63-63,68-70, 87,96-99}. En esta investigación todos los grupos experimentales presentan penetración de PH a cámara a excepción de Dentyses Tooth Whitening.

La cantidad de agente blanqueador que pasa a través de la estructura del diente está influenciada por el espesor del esmalte, la dentina y el cemento. Las diferencias en los resultados obtenidos pueden atribuirse a las diferencias en la composición de cada producto de blanqueamiento dental^{65,69}.

Los resultados de Dentyses Whitening System pueden estar relacionados con el catalizador químico heterogéneo que incorpora en su composición. Este produce la activación del peróxido de hidrógeno, y por tanto, su efecto blanqueador, pero crea una barrera en la superficie del esmalte que impide el paso del PH a través del mismo, y dificulta su penetración a la cámara pulpar evitando el riesgo de sensibilidad dental.

8.2. EFICACIA DE LOS SISTEMAS DE BLANQUEAMIENTO DE PERÓXIDO DE HIDRÓGENO QUIMIOACTIVADOS

En este estudio los resultados de la eficacia de los sistemas de blanqueamiento fueron valorados al término del tratamiento y en una posterior evaluación a 7 días de realización del blanqueamiento, como en los estudios de Paravina et al., 2007¹⁰⁰, Ontiveros et al., 2009¹⁰¹ y Gonzaga et al., 2015¹⁰².

La experiencia nos indica que el color de los dientes varía días después del blanqueamiento, debido a la deshidratación parcial del esmalte por el efecto de los agentes blanqueadores mientras dura el proceso.

Para realizar una medición más precisa y reproducible los registros fueron tomados mediante espectrofotometría, dado que la selección subjetiva del color mediante guías va a depender, entre otros factores, de las características del observador, como en los estudios de Gonzaga et al., 2015¹⁰² y Sarath et al., 2013¹⁰³.

Actualmente, en odontología se dispone de muchos dispositivos, siendo el espectrofotómetro, el más adecuado para proporcionar mediciones sistemáticas y precisas, considerándose el patrón de referencia para evaluar las variaciones de color¹⁰⁴. En nuestro trabajo se utilizó el espectrofotómetro Easyshade, como en los estudios de Paravina et al., 2007¹⁰⁰, Ontiveros et al., 2009¹⁰¹, Gonzaga et al., 2015¹⁰², Sarath et al., 2013¹⁰³, Amengual y cols¹⁰⁴.

Los datos obtenidos a partir de espectrofotómetros deben ser manipulados y traducidos en una forma útil por los profesionales dentales. Son bastante precisos y estables en el tiempo, y son los instrumentos preferidos para medir las superficies de color, pudiendo evaluar metamerismo¹⁰⁵.

En comparación con la observación del ojo humano, o de las técnicas convencionales, se ha encontrado que los espectrofotómetros ofrecen un aumento del 33% en la precisión y objetividad, con una coincidencia de color en un 93,3-96% de los casos¹⁰⁴.

Otros estudios “in vivo” que examinaron el color de los dientes visualmente y por espectrofotometría sugirieron que la determinación espectrofotométrica de color es más exacta y reproducible que el método visual convencional^{106,107}.

Igualmente, estudios que compararon los cambios de color de los dientes naturales “in vivo” utilizaron medidas espectrofotométricas de referencia ¹⁰⁸.

Para las medidas del color, se utilizó la fórmula del ΔE , que es una forma de medir la diferencia existente entre dos colores, como en los trabajos de Paravina et al., 2007 ¹⁰⁰, Ontiveros et al., 2009 ¹⁰¹, Gonzaga et al., 2015 ¹⁰², Sarath et al., 2013 ¹⁰³. En el estudio de Kim-Pusateri et al., 2009 ¹⁰⁹ demostraron que este método da más confianza y es más estable con un 96% de reproducibilidad.

La medida ΔE es, supuestamente, la diferencia mínima entre dos colores que el ojo humano medio es capaz de distinguir.

Con el sistema CIELab podemos calcular la diferencia de color, que se representa por el valor delta-E ΔE ²⁵. La diferencia de color expresa mediante una cifra la distancia que existe en el espacio cromático CIELab entre dos colores (color A y color B), o lo que es lo mismo cuán diferentes son relacionando sus coordenadas L^* , a^* y b^* .

ΔE superiores a 2 ya son visibles por el ojo humano, y de 4 se consideran un valor equivalente a un existe en blanqueamiento dental ^{91,92}.

En nuestros resultados encontramos que, todos los dientes sometidos a blanqueamiento de cada grupo experimental, independientemente de la concentración de peróxido de hidrógeno que presentaba cada sistema de blanqueamiento a estudio presentaron una modificación en los valores $L^*a^*b^*$, y en consecuencia en los valores ΔE , tanto en la medición post tratamiento como a los 7 días, obteniendo resultados satisfactorios.

En los estudios de Sulieman et al., 2004 y 2006 ^{110,111} encontraron que los sistemas de blanqueamiento que contenían los principios activos con mayor porcentaje de peróxido de hidrógeno (PH 35%) y de peróxido de carbamida (PC 30%), respectivamente, tuvieron los mejores resultados con un

incremento de 12 unidades SGU, en estos estudios no se determinaba el cambio de color con ΔE . Sin embargo en nuestro trabajo White Kiss Total Power que su principio activo es de peróxido de hidrógeno al 35%, obtuvo resultados superiores inmediatamente y a la semana del tratamiento blanqueador, en comparación con Opalescence Bosst (PH 40%) y Pola Office+ (PH 37,5%), que sus principios activos son de concentraciones superiores.

El resultado de un tratamiento de blanqueamiento dental depende del tipo del agente blanqueador que se utilice, su concentración y la capacidad de éste para alcanzar las moléculas causantes de la decoloración, la duración y el número de veces que el agente está en contacto con dichas moléculas³. También influyen otros factores como el tipo de discoloración dental y la edad del paciente, así como el color inicial de los dientes^{32,77}.

Además, se ha visto que agentes blanqueadores de uso clínico, no aseguran el resultado estético deseado en solo una aplicación¹¹².

8.3. EFECTOS DEL BLANQUEAMIENTO DENTAL EN LA SUPERFICIE DEL ESMALTE

En este estudio se evaluaron los efectos del blanqueamiento dental sobre la superficie del esmalte con un microscopio electrónico de barrido como en los estudios de Cavalli et al., 2004¹¹³, Pinto et al., 2004¹⁰, Carrasco et al., 2009⁸⁷, Dudea et al., 2009¹¹⁴, Sarath et al., 2013¹⁰³ y Saleem et al., 2015⁸⁶.

Los efectos del blanqueamiento dental sobre la superficie del esmalte es un tema controvertido y los resultados de las investigaciones están influenciados por multitud de variables¹¹⁴.

Torres CRG et al., 2013¹¹⁵, observaron que el peróxido de hidrógeno penetró el esmalte, alcanzando la dentina subyacente, produciendo la oxidación de sus compuestos orgánicos, y la modificación de sus compuestos minerales. Finalmente, la erosión adamantina originada por el peróxido de

hidrógeno, es la suma del efecto específico sobre los compuestos orgánicos (desnaturalización de las proteínas), y del grabado del esmalte, asimilable al que ocurre durante la erosión química con sustancias acídicas.

El peróxido de hidrógeno tiene la capacidad de desnaturalizar las proteínas, aumenta la permeabilidad de los tejidos dentales y permite que los radicales libres se muevan a través de los dientes. El grado de desmineralización del esmalte tras un tratamiento de blanqueamiento dental depende de la concentración (dosis/efecto) pH y de la viscosidad del agente blanqueador. Otros posibles factores que influyen, son las propiedades ácidas de los principios activos y el contacto prolongado entre los agentes blanqueadores y la estructura dental ^{86,116,117}.

En la práctica clínica, inmediatamente después del blanqueamiento dental, la superficie externa del esmalte es comparable con una superficie grabada con ácido, pese a que la lesión microscópica es menor, en comparación con la técnica de grabado tradicional con ácido ortofosfórico al 37% ^{3,118,119}.

En este estudio, los sistemas de blanqueamiento, que en su fórmula presentan principios activos con concentraciones de PH al 35% o superior ocasionaron lesiones más evidentes sobre la superficie del esmalte. En las que se observa al SEM, una superficie del esmalte con alteraciones morfológicas generalizadas, de carácter muy severo con erosión inter e intraprismática rugosa y profunda (White Kiss Total power 35% PH, Opalescence Boost 40% PH, Voco Perfect Bleach 35% PH y Norblanc 35% PH), como en los estudios de Sulieman et al., 2004 ¹¹⁰, Carrasco et al., 2009 ⁸⁷ y Sarath et al., 2013 ¹⁰³.

Una mayor rugosidad superficial del esmalte con depresiones interprismáticas más profundas y una pérdida de la sustancia mineralizada, conlleva a que el esmalte sea más susceptible a decoloraciones extrínsecas ¹²⁰.

Sin embargo, en el grupo experimental tratado con Pola Office+ (37,5% PH), que es un principio activo de alta concentración, se produjeron alteraciones generalizadas de carácter leve sobre la superficie del esmalte. En el grupo blanqueado con Zoom (25% PH), se obtuvieron los mismos resultados.

En esta investigación cabe destacar que, en los dientes tratados con Dentyses Whitening System (PH 6%), se observó una superficie de esmalte sin alteraciones morfológicas, similar a las imágenes del grupo control de este estudio vistas al SEM.

La porosidad/rugosidad originada por el grabado ácido del peróxido de hidrógeno es la causa por la que, durante las primeras fases del tratamiento, se recomienda evitar alimentos con excesivos colorantes (té, café, vino tinto, etc.), tabaco, bebidas carbonatadas y zumos de frutas.

Estas alteraciones en la estructura del esmalte no se aprecian a nivel macroscópico y disminuyen por el efecto remineralizante del medio hídrico, es decir, la saliva ¹¹⁴.

Leonard et al., 2001 ¹²¹, confeccionaron modelos de yeso a partir de impresiones de maxilares blanqueados (con PH al 10%, aplicado durante 8-10 horas/día) y examinaron las superficies dentales sin constatar ninguna alteración.

En el estudio de Bitter NC, 1998 ¹²², en el grupo experimental tratado con peróxido de hidrógeno al 30% la superficie del esmalte presenta unas pequeñas alteraciones morfológicas que son reparadas en 90 días post tratamiento. De aquí se desprende, que los dientes que han recibido un tratamiento de blanqueamiento dental son más susceptibles a las discoloraciones extrínsecas después del tratamiento, debido al incremento de la rugosidad de la superficie del esmalte. Consecuentemente, algunos sistemas de blanqueamiento finalizan la fase clínica con una pasta fluorada o no que

suele incorporar partículas abrasivas/discos de pulido, para devolver la lisura a la superficie adamantina ¹⁰.

En este estudio, todos los sistemas blanqueadores a estudio ocasionaron alteraciones sobre la superficie adamantina del esmalte a excepción de Dentyses Tooth Whitening.

8.4. VELOCIDAD DE DISMINUCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE PEROXIDO DE HIDROGENO DURANTE SU USO

Torres et al., 2013 ¹¹⁵ y Wu et al., 2013 ¹²³, en sus estudios sobre la citotoxicidad del peróxido de hidrógeno y especies reactivas ROS sobre los odontoblastos, indican que esta citotoxicidad depende de la concentración y del tiempo de exposición, por eso es un factor determinante la concentración del producto usado como el tiempo.

En este estudio se ha comprobado que los productos blanqueadores a excepción de Dentyses Whitening System, no disminuyen la concentración del mismo durante todo el tiempo de tratamiento. El efecto de sus catalizadores sobre la concentración es mínimo.

Todos estos productos, presentan una alta capacidad de difusión a través de esmalte y dentina, ya que con los resultados de este estudio se ha comprobado que se obtienen concentraciones superiores a 0,5 mM. Según Regina et al., 2009 ¹²⁴, a partir de una concentración inferior a 0,03mM los odontoblastos presentan reacción inflamatoria.

9. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación podemos concluir:

1. La determinación espectrofotométrica del peróxido de hidrógeno que llega a la cámara pulpar, siguiendo los protocolos indicados por los fabricantes, no se corresponde de manera absoluta con la concentración de cada uno de los sistemas testados, contrariamente a lo publicado por algunos autores,

2. En todos los sistemas testados, excepto uno –Dentyses Tooth Whitening- hemos detectado en la cámara pulpar concentraciones de peróxido de hidrógeno suficientes, como para argumentar que sea esta, una de las variables que más influyen en la aparición de la sensibilidad dentinaria.

3. El estudio SEM confirmó que la erosión adamantina depende de la concentración y capacidad de penetración del producto blanqueador. A día de hoy, no hay consenso sobre la inocuidad de los agentes blanqueadores sobre el esmalte, por el efecto remineralizador del medio hídrico, aunque cabe cuestionar si los cristales de calcio, fosfato y flúor, podrán conseguir una disposición varillar o prismática análoga a la original.

4.- El diferencial de color en el espacio CIELab de los sistemas testados, medido por espectrofotometría es, clínicamente eficiente según la ADA (2009) excepto el obtenido con el Dentyses Tooth Whitening que queda ligeramente por debajo de 5 unidades SGU.

5.- En todos los sistemas testados, siguiendo los protocolos de los fabricantes, hay una pérdida mínima de la concentración del peróxido de hidrógeno con el tiempo, excepto en el Dentyses Tooth Whitening donde, por efecto de su catalizador heterogéneo, la concentración se reduce exponencialmente desde el 6% al 1%, en menos de un minuto.

10. BIBLIOGRAFÍA

10. BIBLIOGRAFIA:

1. Bistey T, Nagy IP, Simo A, Hegedus C. In vitro FT---IR Study of the effects of hydrogen peroxide on superficial tooth enamel. *J Dent.* 2007;35:325-30.
2. Chain M, Baratieri L. Restauraciones estéticas con resinas compuestas en dientes posteriore. Ed. Artes Médicas 2001.
3. Dahl JE, Pallesen U. Tooth bleaching ---A critical review of the biological aspects. *Rev Oral Biol Med.* 2003;14:292-304.
4. Lynch E. Use of Ozone to whiten teeth. United States 6,877,985. April 12, 2005.
5. Cappeletto E, Pedroso C, Takeo A, Campos M. Influence of post-bleaching time intervals on dentin bond strength. *Bras Oral res* 2004, 18:75-9.
6. Romero E, Morello S. Blanqueamiento dental externo en dientes con tinciones de tetraciclina. *Rev Oper Dent Endod* 2005;5:7.
7. Miranda C; Pagani C; Benettii A; Matuda S. Evaluation of bleached human enamel by scanning electron microscopy. *J Appl Oral Sci* 2005; 13:204-11.
8. Sulieman M, Addy M, Macdonald E, Ress J. The bleaching depth of a 35% hydrogen peroxide based in-office product: a study in vitro. *J Dent* 2005;33:33-40.
9. Powell L, Bales D. Tooth bleaching: Its effect on oral tissues. *JADA* 1991; Nov. 50-54.
10. Pinto CF, de Oliveira R, Cavalli V, Giannini M. Peroxide bleaching agent effects on enamel surface microhardness, roughness and morphology. *Pesqui Odontol Bras.* 2004;18:306-11.
11. Cunha Cláudia Menezes; Mathias Paula. Minimizando os efeitos do clareamento de dente sobre a adesão. *Rev paul Odontol* 2004;26:27-31.
12. Miranda AM, Nima G, Bazan JE, Saravia MA. Efectos de un blanqueamiento dental con ozono y otro con peróxido de carbamida al 22% sobre la fuerza de adhesión al esmalte en diferentes intervalos de tiempo. *Act Odontol Ven* 2009;47:4.

13. Tooth whitening/bleaching: treatment considerations for dentists and their patients. ADA council on Scientific Affairs 2009.
14. McCracken Ms, Haywood VB. Desmineralization effects of 10 percent carbamide peroxide. *J Dent* 1996;24:395-98.
15. Basting RT. Effects of a 10% carbamide peroxide bleaching agent on roughness and microhardness of packable composite resins. *J Esthet Rest Dent* 2005;17:256-63.
16. Orden del Ministerio de Sanidad SSI/2260/2012, de 16 de octubre, por la que se modificaba el anexo III del Real Decreto 1599/1977, de 17 de octubre, sobre productos cosméticos.
17. Desayunos Gaceta dental. Un tratamiento odontológico, no sólo estético. [<http://www.gacetadental.com/2013/01/un-tratamiento-odontologico-no-solo-estetico-24164>]. 9 ene, 2013.
18. Beyer L, Fernández Herrero V. Química Inorgánica. Ariel Ciencia 2000; 160-63.
19. Llana MC, Amengual J, Forner L. Seguridad biológica de los agentes blanqueadores dentales (I). *Rev Blanq Dent* 2004;E1:27-30.
20. Dillenburger AL, Conceição. Clareamiento dental. En: *Dentística Saúde e Estética*. Porto Alegre: Artemed Editora. 2000. pp. 227-48.
21. Amengual J, Llana MC, Forner L. Evaluación de las variaciones de pH provocadas en el medio externo por el peróxido de hidrógeno en el blanqueamiento dental interno. En prensa.
22. Tam L. Vital Effect of potassium nitrate and fluoride on carbamide peroxide bleaching. *Quintessence Int* 2001; 32: 760-70.
23. Llana MC, Amengual J, Forner L. Seguridad biológica de los agentes blanqueadores dentales (III). *Rev Asoc Univ Valenciana Blanq Dent* 2003;E1:35-37.
24. Amengual J, Forner L, Llana MC. Discoloraciones de la placa dental. En: *Manual práctico de blanqueamiento dental*. Valencia: Promolibro; 2002. p. 31-32.
25. Amengual J, Forner L. Blanqueamiento dental. Bases científicas y técnicas clínicas. Barcelona: Ediciones Especializadas Europeas; 2011. p. 17-142.

26. Fessenden JS. Manual química orgánica. Química orgánica. Mexico: Fondo Educativo; 1985. p. 24-56.
27. Forner L, Amengual J, Llena MC. Etiología de las discoloraciones dentales. *Rev Blanq Dent*, 2002;E1:11-15.
28. Minoux M & Serfaty R. Vital tooth bleaching: biologic adverse effects-a review. *Quintessence Int* 2008;39:645-59.
29. Sulieman M.A.M. An overview of tooth-bleaching techniques: chemistry, safety and efficacy. *Periodontol* 2000 2008;48:148-69.
30. Watts A, Addy M. Tooth discolouration and staining: a review of the literature. *Br Dent J* 2001;190:309-16.
31. Tredwin CJ, Naik S, Lewis NJ, Scully C. Hydrogen peroxide tooth whitening (bleaching) products: review of adverse effects and safety issues. *Br Dent J*. 2006;200:371-76.
32. Joiner A. The bleaching of teeth: a review of the literature. *J Dent* 2006;34:412-19.
33. Llambés G, Llena C, Amengual J, Forner L. In vitro evaluation of the efficacy of two bleaching procedures. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2011;16:845-51.
34. Lili Zhang, Yulun Nie, Chun Hu, Xuexiang Hu. Decolorization of methylene blue in layered manganese oxide suspension with H₂O₂. *J of Haz Mat*, 2011;190:780-5.
35. Floyd RA. El efecto de los peróxidos y los radicales libres en los tejidos corporales. *J Am Dent Assoc* 1997;128:37-40.
36. Villar del Fresno, A.M. Farmacognosia general. Madrid. Síntesis. 1999.
37. Delgado Cirilo A, Minguillón Llombart C, Joglar Tamarco J. Introducción a la química terapéutica Ed. Diaz de Santos. 2003.
38. Pashley DH. Mecanismos de sensibilidad dentinaria. *Dent Clin N Am* 1990;34:413-35.
39. Siegrist RL et al. (eds.), *In Situ Chemical Oxidation for Groundwater Remediation*, Chapter 2 34-58 Springer Science+Business Media, LLC 2011.
40. Tam L. The safety of home bleaching techniques. *J Can Dent Assoc* 1999;65:453-55.

41. Alomari Q, El Daraa E. A randomized clinical trial of in-office dental bleaching with or without light activation. *J contemp dent pract* 2010;11:17-24.
42. Cohen SC, Chase C. Human pulpal responses to bleaching procedures on vital teeth. *J Endod* 1979;5:134-8.
43. Nathanson D, Parra C. Bleaching vital teeth — a review and clinical study. *Compend Contin Educ Dent* 1987;8:490-8.
44. Schulte JR, Morrissette DB, Gasior EJ, Czajewski MV. The effects of bleaching application time on the dental pulp. *J Am Dent Assoc* 1994; 125: 1330-5.
45. Tam L. Clinical trial of three 10% carbamide peroxide bleaching products. *J Can Dent Assoc* 1999;65:201-5.
46. Leonard RH, Haywood VB, Phillips C. Risk factors for developing tooth sensitivity and gingival irritation associated with nightguard vital bleaching. *Quintessence Int* 1997;28:527-34.
47. Brännström M. The hydrodynamic theory of dentinal pain: Sensation in preparations, caries, and the dentinal crack syndrome. *J Endod* 1986;12:453-57.
48. Cooper J, Bokmeyer TJ, Bowles WH. Penetration of the pulp chamber by carbamide peroxide bleaching agents. *J Endod* 1992;18:315-17.
49. Venereo JR. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Rev Cub Med Mil* 2002;32(2):126-133.)
50. Mc Guckin RS, Thurmond BA, Osovitz S. Enamel shear bond strengths after vital bleaching. *Am J Dent* 1992;5:216-222.
51. Dawson PF, Sharif MO, Smith AB, Brunton PA. A clinical study comparing the efficacy and sensitivity of home vs combined whitening. *Op Dent* 2011;36:460-6.
52. Basting RT, Amaral FL, França FM, Florio FM. 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. *Op Dent* 2012;3:464-73.

53. Giráldez I. Caracterización mecánica del esmalte tratado con peróxido de hidrógeno a alta concentración [Tesis Doctoral]. Madrid: Universidad Rey Juan Carlos, Facultad de Odontología;2014
54. Floyd RA, Schneider JE. Hydroxyl free radical damage to DNA. In: Vigo-Pelfrey C, editor. Membrane lipid oxidation. Boca Raton, FL: C.R.C. Press, 1990:230-38.
55. Goldberg M, Grootveld M, Lynch E. Undesirable and adverse effects of tooth-whitening products: a review. Clin Oral Invest 2010;14:1–10.
56. International Agency on Research on Cancer. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Re-evaluation of some organic chemicals, hydrazine and hydrogen peroxide. Vol.71. Lyon: IARC.
57. Borges BA, Torres CRG, de Souza PAB, Caneppele TMF, Santos LFTF, Magalhães AC. Bleaching Gels Containing Calcium and Fluoride: Effect on Enamel Erosion Susceptibility. Int J of Dent 2012;2012:347-8.
58. Minoux M, Serfaty R. Vital tooth bleaching: biologic adverse effects-a review. Quintessence Int 2008;39:645-59.
59. Zach L, Cohen G. Pulp response to externally applied heat. Oral Surg. Oral Med, Oral Path 1965;19:515-30.
60. Posada MC, Sanches CF, Gallego GJ, Pelaez A, Restrepo LF, Lopez JD. Dientes de bovino como sustituto de dientes humanos para su uso en la odontología. Revisión de la literatura. Rev CES Odont 2006;1:63-8.
61. Baena M, Coelho MA, Correr L, Consani S. Comparative study of the dental substrate used in shear bond strength tests. Pesqui Odontol Bras 2003;17: 171-75.
62. Martinez R, Fernandez E, Abbiati N, Rovegno M. Dimensions of permanent central incisors patagonian creole cattle and other racial groups. AICA 2012;2:45-50.
63. Camargo S, Valera M, Camargo CH, Gasparoto M, Menezes MM. Penetration of 38% Hydrogen Peroxide into de pulp chamber in bovine and human teeth submitted to office bleach technique. J Endod 2007;9:1074-7.
64. Benetti AR, Valera MC, Mancini MNG, Miranda CB, Balducci I. In vitro penetration of bleaching agents into de pulp chamber. Int Endodontic J 2004;37:120-4.

65. Palo RM, Bonetti I, Valera MC, Camargo CH, Camargo S, Moura C. Quantification of peroxide ion passage in dentin, enamel, and cementum after internal bleaching with hydrogen peroxide. *Oper Dent* 2012;6:660-4.
66. Mena AP et al. Effects of the concentration and composition of in-office bleaching gels on hydrogen peroxide penetration into de pulp chamber. *Oper Dent* 2015;2:76-82.
67. Berger SB, Tabchoury CP, Ambrosano GM, Giannini M. Hdyrogen peroxide penetration into de pulp chamber and dental permeability after bleaching. *Gen Dent* 2013;61:21-5.
68. Camargo S, Cardoso P, Valera M, Araujo MA, Kojima A. Penetration of 35% hydrogen peroxide into the pulp chamber in bovine teeth after LED or Nd: YAG laser activation. *Eur J Esthet Dent* 2009;4:82-9.
69. Gökay O, Müjdeci A, Algin E. In vitro peroxide penetration into the pulp chamber from newer bleachin products. *Int Endodontic J* 2005;38:516-20.
70. Gökay O, Tunçbilek M, Ertan R. Penetration of the pulp chamber by carbamide peroxide bleachin agents on teeth restored with a composite resin. *J of Oral Rehabilitation* 2000;27:428-31.
71. McEvoy SA. Chemical agents for removing intrinsic stains from vital teeth II. Current techniques and their clinical application. *Quintessence Int* 1989;20:379-84.
72. Rotstein I, Lehr Z, Gedalia I. Effect of bleaching agents on inorganic components of human dentin and cementum. *J Endod* 1992;18:290-3.
73. Matis BA. Degradation of gel in tray whitening. *Comp Cont Educ Dent* 2000;28:31-5.
74. Amengual J, Forner L, Riutord P. Análisis del blanqueamiento dental obtenido con peróxido de carbamida activado enzimáticamente. *Labor Dent* 2009;10:246-51.
75. Pedrosa R, Martins C, Andrade K, Perazzo G, Carenier de Souza L, Heliomar C. Blanqueamiento de dientes vitales – Estudio in vitro sobre la eficacia de diferentes técnicas utilizando peróxido de hidrógeno. *Act Odontol Ven* 2012;50. Disponible en: <http://www.actaodontologica.com/ediciones/2012/1/art1.asp>. [consulta: 11 Enero 2015].

76. Tavares M, Stultz J, Newman M, Smith V, Kent R. Light augments tooth whitening with peroxide. *JADA* 2003;134:167-75.
77. Albers HF. Home bleaching. *ADEPT Report* 1991;2:9.
78. Haywood VB, Drake M. Research on whitening teeth makes news. *NC Dental Review* 1990;7:9.
79. Sulieman M, Addy M, MacDonald E, Rees JS. The bleaching depth of a 35% hydrogen peroxide based in-office product: a study in vitro. *J Dent* 2005;33:33-40.
80. Chiappinelli JA, Walton RE. Tooth discolouration resulting from long-term tetracycline therapy: a case report. *Quintessence Int* 1992;23:539-41.
81. Hontanilla E. Estudio comparativo de la efectividad del blanqueamiento dental en diferentes grupos de edad. *Gaceta dental* 2014;262:140-59.
82. Dominguez MN, González LS, Menéndez NM. Study of the diffusion ways in the White spot enamel lesión. *ECOE* 2002;7(5):469-76.
83. Hegedus C, Bistey T, Flora E, Keszthelyi G, Jenei A. An atomic force microscopy study on the effect of bleaching agents on enamel surface. *J Dent* 1999;7:509-15.
84. Joiner A: Review of the effects of peroxide on enamel and dentine. *J Dent* 2007;3:889-96.
85. Zalkind M, Arwaz JR, Goldman A, Rostein I. Surface morphology changes in human enamel, dentin and cementum following bleaching: a scanning microscopy study. *Dent Traumatol* 1996;2:82-8.
86. Saleem A, Anwer A, Kaleem M, Talal A, Anwar R, Saleem T, et al. A comparative analysis of bleached and sound enamel structure through scanning electron microscopy and atomic force microscopy. *Pak Armed Forces Med J* 2015;65:371-3.
87. Carrasco L, dos Santos R, Machado J, Zanello DM, Djalma J, Fröner IC. Effect of different bleaching systems on the ultrastructure of bovine dentin. *Dent Traumatol* 2009;25:176-80.
88. Riutord P. Entrevista. *Rev Blanq Dent*, 2002-2004;1:5-10
89. Llena MC, Amengual J, Forner L. Seguridad biológica de los agentes blanqueadores dentales (IV). *Rev Asoc Univ Valenciana Blanq Dent* 2004;E1:39-42.

90. Brown P, Will R, Bradley R, Asher D, Detwiller L. Bovine Spongiform Encephalopathy and Variant Creutzfeldt-Jakob Disease: Background, Evolution, and Current Concerns. *Emerg Infect Dis* 2001;1:6-16.
91. Baltzer A, Kaufmann-Jinoian V. La determinación del color del diente. *Quintessence Int* 2004;7:726-40.
92. Madhucar Y, Srilakshmi V, Karpaga K, Lakshmi L. An evaluation of the color stability of tooth - colored restorative materials after bleaching using CIELAB color technique. *Indian J Dent Res* 2009;20:60-4.
93. Mottola HA, Simpson G. Gorin Absorptiometric determination of hydrogen peroxide in submicrogram amounts with leuco crystal violet and peroxidase as catalyst. *Anal Chem* 1970;42:410-11.
94. Beers RF, Sizes IW. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *J Biol Chem* 1952:133-40.
95. Spalding M, Taveira LA, de Assis GF. Scanning electron microscopy study of dental enamel surface exposed to 35% hydrogen peroxide: alone, with saliva, and with 10% carbamide peroxide. *J Esthet Restor Dent* 2003;15:154-65.
96. Bowles WH, Ugwuneri Z. Pulp chamber penetration by hydrogen peroxide following vital bleaching procedures. *J Endod* 1987;18:375-7.
97. Gökay O, Yilmaz F, Akin S, Tunçbilek M, Ertan R. Penetration of the pulp chamber by bleaching agents in teeth restored with various restorative materials. *J Endod* 2000;26:92-4.
98. Walsh LJ. Safety issues relating to the use of hydrogen peroxide in dentistry. *Austr Dent J* 2000;45:257-69.
99. Gökay O, Mjdecki A, Algn E. Peroxide penetration into the pulp from whitening strips. *J Endod* 2004;30:887-9.
100. Paravina, RD, Johnston WM & Powers, JM. New Shade Guide for Evaluation of Tooth Whitening—Colorimetric Study. *J Esthet Restor Dent* 2007;19:276-83.
101. Ontiveros JC & Paravina RD. Color change of vital teeth exposed to bleaching performed with and without supplementary light. *J Dent* 2009;37:840-7.

102. Gonzaga L, Soares D, Almeida F, de Oliveira M, de Souza C, dos Santos P. At-Home Bleaching: Color Alteration, Hydrogen Peroxide Diffusion and Cytotoxicity. *Braz. Dent. J* 2015;4:378-83.
103. Sarath G, Vandana J, Sampath V, Kittappa K, Sanjeev K, Sekar M. Effect of bleaching with two different concentrations of hydrogen peroxide containing sweet potato extract as an additive on human enamel: An in vitro spectrophotometric and scanning electron microscopy analysis. *J Conserv Dent* 2013;16:45-9.
104. Amengual J, Llana MC, Forner L. Reproducibilidad en la medición del color «in vitro» e «in vivo» mediante colorímetros específicos para uso dental. *RCOE* 2005;10:263-7.
105. Ming L. "Colorimetry". En: Rade D. Paravina, John M Powers, *Esthetic Color Training in Dentistry*: Ed Elsevier Mosby; 2006. p. 17-37.
106. Paul S, Peter A, Pietrobon N, Hammerle CHF. Visual and spectrophotometric shade analysis of human teeth, *J Dent Res* 2002; 81:578-82.
107. Paul SJ, Peter A, Rodoni L, Pietrobon N. Conventional visual vs spectrophotometric shade taking for porcelain-fused-to-metal crowns: A clinical comparison, *Int J Periodon Rest Dent* 2004; 24:222-31.
108. Russel MD, Gulfranz M, Moss BW. In vivo measurement of colour changes in natural teeth, *J Oral Rehabil* 2000;27:786-92.
109. Kim---Pusateri S, Brewer JD, Davis EL, Wee AG. Reliability and accuracy of four dental shade-matching devices. *J Prosthet Dent* 2009;101:193-99.
110. Sulieman M, Addy M, MacDonald E, Rees JS. A safety study in-vitro for the effects of an in-office bleaching system on the integrity of enamel and dentine. *J Dent* 2004;32:581-90.
111. Sulieman M, MacDonald E, Rees JS, Newcombe RG, Addy M. Tooth bleaching by different concentrations of carbamide peroxide and hydrogen peroxide whitening strips: a study in vitro. *J Esthet Restor Dent* 2006;93:93-101.
112. Buchalla W, Attin T. External bleaching therapy with activation by heat, light or laser: a systematic review. *Dent Mater* 2007;23:586-96.

113. Cavalli V, Arrais CAG, Giannini M, Ambrosano GMB. High-concentrated carbamide peroxide bleaching agents effects on enamel surface. *J Oral Rehabil* 2004;31:155-59.
114. Dudea D, Neamtu S, Florea A, Moldovan M, Badea M, Silagui L. The effects of a new developed formula of dental bleaching gel on the enamel surface. *Clujul Med* 2009;1:123-27.
115. Torres CRG, Souza C, Borges A, Huhtala MF, Caneppele T. Influence of Concentration and Activation on Hydrogen Peroxide Diffusion through Dental Tissues In Vitro. *ScientificWorldJournal* 2013;193241:1-5.
116. Attin A, Vollmer D, Wiegand A I. Sub surface microhardness evaluation of enamel and dentine after different external bleaching procedures. *Am J Dent* 2005;18:8-12.
117. Cimilli H, PameijerCH. Effect of carbamide peroxide bleaching agents on the physical properties and chemical composition of enamel. *Am J Dent*. 2001;14:63-6.
118. Ernst CP, Marroquin BB, Willershausen-Zönnchen B. Effects of hydrogen peroxide-containing bleaching agents on the morphology of human enamel. *Quintessence Int* 1996;27:53-6
119. Cogo F, Sibilla P, Turrini R. Blanqueamiento dental, métodos para el éxito. Barcelona: Editorial Quintessence S.L.; 2014. p. 234-5.
120. Berger SB, Coelho AS, Oliveira VA, Cavalli V, Giannini M. Enamel susceptibility to red wine staining after 35% hydrogen peroxide bleaching. *J Appl Oral Sci* 2008;16:201-4.
121. Leonard RH, Eagle JC, Garland GE, Matthers KP, Rudd AL, Phillips C. Night-guard vital bleaching and its effect on enamel surface morphology. *J Esthet Restor Dent* 2001;13:132-9.
122. Bitter NC. A scanning electron microscope study of the long-term effect of bleaching agents on the enamel surface in vivo. *Gen Dent* 1998;46:84-8:
123. Wu TT, Li LF, Du R, Jiang L, Zhu YQ. Hydrogen peroxide induces apoptosis in human dental pulp cells via caspase-9 dependent pathway. *J Endod* 2013;39;1151-5.

124. Regina C, Dias AP, Tomoko N, Zardo F, Hebling J, de Souza CA. Indirect cytotoxicity of a 35% hydrogen peroxide bleaching gel on cultured odontoblast-like cells. *Braz Dent J* 2009;20;267-74.