

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO ÁCIDO FTALIMIDOPEROXICAPROICO (PAP) NA INTEGRIDADE DO ESMALTE E DA DENTINA

Trabalho submetido por
Marine Evrard
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

junho 2025

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO ÁCIDO FTALIMIDOPEROXICAPROICO (PAP) NA INTEGRIDADE DO ESMALTE E DA DENTINA

Trabalho submetido por
Marine Evrard
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Prof.ª Doutora Alexandra Pinto

e coorientado por
Prof.ª Doutora Joana Costa

junho 2025

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, **Prof.^a Alexandra Pinto**, por ter aceitado orientar-me neste projeto, pela sua ajuda e disponibilidade no desenvolvimento deste projeto e pela sua simpatia durante os nossos encontros.

À minha coorientadora, **Prof.^a Joana Costa**, pela sua ajuda, pelo seu rigor, pela sua disponibilidade e pela partilha dos seus conhecimentos no desenvolvimento deste projeto.

Ao **Prof. António Matos**, pela sua disponibilidade e ajuda laboratorial.

Ao **Prof. Luís Proença**, pela ajuda nas análises estatísticas e pela sua disponibilidade e simpatia.

A **Egas Moniz**, School of Health and Science, por me ter permitido estudar Medicina Dentária e assim poder seguir uma carreira em que me vou desenvolver plenamente. A todo o corpo docente do MIMD, pela transmissão dos seus conhecimentos e métodos de ensino ao longo dos últimos 5 anos.

À **minha mae** e ao **meu pai**, por me terem inculcido os valores da perseverança e da excelência. Obrigada pelo vosso apoio incondicional. Sem vocês, não estaria onde estou hoje.

À **Émilie** e ao **Stéphane**, muito mais do que sogros, por estarem sempre ao meu lado, por me ouvirem e apoiarem sempre que precisei.

Aos **meus irmãos**, o meu pequeno raio de sol de 7 anos e ao meu cúmplice de 18, obrigado por estarem presentes, cada um à sua maneira, com todo o coração.

À **minha grande família mista**, cheia de vida, pelo seu amor e apoio constante. Aos meus irmãos,

Ao **Corentin**, com quem partilhei quase todos estes 5 anos, a minha cara-metade, o meu apoio diário.

À **Margot**, que me acompanhou desde o primeiro dia desta aventura, nas alegrias, nas lágrimas, no stress e nas conquistas, por estar sempre ao meu lado.

Ao **Arthur**, o meu colega de box, pela tua ajuda e paciência, aprender e crescer ao teu lado nos últimos dois anos tem sido um verdadeiro prazer.

Aos **meus amigos**, especialmente às **minhas amigas da ladies night**, por desempenharem o papel de uma família neste novo país, por todos os bons momentos passados juntos e gravados nas nossas memórias.

RESUMO

Objetivo: O objetivo deste estudo foi avaliar alterações na microdureza e na superfície do esmalte e da dentina quando sujeitos à ação de um gel à base de PAP.

Materiais e métodos: Foram utilizados 9 dentes hígidos extraídos há menos de 6 meses e recolhidos do banco de dentes da Clínica Universitária Egas Moniz. O ácido ftalimidoperoxicaiproico (PAP) (Brilliant Lumina, Coltene) foi aplicado na superfície vestibular de cada dente segundo as instruções do fabricante. Em cada dente foram efetuados quatro cortes, no sentido mésio-distal, com 2 mm de espessura, para obter uma fatia de esmalte vestibular, de dentina vestibular, de esmalte lingual e de dentina lingual, e assim formar quatro grupos de estudo (n=9): a) esmalte teste (onde foi aplicado o PAP), b) dentina teste (onde foi aplicado o PAP), c) dentina controlo, d) esmalte controlo, ou seja 18 amostras de controlo e 18 amostras de teste. Estes cortes foram realizados com um micrótopo automático. As amostras foram submetidas ao teste de microdureza de Vickers e duas de cada grupo foram observadas ao MEV. Os resultados de microdureza foram tratados estatisticamente com um teste t de *Student* para comparar os valores médios de microdureza entre os grupos experimentais e os grupos de controlo. Considerou-se um nível de significância de 5 %.

Resultados: O teste de microdureza de *Vickers* demonstrou no Grupo a) uma média de dureza significativamente inferior em comparação com o Grupo d). Não se verificou nenhuma diferença entre os grupos b) e c). Com o microscópio eletrónico de varrimento verificou-se um aumento significativo na rugosidade superficial entre os Grupos a) e d). No entanto, não foram identificadas diferenças entre os grupos b) e c).

Conclusões: A aplicação do PAP resultou numa redução significativa da microdureza do esmalte, assim como num aumento da sua rugosidade superficial. Em contraste, não foram observadas alterações na dentina. Deste modo, o PAP não pode ser considerado um agente inofensivo para o esmalte.

Palavras-chave: Branqueamento dentário; erosão dentária, microdureza; ácido ftalimidoperoxicaiproico.

ABSTRACT

Objective: The aim of this study was to evaluate changes in the microhardness and surface of enamel and dentin when subjected to the action of a PAP-based gel.

Materials and methods: 9 healthy teeth extracted less than 6 months previously and collected from the Egas Moniz University tooth bank were used. The PAP (Brilliant Lumina, Coltene) was applied to the buccal surface of each tooth following the manufacturer's instructions. For each tooth, four 2 mm thick sections were cut in the mesio-distal direction to obtain a slice of buccal enamel, buccal dentin, lingual enamel and lingual dentin from each tooth, thus forming four study groups (n=9): a) test enamel (where PAP was applied), b) test dentin enamel (where PAP was applied), c) control dentin, d) control enamel. The cuts were made using an automatic microtome. The samples were subjected to the Vickers microhardness test, and two from each group were observed under SEM (Scanning Electron Microscopy). The microhardness results were statistically analyzed using a Student's t-test to compare the mean microhardness values between the experimental groups and the control groups. It was considered a significance level of 5%.

Results: The Vickers microhardness test showed that Group a) had a significantly lower average hardness compared to Group d). No differences were observed between Groups b) and c). Scanning electron microscopy revealed a significant increase in surface roughness between Groups a) and d). However, no differences were identified between Groups b) and c).

Conclusions: The application of PAP led to a significant reduction in enamel microhardness, as well as an increase in its surface roughness. In contrast, no changes were observed in the dentin. Therefore, PAP cannot be considered a harmless agent for dental enamel.

Keywords: Dental bleaching; dental erosion; microhardness; phthalimidoperoxycaproic acid

ÍNDICE GERAL

1	Introdução	13
1.1	Características dos dentes	13
1.1.1	Esmalte	14
1.1.2	Dentina.....	15
1.2	Branqueamento	16
1.2.1	Agentes branqueadores e composição	16
1.2.1.1	Agentes branqueadores PH e PC	16
1.2.1.2	PAP	17
1.2.1.3	Composição geral	18
1.2.2	Mecanismo de ação dos agentes branqueadores.....	19
1.2.2.1	Agentes branqueadores PH e PC	19
1.2.2.2	PAP	20
1.2.3	Técnica de aplicação dos agentes branqueadores.....	22
1.2.3.1	Branqueamento em consultório	22
1.2.3.2	Branqueamento em ambulatório.....	23
1.2.3.3	Branqueamento em regime de venda livre	24
1.2.3.4	PAP	25
1.2.3.5	Legislação europeia	27
1.2.4	Efeitos secundários	27
1.2.5	Efeitos dos agentes branqueadores no esmalte e na dentina	28
1.3	Testes laboratoriais	30
1.3.1	Avaliação da microdureza	30
1.3.2	Avaliação da rugosidade de superfície	31
2	Enquadramento	33
3	Objetivos e hipóteses de estudo.....	35
3.1	Objetivos.....	35

3.2	Hipóteses de estudo	35
4	Materiais e métodos	37
4.1	Amostras	37
4.2	Materiais	37
4.3	Métodos	38
4.3.1.	Branqueamento dos dentes	38
4.3.2.	Corte dos dentes.....	39
4.3.3.	Microdureza de <i>Vickers</i>	41
4.3.4.	Observação dos grupos experimentais no MEV	42
4.3.5.	Análise estatística	44
4.4.	Fluxograma do trabalho experimental	44
5	Resultados.....	45
5.1.	Microdureza de <i>Vickers</i>	45
5.2.	MEV	46
6	Discussão.....	49
7	Conclusões	53
8	Referências bibliográficas	55
9	Anexos	61

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - A anatomia de um dente molar mandibular humano, adaptado de Lacruz et al., 2017.	14
Figura 2 - Comparação da constituição do esmalte e da dentina.	16
Figura 3 - Esquema de decomposição do peróxido de carbamida 10%.	17
Figura 4 - Mecanismo de ação do PAP nos cromogéneos, Pascolutti & de Oliveira, 2021.	21
Figura 5 - Mecanismo de Baeyer-Villiger oxidation, Pascolutti & de Oliveira, 2021..	22
Figura 6 - Esquema das etapas do processo de branqueamento com o Brilliant Lumina, presente na embalagem do produto.	26
Figura 7 - Esquema do funcionamento do microdurómetro de Vickers.	31
Figura 8 - Esquema do funcionamento do microscópio eletrónico de varrimento (MEV).	32
Figura 9 - Brilliant Lumina: gel e activador	37
Figura 10 - Procedimento do branqueamento dentário, A= Gel de PAP e ativador; B= Preparação do produto, C= Aplicação do gel branqueador no dente; D= Remoção do gel de branqueamento com algodão.	39
Figura 11 – Quatro fatias obtidas à partir de quatro cortes num dentes no sentido mesio-distal.....	40
Figura 12 – Micrótopo de tecidos duros (Accutom-50; Struers, Ballerup, Dinamarca).	40
Figura 13 - Armazenamento das amostras.	40
Figura 14 - Shimadzu HSV-30	41
Figura 15 - Indentação no esmalte.....	41
Figura 16 - Indentação na dentina	41
Figura 17 - Amostras de esmalte antes e após recobrimento com ouro	43
Figura 18 - Amostras de dentina antes e após recobrimento com ouro.....	43
Figura 19 - Microscópio eletrónico de varrimento.....	43
Figura 20 - Micrografias recolhidas do SEM com ampliação x1000 para analisar a topografia da superfície do esmalte antes (A e C) e após o branqueamento com PAP (B e D).....	47

Figura 21 - Micrografias recolhidas do SEM com ampliação x1000 para analisar a topografia da superfície da dentina antes (A e C) e após o branqueamento com PAP (B e D)..... 48

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Comparação de Géis de Branqueamento Dentário.....	18
Tabela 2 – Estatística descritiva e inferencial da microdureza (HV) do esmalte nos dois grupo experimentais a) e d).	45
Tabela 3 – Estatística descritiva e inferencial da microdureza (HV) da dentina nos dois grupo experimentais b) e c).	46

LISTA DE SIGLAS

Ca – Cálcio

PC – Peróxido de carbamida

DPP – Fosfoproteína da dentina

DP – Desvio padrão

EDX – Espetroscopia de raios X

ERO – Espécies reativas de oxigénio

HO – Anião hidroxilo

PH – Peróxido de hidrogénio

MEV – Microscopia eletrónica de varrimento

O* – Oxigénio reativo

OTC – *Over-the-counter*

F – Fósforo

PAP – Ácido ftalimidoperoxicaipróico

VHN – *Vickers Hardness Number*

1 INTRODUÇÃO

Na última década, o branqueamento dentário vital tornou-se um procedimento estético cada vez mais popular (Pascolutti & de Oliveira, 2021). Nos últimos anos, a atenção à estética dentária tem-se intensificado. No entanto, a brancura dos dentes pode ser alterada por descolorações extrínsecas e intrínsecas, tornando necessária a adoção de soluções adequadas. Consequentemente, o branqueamento dentário tornou-se uma parte essencial dos cuidados de beleza para muitos consumidores (Qin et al., 2019).

Este tratamento estético é atualmente um dos mais populares, pois é uma solução simples e minimamente invasiva para corrigir a descoloração dentária (Elfallah et al., 2015). De facto, continua a ser o tratamento mais eficaz e conservador para restaurar o brilho do sorriso (Maiya et al., 2024). O branqueamento dentário é também uma alternativa menos invasiva às facetas e coroas para mascarar a alteração de cor (Stübinger et al., 2024).

Até hoje, os principais agentes ativos nos produtos de branqueamento dentário têm sido os peróxidos, incluindo o peróxido de hidrogénio (PH) e o peróxido de carbamida (PC). No entanto, um novo composto, o ácido ftalimidoperoxicapróico (PAP), é apresentado como uma alternativa mais segura e promissora (Qin et al., 2019). Na busca por substitutos aos peróxidos convencionais, o interesse por peróxidos orgânicos, como o PAP, intensificou-se recentemente devido à sua eficácia e menor potencial de efeitos colaterais (Pascolutti & de Oliveira, 2021). Ainda mais recentemente, a investigação demonstrou que a utilização de um gel composto à base de PAP poderia ser um veículo eficaz para o branqueamento dentário, reforçando o seu apelo como uma opção inovadora e eficaz (Stübinger et al., 2024).

1.1 Características dos dentes

Um dente é uma estrutura complexa composta por vários tecidos com funções específicas, que garantem a sua resistência, sensibilidade e fixação no osso.

Os principais componentes são:

- O esmalte, formado por células epiteliais.

- A dentina, localizada sob o esmalte, produzida por células mesenquimatosas e rica em colagénio.
- A polpa dentária, que gera e nutre os odontoblastos, e contém vasos sanguíneos e nervos.
- A raiz, composta principalmente por dentina, que encerra o canal radicular e está rodeada por uma fina camada de cemento mineralizado.
- O ligamento periodontal, que liga o cemento ao osso alveolar e ajuda a fixar o dente no seu alvéolo (Figura 1). (Lacruz et al., 2017)

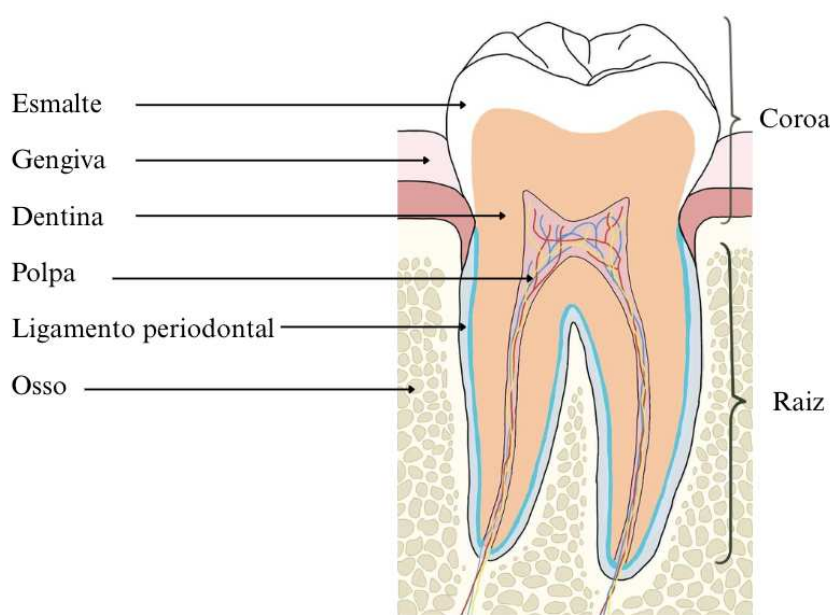


Figura 1 - A anatomia de um dente molar mandibular humano, adaptado de Lacruz et al., 2017.

O esmalte e a dentina são os principais constituintes da coroa dentária humana, formados por ameloblastos e odontoblastos, respetivamente, e diferem em função, composição e estrutura (Orilisi et al., 2021).

1.1.1 Esmalte

O esmalte dentário é o tecido mais duro e mais mineralizado do corpo humano. Desempenha um papel essencial na proteção dos dentes contra agressões mecânicas e químicas (Orilisi et al., 2021). É composto principalmente por cristais de hidroxiapatite e tem uma estrutura constituída por 95-97% de minerais, 2-4% de água e apenas 1% de matéria orgânica não colagénica (Arnold & Gaengler, 2007; De Dios Teruel et al., 2015;

Lacruz et al., 2017; Orilisi et al., 2021) (Figura 2). No esmalte, o teor de cálcio e fósforo, sob a forma de fosfato varia entre 34 e 39%, reforçando a sua resistência (De Dios Teruel et al., 2015). Ao contrário da dentina, o esmalte não contém fibras de colagénio. Os seus cristais estão organizados em prismas orientados perpendicularmente à superfície do dente, garantindo a sua resistência. A formação e mineralização do esmalte, conhecida como amelogenese, é realizada pelos ameloblastos, células especializadas que desaparecem após a erupção dentária, deixando o esmalte incapaz de se remodelar (Lacruz et al., 2017). Uma vez terminada a mineralização, apenas ocorrem processos de desmineralização e remineralização à superfície, sob o efeito do ambiente oral (Arnold & Gaengler, 2007). A interface do esmalte dentário está constantemente envolvida numa troca dinâmica com o biofilme oral, permitindo que o fosfato de cálcio e os cristais de apatite se mantenham reactivos de modo a manter um bom equilíbrio mineral. (Kwon & Wertz, 2015). Graças a esta estrutura única e ao seu elevado grau de mineralização, o esmalte protege eficazmente a dentina e a polpa contra diversas agressões externas, tanto mecânicas como químicas (Orilisi et al., 2021).

1.1.2 Dentina

A dentina, localizada sob o esmalte, é menos mineralizada do que o esmalte e tem uma estrutura composta constituída por cristais de hidroxiapatite embebidos numa matriz orgânica rica em colagénio tipo I (Orilisi et al., 2021).

A sua composição é de aproximadamente 70% de mineral, 20% de matriz orgânica e 10% de água, em peso (Figura 2) (De Dios Teruel et al., 2015). Ao contrário do esmalte, cuja mineralização se completa após a erupção do dente, a dentina é produzida continuamente ao longo da vida pelos odontoblastos, localizados na polpa dentária junto à dentina (Arnold & Gaengler, 2007). Os cristais de hidroxiapatite presentes na dentina têm uma morfologia distinta, sob a forma de placas achatadas que medem aproximadamente 60-70 nm de comprimento, 20-30 nm de largura e 3-4 nm de espessura (De Dios Teruel et al., 2015). Além disso, na dentina o teor de cálcio e fósforo (sob a forma de fosfato) situa-se entre 16 e 18%, o que a distingue do esmalte, que é muito mais mineralizado (De Dios Teruel et al., 2015).

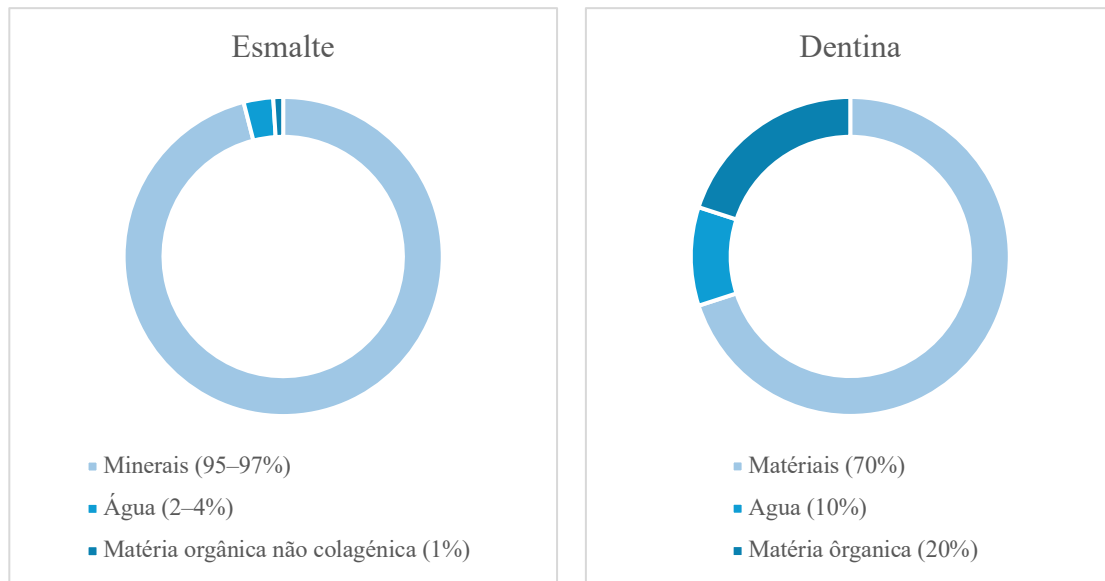


Figura 2 - Comparação da constituição do esmalte e da dentina.

1.2 Branqueamento

1.2.1 Agentes branqueadores e composição

1.2.1.1 Agentes branqueadores PH e PC

Existem duas categorias principais de agentes utilizados no branqueamento: o peróxido de hidrogénio e o peróxido de carbamida.

O peróxido de hidrogénio (H_2O_2) é um líquido incolor, ligeiramente mais viscoso do que a água, com uma massa molar de 34,01 g/mol e uma densidade ligeiramente superior à da água. É altamente solúvel e acidifica soluções aquosas. A sua estrutura química, caracterizada por uma ligação oxigénio-oxigénio e por electrões não emparelhados, torna-o um poderoso agente oxidante, extremamente reativo e capaz de alterar vários compostos orgânicos e inorgânicos. Graças ao seu baixo peso molecular, consegue penetrar na dentina e libertar moléculas de oxigénio reactivas, que quebram as ligações duplas das substâncias presentes nos túbulos dentinários. Em medicina dentária, é utilizado principalmente para o branqueamento dos dentes em concentrações que variam entre 5% e 35%. Pode ser aplicado diretamente ou obtido por decomposição do peróxido de carbamida. O seu poder oxidante permite-lhe eliminar os pigmentos responsáveis pelas manchas dentárias, mas a sua utilização deve ser controlada, pois a sua elevada reatividade pode também danificar os tecidos circundantes (Kwon & Wertz, 2015; Rodríguez-Martínez et al., 2019).

O peróxido de carbamida ($\text{CH}_6\text{N}_2\text{O}_3$) é um composto cristalino branco utilizado no branqueamento dentário, com concentrações que variam de 10% a 35% (Kwon & Wertz, 2015). Embora quimicamente estável, seu agente branqueador ativo continua sendo o peróxido de hidrogênio (Rodríguez-Martínez et al., 2019). Quando uma solução de peróxido de carbamida a 10% se decompõe, liberta 3,35% de peróxido de hidrogênio e 6,65% de ureia (Haywood & Sword, 2017; Kwon & Wertz, 2015; Rodríguez-Martínez et al., 2019). A ureia degrada-se em amoníaco e água (Figura 3). Os produtos à base de peróxido de carbamida contêm geralmente uma base de carbopol ou de glicerina: o carbopol, em particular, retarda a libertação do peróxido de hidrogênio, prolongando a sua ação (Kwon & Wertz, 2015).

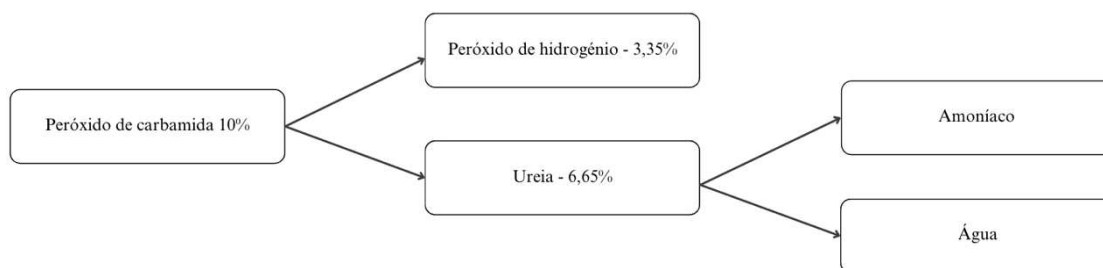


Figura 3 - Esquema de decomposição do peróxido de carbamida 10%.

1.2.1.2 PAP

O ácido ftalimidoperoxicapróico (PAP), fórmula química $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{NO}_5$, é um peróxido orgânico inicialmente utilizado em processos de branqueamento industrial. Mais recentemente, foi introduzido na medicina dentária como agente de branqueamento (Maiya et al., 2024).

O PAP caracteriza-se pela sua baixa toxicidade e elevada biodegradabilidade (Khan et al., 2024; Pascolutti & de Oliveira, 2021).

O presente estudo centra-se sobre um gel de branqueamento dentário à base de PAP, o BRILLIANT Lumina, desenvolvido pelo laboratório Coltene.

Segundo o fabricante, este dispositivo é constituído por um gel cuja formulação inclui as seguintes substâncias: Água, ácido ftalimidoperoxicapróico, glicerina, goma

xantana, citrato monossódico, copolímero PVM/MA, hidróxido de sódio e C12-15 Pareth-3.

Este gel é combinado com uma solução ativadora constituída por água e hidróxido de sódio.

1.2.1.3 Composição geral

Os agentes de branqueamento dentário actuais contêm ingredientes activos e inactivos. Os ingredientes activos incluem o peróxido de hidrogénio ou o peróxido de carbamida, enquanto os ingredientes inactivos desempenham um papel essencial na estabilidade e eficácia do produto. Estes incluem:

- Agentes espessantes, como o Carbopol, que aumentam a viscosidade dos materiais de branqueamento, permitindo uma melhor retenção do gel na moldeira. Também prolongam a libertação de oxigénio ativo até quatro vezes.
- Agentes de transporte, como a glicerina ou o propilenoglicol, que mantêm o gel húmido e facilitam a dissolução dos outros ingredientes.
- Surfactantes, que actuam como agentes molhantes, ajudando o ingrediente ativo de branqueamento a espalhar-se uniformemente.
- Dispersantes de pigmentos, que evitam que os pigmentos se depositem e asseguram uma distribuição uniforme do produto.
- Conservantes, como o metilparabeno, o propilparabeno e o benzoato de sódio, que impedem a proliferação bacteriana e aceleram a decomposição do peróxido de hidrogénio, libertando metais de transição como o ferro, o cobre e o magnésio.
- Aromas, que melhoram o sabor e a aceitabilidade do produto (Tabela 1) (Alqahtani, 2014).

Tabela 1 - Comparação de Géis de Branqueamento Dentário

Função	Produto Clássico (Peróxido)	Produto com PAP (sem peróxido)
Agente branqueador	Peróxido de hidrogénio ou de carbamida – potente, mas pode causar irritações	Ácido ftalimidoperoxicaiproico (PAP) – eficaz e mais suave, sem peróxido

Espessante	Carbopol – dá viscosidade e prolonga a libertação de oxigénio ativo	Goma xantana – proporciona boa textura e aderência
Humectante / Veículo	Glicerina, propilenoglicol – mantém o gel húmido e facilita a dissolução	Glicerina – mantém a humidade e a estabilidade do gel
Tensioativo	Surfactantes (não especificados) – ajudam a espalhar o produto uniformemente	C12-15 Pareth-3 – tensioativo suave que garante boa dispersão
Formador de filme / Estabilizante	Dispersantes de pigmentos – evitam depósitos e melhoram a distribuição	Copolímero PVM/MA – forma um filme e melhora a adesão e cobertura
Regulador de pH	Tampões diversos – mantêm o pH ideal para segurança e eficácia	Hidróxido de sódio, Citrato monossódico – ajustam o pH para ativar o PAP
Conservantes	Metilparabeno, propilparabeno, benzoato de sódio – evitam contaminação microbiana	Nenhum mencionado – fórmula curta, geralmente para uso imediato
Aromas	Sim – melhoram o sabor e a experiência do utilizador	Não mencionado

1.2.2 Mecanismo de ação dos agentes branqueadores

1.2.2.1 Agentes branqueadores PH e PC

O branqueamento dentário com peróxido de carbamida e peróxido de hidrogénio baseia-se num mecanismo de oxidação do cromogénio (Coceska et al., 2016; Jiang et al., 2018).

O peróxido de carbamida ($\text{CH}_6\text{N}_2\text{O}_3$) é um complexo estável que se decompõe em contacto com a água em peróxido de hidrogénio (H_2O_2) e ureia ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$) (Aragão et al., 2024; Li et al., 2024; Rodríguez-Martínez et al., 2019). Esta decomposição do peróxido

de carbamida é lenta, permitindo uma libertação gradual do agente branqueador ativo, o peróxido de hidrogénio, garantindo um efeito prolongado (Alkahtani et al., 2020; Kwon & Wertz, 2015; Li et al., 2024).

O peróxido de hidrogénio, quer derivado da decomposição do peróxido de carbamida, quer aplicado diretamente, é um composto instável, atuando como um poderoso agente oxidante que se degrada em água e espécies reativas de oxigénio (ERO) (Alkahtani et al., 2020; Aragão et al., 2024; Jiang et al., 2018), como o anião hidroxilo (OH-) e o oxigénio reativo (O*) (Aragão et al., 2024). Estes ERO, em particular os radicais livres, são altamente reativos devido à presença de um eletrão não emparelhado (Pascolutti & de Oliveira, 2021). Para obter estabilidade, atacam os sistemas conjugados dos compostos orgânicos insaturados. Estas moléculas reativas penetram no esmalte e na dentina e reagem com os cromogéneos, grandes compostos orgânicos com ligações duplas conjugadas responsáveis pela coloração dos dentes (Avicenna et al., 2022; Carey, 2014; Coceska et al., 2016; de Mendonça et al., 2024; Epple et al., 2019; Jiang et al., 2018; Li et al., 2024; Rodríguez-Martínez et al., 2019). A oxidação pelo peróxido de hidrogénio quebra estas ligações duplas, transformando/fragmentando os cromogéneos em moléculas mais pequenas e menos complexas (Alkahtani et al., 2020; Jiang et al., 2018; Kwon & Wertz, 2015; Li et al., 2024). Os produtos desta reação de oxidação, mais polares e de menor peso molecular, são então eliminados do tecido dentário. O espectro de absorção dos cromóforos é modificado, deslocando-se para comprimentos de onda mais curtos. Estes processos contribuem para aclarar a cor dos dentes (Aragão et al., 2024; Carey, 2014; Coceska et al., 2016; Jiang et al., 2018).

1.2.2.2 PAP

O branqueamento dentário à base de ácido ftalimidoperoxicaiproico (PAP) baseia-se em mecanismos de oxidação para desintegrar os cromogéneos presentes no esmalte dentário (Pascolutti & de Oliveira, 2021; Stübinger et al., 2024). Ao contrário dos agentes à base de peróxido de hidrogénio (PH) ou peróxido de carbamida (PC), que geram radicais livres, o PAP atua através de vias de reação específicas que evitam essa produção (Maiya et al., 2024; Pascolutti & de Oliveira, 2021; Stübinger et al., 2024).

Um aspeto fundamental do funcionamento do PAP é, portanto, o facto de atuar por reações de oxidação direta e, portanto, sem a formação de espécies de radicais livres, reduzindo assim os efeitos indesejáveis associados (Bizhang et al., 2017; Pascolutti & de Oliveira, 2021; Qin et al., 2019; Stübinger et al., 2024).

O principal mecanismo de ação do PAP sobre os cromogéneos envolve a epoxidação de moléculas orgânicas com ligações duplas conjugadas (Maiya et al., 2024; Pascolutti & de Oliveira, 2021). Esta reação química envolve a adição de um átomo de oxigénio através da ligação dupla, formando um anel de três átomos chamado epóxido. Ao modificar a estrutura eletrónica do cromogéneo, esta epoxidação perturba o seu sistema de ligações duplas conjugadas, responsável pela absorção da luz e, portanto, pela sua cor (Pascolutti & de Oliveira, 2021) (Figura 4).

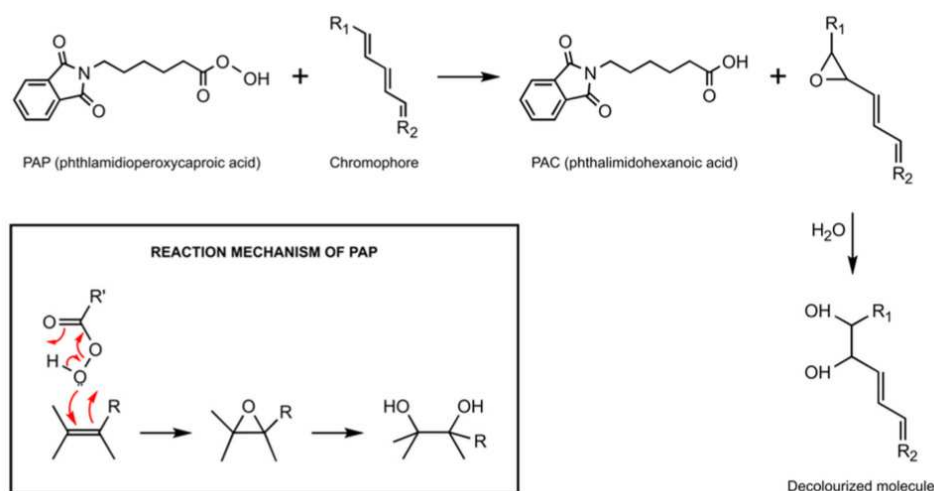


Figura 4 - Mecanismo de ação do PAP nos cromogéneos, Pascolutti & de Oliveira, 2021.

A PAP pode igualmente participar numa reação de oxidação Baeyer-Villiger, nomeadamente com as cetonas presentes em certos cromogéneos. Esta reação consiste na inserção de um átomo de oxigénio entre o grupo carbonilo ($C=O$) da cetona e um dos grupos alquilo adjacentes, formando um éster. Esta transformação química modifica

igualmente a estrutura do cromógeno e contribui para a sua descoloração (Pascolutti & de Oliveira, 2021) (Figura 5).

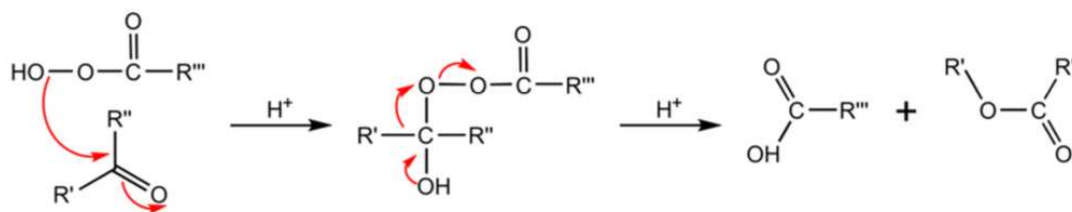


Figura 5 - Mecanismo de Baeyer-Villiger oxidation, Pascolutti & de Oliveira, 2021.

O PAP também desempenha um papel na descoloração dos polifenóis. Os polifenóis estão presentes em bebidas como o chá e o vinho tinto e são responsáveis por manchas extrínsecas. São um alvo para os peroxiácidos como o PAP. O PAP pode oxidar estes polifenóis em quinonas, que podem depois sofrer outras reações de rearranjo, ajudando a remover estas manchas persistentes (Pascolutti & de Oliveira, 2021).

1.2.3 Técnica de aplicação dos agentes branqueadores

1.2.3.1 Branqueamento em consultório

Os sistemas de branqueamento em consultório, praticados por profissionais de saúde dentária, representam o método de branqueamento mais antigo, com mais de 125 anos de existência (Haywood & Sword, 2017). Esta técnica oferece a vantagem de um controlo total por parte do médico dentista durante todo o procedimento, que pode ser interrompido assim que se obtenha a tonalidade desejada. Caracteriza-se pela utilização de agentes oxidantes de alta concentração, como o peróxido de hidrogénio, aplicados em períodos relativamente curtos, que variam entre 20 e 60 minutos. Dependendo da concentração e dos produtos utilizados, os pormenores do procedimento podem variar. O gel branqueador é aplicado nos dentes depois de os tecidos moles terem sido protegidos. Também são utilizados afastadores orais e óculos de proteção. (Alqahtani, 2014; Haywood & Sword, 2017; Kina et al., 2015; Rodríguez-Martínez et al., 2019).

Em alguns casos, é necessária uma fase de ativação por calor ou luz (Rodríguez-Martínez et al., 2019), embora estudos tenham demonstrado que a ativação por luz não melhora os resultados do branqueamento em consultório (Alqahtani, 2014; Rodríguez-Martínez et al., 2019).

Uma das vantagens deste tratamento é que os resultados são visíveis desde a primeira sessão, mesmo que sejam necessárias várias aplicações para um branqueamento ótimo. Tem também a vantagem de não exigir a utilização de moldeiras, que são muitas vezes desagradáveis para o paciente. Além disso, não é necessário qualquer envolvimento ativo por parte do paciente. O paciente só é envolvido no procedimento para informar o profissional de qualquer dor ou sensação de ardor (Haywood & Sword, 2017; Kina et al., 2015; Rodríguez-Martínez et al., 2019).

No entanto, o branqueamento em consultório também tem uma série de desvantagens, incluindo o seu elevado custo, a duração prolongada das consultas e os riscos associados às concentrações mais elevadas de ingrediente ativo. A técnica também pode levar a efeitos indesejáveis, como a hipersensibilidade dentária, devido à propagação do peróxido de hidrogénio através dos túbulos dentinários, atingindo a polpa dentária e causando dor de intensidade variável. O carácter imprevisível dos resultados, bem como o risco de queimaduras nos tecidos, tornam este método menos popular do que outras alternativas. Por outro lado, a cor obtida pode regredir mais rapidamente a longo prazo, o que justifica muitas vezes a combinação desta técnica com sistemas de branqueamento caseiro para obter resultados duradouros (Haywood & Sword, 2017; Kina et al., 2015; Rodríguez-Martínez et al., 2019).

1.2.3.2 Branqueamento em ambulatório

O sistema de branqueamento supervisionado profissionalmente consiste em moldeiras de branqueamento dentário para serem utilizadas em casa sob a supervisão do médico dentista (Rodríguez-Martínez et al., 2019). Embora o tratamento seja efetuado pelo próprio paciente, requer um acompanhamento regular durante as consultas de seguimento (Greenwall-Cohen & Greenwall, 2019). Esta técnica, que existe há várias décadas, é um dos métodos de branqueamento mais utilizados.

Durante a primeira consulta, o dentista efetua um primeiro exame e tira impressões para fazer moldeiras de plástico personalizadas, adaptadas à forma dos dentes do paciente (Kina et al., 2015). Estas moldeiras contêm o gel de branqueamento, que entra em contacto direto com os dentes. O branqueamento com moldeiras foi introduzido em 1989, utilizando peróxido de carbamida a 10% aplicado durante a noite. Técnicas posteriores

incorporaram o uso de peróxido de hidrogénio para aplicações diurnas (Haywood & Sword, 2017).

As concentrações de agentes oxidantes utilizadas neste método são inferiores às dos tratamentos efetuados em consultório. O peróxido de carbamida é particularmente adequado para aplicações noturnas devido à sua estabilidade (Rodríguez-Martínez et al., 2019). Regra geral, as instruções do produto recomendam uma aplicação noturna (Rodríguez-Martínez et al., 2019). O gel branqueador é aplicado na moldeira personalizada que o paciente usa durante a noite, normalmente durante pelo menos 2 semanas. A investigação demonstrou que o resultado ótimo do branqueamento é alcançado após 6 semanas, independentemente da concentração ou do tipo de peróxido utilizado (Rodríguez-Martínez et al., 2019).

Este método oferece várias vantagens: uma redução do tempo passado no consultório, uma baixa incidência de efeitos secundários e um custo relativamente baixo (Alqahtani, 2014). No entanto, apresenta também alguns inconvenientes.

De facto, o branqueamento caseiro requer várias etapas para garantir o seu sucesso (Rodríguez-Martínez et al., 2019), incluindo o fabrico preciso de moldeiras e a aplicação correta do gel. É essencial que o paciente seja corretamente instruído sobre como aplicar o gel e como remover o excesso (Rodríguez-Martínez et al., 2019). É necessário um envolvimento ativo do paciente para obter resultados óptimos (Haywood & Sword, 2017). Se o paciente se esquecer de usar as moldeiras todos os dias, os resultados podem ser menos satisfatórios. Por outro lado, o uso excessivo pode levar a sensibilidades térmicas.

O branqueamento caseiro depende, portanto, da cooperação do paciente, e a adesão, seja durante o dia ou à noite, continua a ser um grande desafio para muitos pacientes (Alqahtani, 2014).

1.2.3.3 Branqueamento em regime de venda livre

Os produtos de branqueamento de venda livre (OTC) têm-se tornado cada vez mais populares nos últimos anos (Alqahtani, 2014). Os sistemas OTC podem ser comprados sem a supervisão de um dentista (Rodríguez-Martínez et al., 2019). Estes produtos são vendidos diretamente aos consumidores, sem a necessidade de um exame dentário prévio ou diagnóstico da causa da descoloração dos dentes.

Os sistemas de branqueamento de venda livre apresentam-se numa grande variedade de formatos, incluindo pastas dentífricas, géis, elixires e tiras de branqueamento. Existem também vernizes, moldeiras pré-fabricadas, pastilhas elásticas e escovas de dentes especiais. Estes produtos estão facilmente disponíveis e são distribuídos em farmácias, supermercados e plataformas de venda online (Alqahtani, 2014; Caldas et al., 2015; Rodríguez-Martínez et al., 2019).

Os produtos OTC caracterizam-se por concentrações mais baixas de agentes branqueadores e tempos de contacto e exposição mais curtos, o que limita o seu potencial de branqueamento em comparação com os produtos prescritos por profissionais ou os tratamentos em consultório. Consequentemente, estes produtos têm de ser utilizados durante um período de tempo mais longo para obter resultados satisfatórios (Rodríguez-Martínez et al., 2019). Produzem assim resultados menos eficazes do que os obtidos com tratamentos profissionais supervisionados por um médico dentista (Caldas et al., 2015). Outra grande desvantagem dos sistemas OTC é a sua utilização sem diagnóstico prévio, o que pode levar a uma utilização inadequada. Uma vez que estão disponíveis sem receita médica, a sua utilização pode não ser adaptada à causa específica da descoloração dentária, podendo assim apresentar riscos para a saúde dentária. Por conseguinte, podem surgir dúvidas quanto à segurança destes agentes branqueadores (Alqahtani, 2014; Caldas et al., 2015; Rodríguez-Martínez et al., 2019).

Os produtos OTC são eficazes na manutenção de dentes já brancos e representam uma boa opção para os pacientes que não podem usar sistemas de branqueamento em consultório. Na maioria dos casos, uma combinação de diferentes sistemas de branqueamento oferece os melhores resultados. Por exemplo, os produtos de branqueamento em consultório podem ser um excelente complemento aos tratamentos caseiros (Rodríguez-Martínez et al., 2019).

1.2.3.4 PAP

O método de branqueamento PAP Brilliant Lumina da Coltene baseia-se na técnica de branqueamento profissional em consultório.

De acordo com o fabricante, são estas as etapas do branqueamento:

Antes do branqueamento, deve ser efectuada uma limpeza dentária profissional (remoção completa do biofilme).

Antes de começar, a boca deve ser preparada. É necessário inserir retratores, estabelecer um isolamento relativo com rolos de algodão colocados entre os lábios e os dentes e secar a superfície dos dentes e das gengivas com uma seringa de três vias.

1. Efetuar o isolamento total com uma barreira líquida, de acordo com as instruções do fabricante;

Um tratamento consiste em 4 sessões de aplicação de 15 minutos cada:

2. Adicionar 3 gotas do ativador a um recipiente de gel;
3. Misturar com uma espátula durante um minuto para obter uma consistência uniforme;
4. Utilizar a espátula para aplicar o gel nos dentes;
5. Deixar atuar durante 15 minutos;
6. Aspirar o gel dos dentes. Remover os resíduos de gel com um rolo de algodão. Não utilizar água;
7. Uma vez concluídas as 4 sessões, enxaguar a boca com água durante um minuto;
8. Remover o isolamento gengival (Figura 6).

É possível que um paciente faça várias aplicações de branqueamento com BRILLIANT Lumina, desde que haja um intervalo de 14 dias entre cada sessão.



Figura 6 - Esquema das etapas do processo de branqueamento com o Brilliant Lumina, presente na embalagem do produto.

1.2.3.5 Legislação europeia

A regulamentação dos produtos de branqueamento dentário para usos em dentisteria na União Europeia baseia-se principalmente no Regulamento (CE) nº 1223/2009. Este regulamento estabelece restrições específicas para produtos que contenham peróxido de hidrogénio ou compostos que libertem este, como o peróxido de carbamida.

Assim, produtos com menos de 0,1% de peróxido de hidrogénio podem ser comercializados livremente para o público em geral.

No entanto, os produtos destinados ao branqueamento dentário que contenham entre 0,1% e 6% de peróxido de hidrogénio só podem ser utilizados sob supervisão direta de um dentista e apenas por pessoas com idade mínima de 18 anos.

Já aqueles com concentrações superiores a 6% são considerados inseguros para uso cosmético e, por isso, a sua comercialização livre é proibida (União Europeia, 2009).

1.2.4 Efeitos secundários

O branqueamento dentário externo está associado a uma série de efeitos secundários, cuja frequência e gravidade dependem do ingrediente ativo utilizado e da sua concentração, particularmente quando são utilizados agentes oxidantes como o peróxido de hidrogénio e o peróxido de carbamida (AlOtaibi, 2019). O efeito adverso mais frequentemente relatado é a hipersensibilidade dentária (Alkahtani et al., 2020; AlOtaibi, 2019; Rodríguez-Martínez et al., 2019), cuja causa é multifatorial e envolve a penetração de radicais livres através do esmalte e da dentina até à polpa (V Tamara, 2015). Isto leva a uma resposta inflamatória através da libertação de mediadores bioquímicos como a histamina e as prostaglandinas (Aragão et al., 2024). Além disso, a utilização de concentrações elevadas de peróxido de hidrogénio, como durante o branqueamento em consultório, pode levar à irritação dos tecidos moles, manifestada por ardor ou desconforto gengival (AlOtaibi, 2019). A gravidade destas irritações pode variar desde um simples eritema até queimaduras e é geralmente proporcional à concentração do agente e à duração da aplicação (Haywood & Sword, 2017).

No que respeita aos tecidos duros, os agentes branqueadores podem induzir alterações morfológicas na superfície do esmalte, tais como um aumento da rugosidade e da porosidade (AlOtaibi, 2019; Aragão et al., 2024; Li et al., 2024), bem como uma diminuição da microdureza (Aragão et al., 2024; Maiya et al., 2024), tornando o esmalte

mais suscetível à desmineralização e à abrasão (Alkahtani et al., 2020). Estas alterações são influenciadas pelo pH do agente branqueador, sendo que soluções mais ácidas tendem a intensificar estas consequências (Alkahtani et al., 2020; Aragão et al., 2024; Li et al., 2024).

No entanto, é importante mencionar que, até à data, não foram reportados efeitos adversos a longo prazo associados ao uso de agentes de branqueamento quando utilizados de acordo com as diretrizes e regulamentações. Os efeitos secundários, como a sensibilidade dentária, são geralmente transitórios e tendem a desaparecer poucos dias após o término do tratamento. Os produtos à base de peróxido de carbamida (PC) e de peróxido de hidrogénio (PH) podem, portanto, ser utilizados de forma segura, desde que aplicados corretamente e com as concentrações regulamentares (Alkahtani et al., 2020; Carey, 2014; Nathanson, 1997).

1.2.5 Efeitos dos agentes branqueadores no esmalte e na dentina

Para além da sua influência nos cromóforos, o peróxido de hidrogénio pode ter interações significativas com outros constituintes dos tecidos dentários, como o esmalte e a dentina. De facto, estudos *in vitro* destacaram a capacidade do peróxido de atravessar tanto o esmalte como a dentina, atingindo potencialmente a câmara pulpar (V Tamara, 2015).

Quando aplicado no esmalte dentário, o peróxido de hidrogénio (PH), o principal componente dos agentes branqueadores, produz radicais livres que reagem com compostos orgânicos pigmentados presentes nos dentes (conhecidos como cromogéneos), resultando num clareamento da cor do dente (Khan et al., 2024).

Idealmente, o efeito oxidante do peróxido de hidrogénio deveria ser especificamente dirigido aos cromóforos orgânicos durante todo o procedimento de branqueamento dentário. No entanto, para além da oxidação dos compostos orgânicos, o peróxido de hidrogénio interage significativamente com os constituintes inorgânicos do esmalte e da dentina (Aragão et al., 2024; Kwon & Wertz, 2015). Mudanças na fase mineral levam a alterações morfológicas que podem ser observadas na superfície do dente (Coceska et al., 2016; Khan et al., 2024).

Vários estudos indicaram que o uso de peróxido para o branqueamento dentário leva a alterações na morfologia da superfície dentária, sugerindo que o branqueamento dentário poderia ser considerado um processo erosivo. Essas mudanças foram manifestadas por alterações mecânicas e morfológicas, incluindo aumento da porosidade da superfície, formação de depressões e crateras, degradação da matriz orgânica, diminuição das concentrações de cálcio e fosfato e diminuição na microdureza da superfície. Foi observada uma correlação positiva entre a duração da aplicação do produto branqueador e a extensão das alterações na superfície do esmalte (Coceska et al., 2016; de Mendonça et al., 2024; Maiya et al., 2024). Estas lesões que afetam as estruturas dentárias também têm um impacto nas características óticas dos tecidos duros dentários (Khan et al., 2024).

Na dentina, é possível observar uma difusão do peróxido de hidrogénio através dos túbulos dentinários (Aragão et al., 2024). Um estudo observou uma redução na concentração de cálcio (Ca) e fósforo (P) no esmalte e na dentina após o tratamento com PC e PH, no entanto, não foi observada diferença significativa (Llena et al., 2018). O peróxido de hidrogénio também pode interagir com as fosfoproteínas da dentina, em particular através da oxidação do anel de benzeno dos aminoácidos aromáticos contidos na fosfoproteína da dentina (DPP) (Carey, 2014; Jiang et al., 2018). A oxidação da DPP pode ser responsável pela diminuição das características mecânicas do dente após o processo de branqueamento (Jiang et al., 2018). Além disso, a propagação do peróxido de hidrogénio através dos túbulos dentinários poderia desencadear uma resposta inflamatória nos tecidos periodontais (Aragão et al., 2024) e potencialmente alterar a estrutura da dentina, tornando-a imunologicamente diferente e, portanto, suscetível de ser lesada (Aragão et al., 2024).

Uma vez que estes efeitos indesejáveis foram demonstrados em estudos de branqueamento à base de PH, o nosso estudo tem como objetivo investigar as alterações morfológicas e as alterações das propriedades mecânicas do esmalte e da dentina após o branqueamento dentário à base de PAP, nomeadamente através de testes de microdureza e de microscopia eletrónica de varrimento.

1.3 Testes laboratoriais

1.3.1 Avaliação da microdureza

A microdureza é o parâmetro mais importante para a detecção de alterações nas características mecânicas dos tecidos mineralizados (Serbanoiu et al., 2024).

A microdureza do esmalte e da dentina depende estreitamente da sua composição, em particular do seu conteúdo em matéria mineral e orgânica. O esmalte, considerado o tecido mais duro do corpo humano, é constituído principalmente por cristais de hidroxiapatite. Esta elevada mineralização confere-lhe uma elevada microdureza. Vários estudos demonstraram que o rácio cálcio/fosfato desempenha um papel fundamental nesta dureza: quanto maior a mineralização, maior a microdureza (Akkus et al., 2017).

A dentina, por outro lado, é menos mineralizada e contém mais matéria orgânica, em particular colagénio tipo I. Esta composição confere-lhe propriedades viscoelásticas e explica o facto de a sua microdureza ser inferior à do esmalte. A sua matriz orgânica, que inclui proteínas e glicoproteínas, desempenha um papel essencial no seu comportamento mecânico, influenciando tanto a sua dureza como a sua capacidade de se deformar.

Em suma, a microdureza do esmalte e da dentina é o resultado de uma interação complexa entre a sua composição mineral e orgânica, a sua organização estrutural e factores externos como a idade (Khositphanthawong et al., n.d.; Klaric et al., 2015; Lee et al., n.d.).

A avaliação tradicional da microdureza na ciência dentária é efectuada utilizando os testes de dureza Vickers ou Knoop. O indentador Knoop permite a detecção de deformações até 20 µm de comprimento, enquanto o indentador Vickers permite a medição de áreas tão pequenas como 5 µm de diâmetro, indicando uma maior sensibilidade do indentador Vickers a deformações plásticas (Serbanoiu et al., 2024).

Além disso, o teste de Vickers é mais apropriado para comparar variações nas propriedades mecânicas de um material anisotrópico, como o esmalte dentário, devido ao uso de uma impressão quadrada simétrica (Monjaras-Avila et al., 2017).

A microdureza Vickers é um método usado para medir a dureza dos materiais, incluindo tecidos dentários, como esmalte e dentina. É expressa em *Vickers Hardness Number* (VHN) e baseia-se na utilização de um indentador em forma de pirâmide de diamante com uma base quadrada, com um ângulo de 136° entre as suas faces opostas

(Figura 7). Este indentador é aplicado na superfície do material com uma carga pré-definida durante um determinado tempo, e a dureza é calculada em função do tamanho das diagonais da impressão deixada, de acordo com a fórmula

$$\text{VHN} = 0.0018544 \times F/d^2,$$

em que F é a carga aplicada em grama força (gf) e d é a média das diagonais medidas em milímetros (mm) (Eva Filija & Ivan Šalinović, n.d.; Khositphanthawong et al., n.d.; Klaric et al., 2015).

Esta técnica é particularmente útil para o estudo do esmalte e da dentina, uma vez que permite avaliar as propriedades mecânicas a uma escala microscópica, incluindo a sua resistência à indentação (Khositphanthawong et al., n.d.; Klaric et al., 2015). Este método é não-destrutivo e oferece alta precisão (Eva Filija & Ivan Šalinović, n.d.).

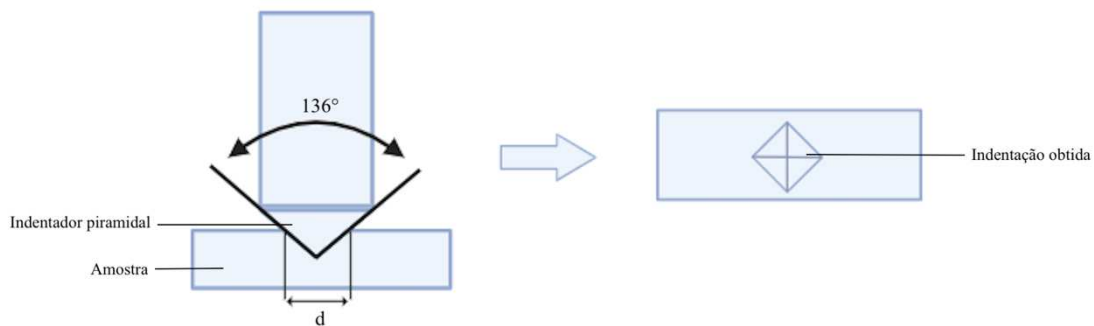


Figura 7 - Esquema do funcionamento do microdurômetro de *Vickers*.

1.3.2 Avaliação da rugosidade de superfície

A microscopia eletrônica de varrimento (MEV) é uma técnica de imagem poderosa que fornece imagens detalhadas da morfologia, estrutura e composição da superfície dos materiais. O princípio fundamental da MEV consiste em dirigir um feixe de elétrons de alta energia para a superfície da amostra. As interações entre os elétrons e os átomos da amostra geram vários sinais, como os elétrons secundários e os elétrons retro difundidos. Estes sinais são utilizados para formar uma imagem e analisar o contraste dos materiais (Sun et al., 2024).

O feixe de eletrões é geralmente focado num ponto fino, que é varrido numa matriz através da amostra, permitindo a obtenção de imagens de alta resolução com uma profundidade de campo muito superior à dos microscópios óticos (Bazin et al., 2021). Para amostras não condutoras, é aplicado um revestimento condutor para evitar a acumulação de carga (Sun et al., 2024).

A interação do feixe de eletrões com a amostra pode ser elástica ou não elástica, resultando esta última, frequentemente, na ionização dos átomos da amostra e na emissão de raios X, que podem ser detetados para análise elementar utilizando a espectroscopia de raios X por dispersão de energia (EDX) (Bazin et al., 2021).

A microscopia eletrónica de varrimento (MEV) é particularmente adequada para estudar a superfície do esmalte e da dentina devido à sua capacidade de produzir imagens de alta resolução que revelam as caraterísticas estruturais e morfológicas detalhadas destes tecidos dentários duros. A MEV permite a visualização de caraterísticas microestruturais do esmalte, tais como prismas, fusos, tufos e lamelas de esmalte, bem como túbulos de dentina e a rede de colagénio que contém cristais de hidroxiapatite, proporcionando uma visão abrangente da sua arquitetura complexa (Karteva et al., 2019).

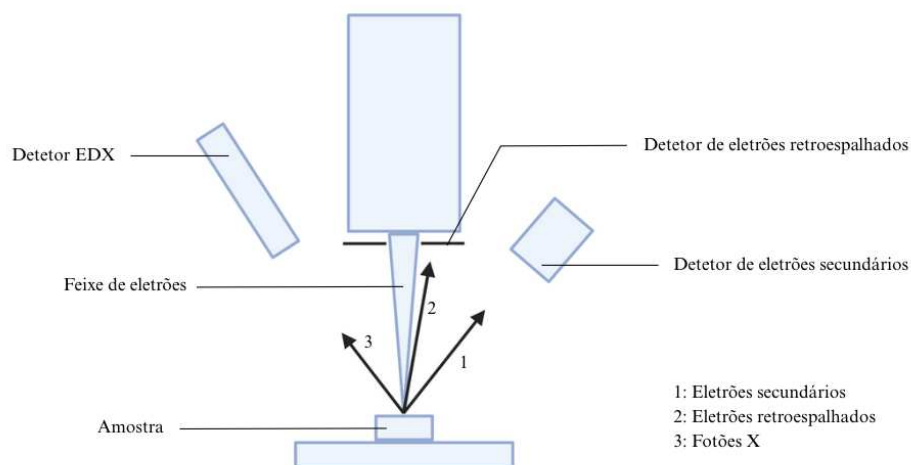


Figura 8 - Esquema do funcionamento do microscópio eletrónico de varrimento (MEV).

2 ENQUADRAMENTO

Ao longo dos anos, a aparência do sorriso tornou-se um importante critério estético. O branqueamento dentário, um procedimento destinado a clarear a cor dos dentes e devolver brilho ao sorriso, é atualmente um dos tratamentos estéticos mais procurados (Pascolutti & de Oliveira, 2021; Qin et al., 2019).

Os agentes branqueadores mais comuns são o PH e o PC. Embora eficazes, estas substâncias podem provocar efeitos adversos temporários, como hipersensibilidade dentária e irritações gengivais. Para além disso, existem potenciais riscos a longo prazo, como alteração nas propriedades mecânicas do esmalte e da dentina (Alkahtani et al., 2020; Cokeska et al., 2016; Rodríguez-Martínez et al., 2019). Estas limitações têm incentivado a procura de alternativas mais seguras e menos agressivas para os tecidos dentários. É neste contexto que surge o PAP, uma molécula recentemente introduzida em alguns produtos de branqueamento dentário. Ao contrário dos peróxidos, o PAP atua sem a libertação de radicais livres, o que poderá reduzir os riscos de sensibilidade dentária e de alterações nos tecidos dentários (Pascolutti & de Oliveira, 2021; Qin et al., 2019). Apesar do PAP já se encontrar presente em alguns produtos disponíveis no mercado, os dados científicos sobre a sua eficácia e segurança ainda são escassos. Por esta razão, é fundamental aprofundar a investigação nesta área, de modo a compreender melhor o mecanismo de ação do PAP, bem como, os seus efeitos a longo prazo e a sua compatibilidade com os tecidos dentários. Este trabalho de investigação enquadra-se numa perspetiva de validação científica de alternativas de branqueamento mais seguras, eficazes e menos invasivas, contribuindo para uma prática clínica baseada na evidência.

3 OBJETIVOS E HIPÓTESES DE ESTUDO

3.1 Objetivos

Os objetivos deste estudo *in vitro* assentam em:

- Avaliar a microdureza no esmalte e na dentina, através de um ensaio de microdureza de *Vickers*, quando aplicado um gel branqueador à base de PAP;
- Observar alterações na topografia superficial do esmalte e da dentina através de MEV.

3.2 Hipóteses de estudo

Para responder ao primeiro objetivo, foram formuladas quatro hipóteses, duas hipóteses nulas e duas hipóteses alternativas:

H0 - Hipóteses nulas:

H0.1 - A aplicação de um gel branqueador à base de PAP não influencia a microdureza nem a rugosidade de superfície do esmalte.

H0.2 - A aplicação de um gel branqueador à base de PAP não influencia a microdureza nem a rugosidade de superfície da dentina.

H1 - Hipóteses alternativas:

H1.1 - A aplicação de um gel branqueador à base de PAP influencia a microdureza e a rugosidade de superfície do esmalte.

H1.2 - A aplicação de um gel branqueador à base de PAP influencia a microdureza e a rugosidade de superfície da dentina.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Amostras

Após aprovação da Comissão de Ética da Egas Moniz (anexo 1), procedeu-se à recolha de dentes no banco de dentes da Clínica Universitária Egas Moniz. Para a realização deste trabalho, foram selecionados 10 dentes hígidos previamente extraídos. Após a extração, procedeu-se à remoção de restos orgânicos através de curetagem com curetas. Posteriormente os dentes foram imersos numa solução de cloramina T tri-hidratada a 0,5 % durante uma semana segundo a Norma ISO/TS 11405: 2015 (E) . Após este período os dentes foram armazenados em saliva artificial até ao início do procedimento laboratorial.

4.2 Materiais

O agente branqueador à base de PAP selecionado para este estudo foi o BRILLIANT Lumina, desenvolvido pelos laboratórios Coltene (Figura 9). A Tabela 2 indica a composição do gel e do ativador deste produto de branqueamento.



Figura 9 - Brilliant Lumina: gel e ativador.

Tabela 2 - Composições do gel e do ativador do Brilliant Lumina.

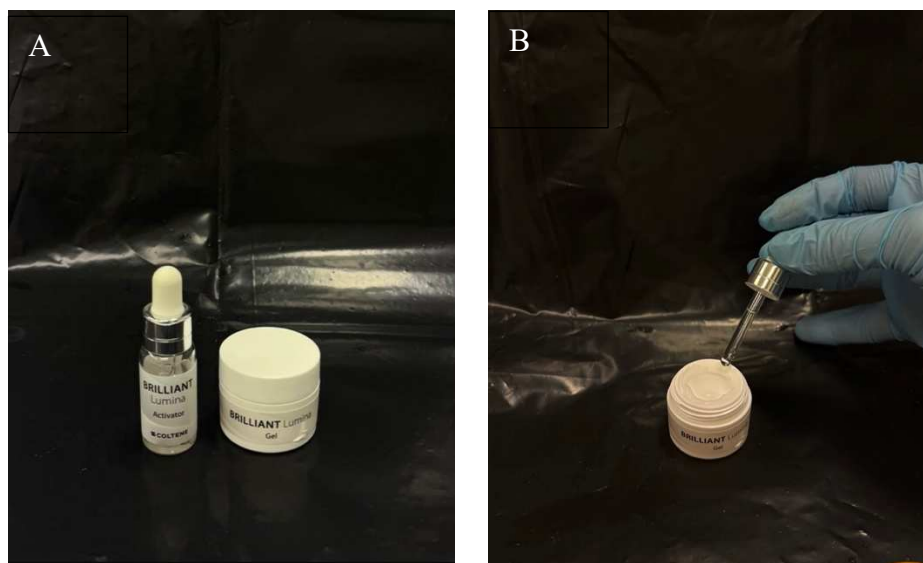
Composição do gel	Água, ácido ftalimidoperoxicapróico, glicerina, goma xantana, citrato monossódico, copolímero PVM/MA, hidróxido de sódio e C12-15 Pareth-3
Composição do ativador	Água, hidróxido de sódio.

4.3 Métodos

4.3.1. Branqueamento dos dentes

Consoante as regras do fabricante a aplicação do agente branqueador com PAP BRILLIANT Lumina (Coltene, Altstätten, Suíça) foi realizada nos dez dentes em 4 aplicações de 15 min cada, seguindo as seguintes etapas:

- 1) Adicionar 3 gotas da solução ativadora ao gel (Figura 10);
- 2) Misturar com uma espátula durante 60 s até obter uma pasta homogênea;
- 3) Aplicar a mistura na face vestibular dos dentes com a espátula (Figura 10);
- 4) Deixar o produto atuar durante 15 min;
- 5) Aspirar o gel com um aspirador e limpar os resíduos com algodão ou uma compressa, sem utilizar água (Figura 10);
- 6) Repetir as etapas 2 a 5 três vezes;
- 7) Limpar os dentes com água durante 60 s.



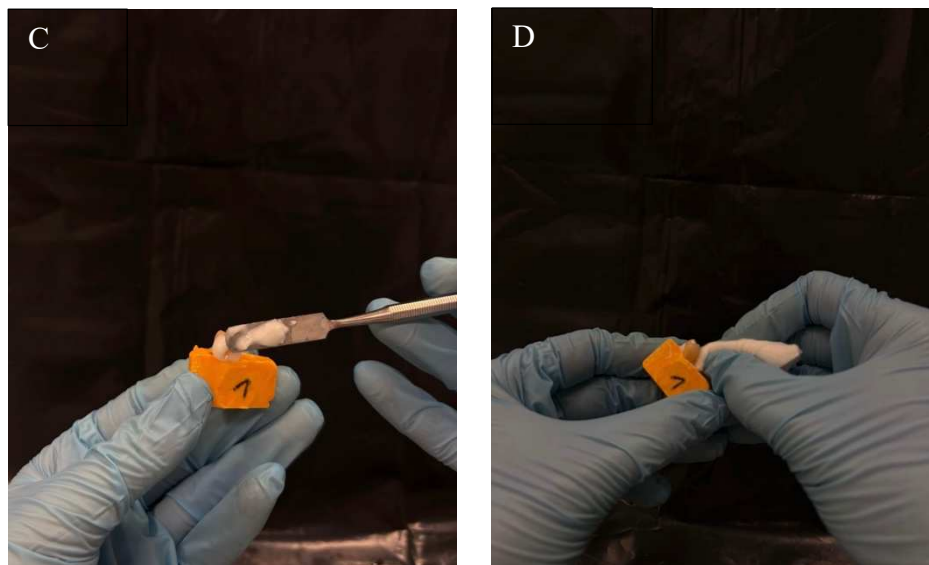


Figura 10 - Procedimento do branqueamento dentário, A= Gel de PAP e ativador; B= Preparação do produto, C= Aplicação do gel branqueador no dente; D= Remoção do gel de branqueamento com algodão.

4.3.2. Corte dos dentes

Em cada dente foram efetuados quatro cortes no sentido mesio-distal de modo a obter quatro fatias de 2 mm de espessura (Figura 11). Estas fatias foram organizadas em quatro grupos experimentais:

- Grupo a) (experimental): fatia de esmalte vestibular (onde foi aplicado PAP);
- Grupo b) (experimental): fatia de dentina vestibular (onde foi aplicado PAP);
- Grupo c) (controlo): fatia de dentina lingual (onde não foi aplicado PAP);
- Grupo d) (controlo): fatia de esmalte lingual (onde não foi aplicado PAP).

Estas secções foram efetuadas com um micrótomoto automático de tecidos duros (Accutom-50, Struers, Ballerup, Dinamarca) (Figura 12), com refrigeração constante de água corrente e a baixa rotação.

As porções de esmalte vestibular (grupo a) e de dentina vestibular (grupo b) foram integradas nos grupos teste, correspondendo às amostras submetidas à ação do PAP. Por sua vez, as porções de esmalte lingual (grupo d) e de dentina lingual (grupo c) constituíram os grupos controlo, não tendo sido expostas ao agente branqueador.

Assim, após o corte, obtiveram-se 36 amostras repartidas em 4 grupos experimentais de 9 amostras, ou seja 18 experimentais e 18 de controlo.

De seguida, as amostras foram conservadas em água destilada a 4 °C (Figura 13)



Figura 11 – Quatro fatias obtidas à partir de quatro cortes num dentes no sentido mesio-distal.



Figura 12 – Micrótomo de tecidos duros (Accutom-50; Struers, Ballerup, Dinamarca).



Figura 13 - Armazenamento das amostras.

4.3.3. Microdureza de *Vickers*

Seguidamente, foi realizado o teste de microdureza *Vickers* em cada fatia das 9 dentes em estudo, utilizando um aparelho de microdureza digital Vickers HSV-30 (Figura 14) (Shimadzu corporation, Kyoto, Japão). Foram realizadas 5 indentações equidistantes em cada amostra, com uma carga de 29,42 N aplicada durante 5 s (Figura 15, Figura 16).



Figura 14 - Shimadzu HSV-30.



Figura 15 - Indentação no esmalte.

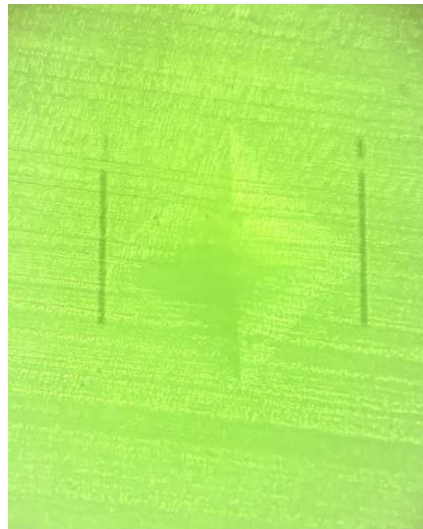


Figura 16 - Indentação na dentina.

4.3.4. Observação dos grupos experimentais no MEV

Para cada grupo, 2 amostras foram depois analisadas com um Microscópio eletrónico de varrimento (MEV) para analisar a rugosidade da superfície. Para a observação em MEV, as amostras foram fixadas e desidratadas.

O protocolo de preparação para Microscopia Eletrónica de Varrimento (MEV) seguiu o método descrito por Perdigão et al. (1995), com as devidas adaptações. As amostras foram inicialmente fixadas por imersão em glutaraldeído a 2,5 %, a 4 °C, durante 24 h. Posteriormente, foram transferidas para uma solução de cacodilato de sódio 0,1 M, com pH 7,3, durante 1 h, realizando-se a troca da solução a cada 20 min. Seguiu-se uma lavagem em água destilada durante 1 min, imersão em ácido clorídrico 0,1 M durante 10 minutos e, por fim, em hipoclorito de sódio a 13 % por 2 min.

A desidratação das amostras foi realizada através de uma série crescente de concentrações de etanol: 70 % durante 20 min, 95 % durante 40 min, realizando-se a troca da solução a cada 20 min e 100 % durante 30 min, realizando-se a troca da solução a cada 10 min. Após a desidratação, as amostras foram submersas em hexametildissilano (HMDS), em dois banhos consecutivos de 15 min. Finalmente, deixaram-se secar sobre papel de filtro à temperatura ambiente, durante 24 h (Perdigão et al., 1995).

Por último, as amostras foram fixadas num suporte metálico circular, utilizando uma fita adesiva de cobre de dupla face, garantindo a sua estabilidade durante todo o processo. Em seguida, foi depositada uma fina camada de liga de ouro sob uma corrente de 20 nA e uma tensão de 1,4 kV através de um *sputter coater* (JEOL, JEE-400, Vacuum Evaporator, Tokyo, Japão) (Figura 17; Figura 18). Por fim, o suporte metálico foi colocado no microscópio MEV (JEOL, JSM-5400, Tokyo, Japão) (Figura 19), disponível no Centro de Microscopia Eletrónica e Histopatologia da Egas Moniz *School of Health & Science*, para observar a superfície do esmalte e da dentina.

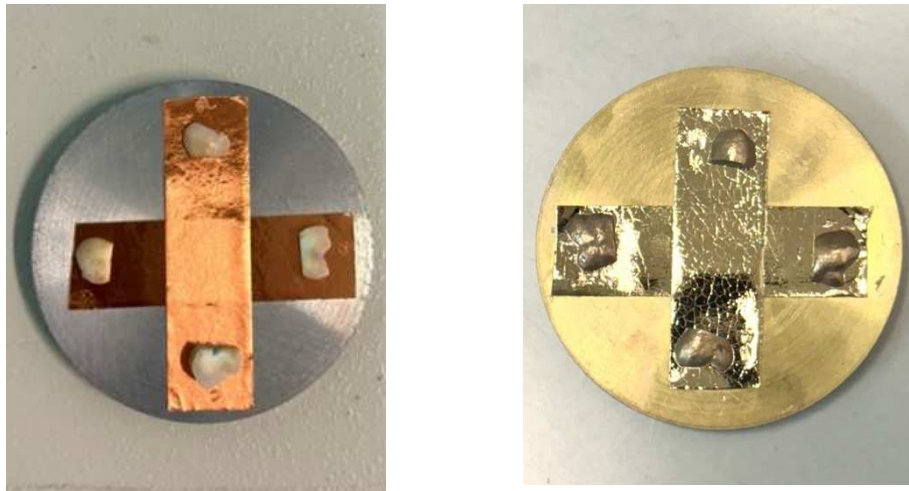


Figura 17 - Amostras de esmalte antes e após recobrimento com ouro.

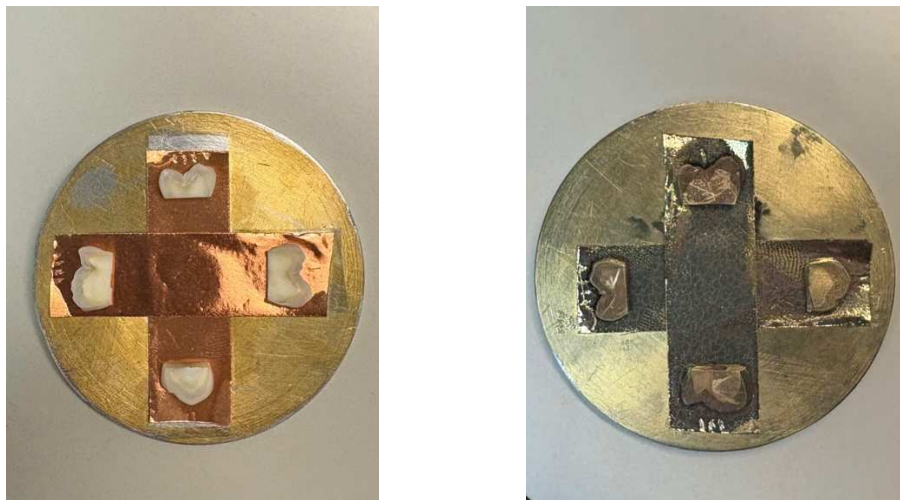


Figura 18 - Amostras de dentina antes e após recobrimento com ouro.



Figura 19 - Microscópio eletrônico de varrimento

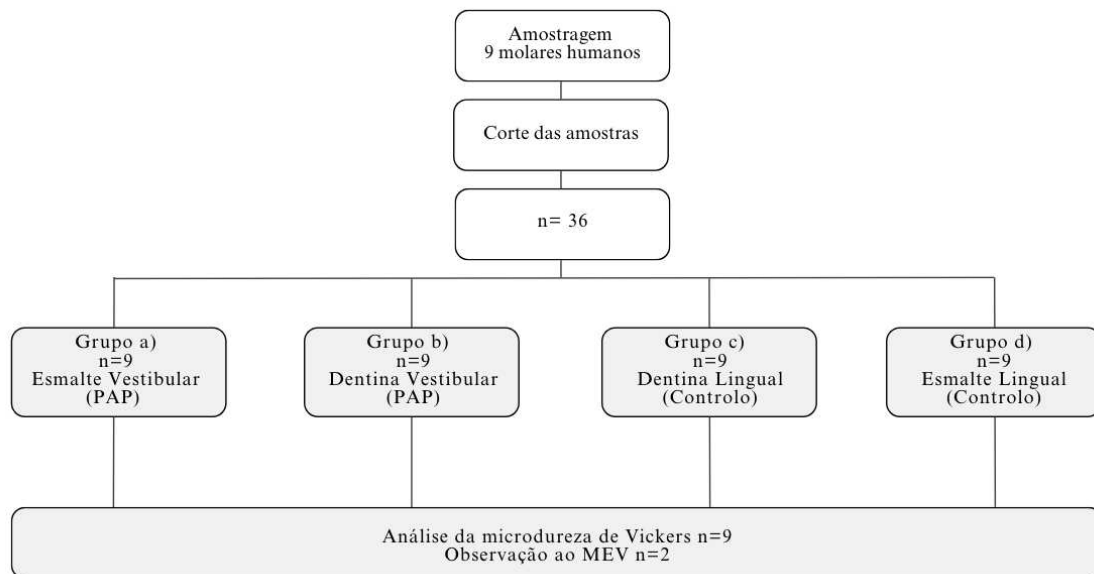
As imagens obtidas foram ampliadas 1000x através de um *software* (Bruker Espirit Compact) para análise e caracterização da superfície do esmalte e da dentina.

4.3.5. Análise estatística

A análise estatística foi realizada com a versão 30 para Mac do software “*IBM SPSS Statistics*”. Inicialmente, foi efetuada uma análise descritiva dos resultados obtidos, com o cálculo das medidas de tendência central (média) e de dispersão (desvio padrão) para os valores de microdureza dos dois grupos. Em seguida, foram realizados testes de adequação à normalidade (*Kolmogorov-Smirnov*) para verificar a distribuição normal dos dados. A variável apresentou distribuição normal ($p > 0,05$), o que permitiu a utilização de um teste paramétrico para inferência estatística: teste t de *Student* para amostras independentes. Na análise inferencial considerou-se um nível de significância de 5 %.

4.4. Fluxograma do trabalho experimental

FLUXOGRAMA DO TRABALHO EXPERIMENTAL



5 RESULTADOS

5.1. Microdureza de *Vickers*

Para a realização do teste de microdureza de *Vickers*, foram efetuadas cinco indentações em cada amostra, ou seja, obtiveram-se cinco valores de HV. Assim, foram obtidas 36 medições para cada grupo experimental, a partir das quais se calcularam a média e o desvio padrão. De seguida, recorreu-se ao teste t de *Student* para comparar os valores médios de microdureza entre os grupos experimentais e os grupos de controlo (Tabela 3; Tabela 4).

Tabela 3 – Estatística descritiva e inferencial da microdureza (HV) do esmalte nos dois grupos experimentais a) e d).

Grupos experimentais	Média	Desvio padrão (DP)	Min.-Máx.	IC 95% para a média	<i>p</i>
a) Esmalte vestibular (PAP)	305,9	82,2	72,6–461,0	281,2–330,6	0,033
d) Esmalte lingual (controlo)	344,2	85,9	116,0–491,0	318,4–370,1	
DP – Desvio padrão; Min. – Mínimo; Máx. – Máximo; IC – Intervalo de Confiança.					

Para o esmalte, verifica-se que o grupo a) apresenta uma média menor em comparação com o grupo b). Constatou-se uma diferença de 38,3 HV entre o grupo experimental e o grupo controlo. Neste tecido dentário, o grupo experimental (PAP) revelou um valor de microdureza estatisticamente inferior em relação ao grupo controlo ($p = 0,033$) (Tabela 3).

Tabela 4 – Estatística descritiva e inferencial da microdureza (HV) da dentina nos dois grupos experimentais b) e c).

	Média	DP	Min.-Máx.	IC 95% para a média	<i>p</i>
b) Dentina vestibular (PAP)	65,0	12,4	44,8– - 101,0	61,3–.261 - 68,7	0,682
c) Dentina lingual (controlo)	65,9	9,1	45,0– - 87,1	63,2–.201 - 68,7	
DP – Desvio padrão; Min. – Mínimo; Máx. – Máximo; IC – Intervalo de Confiança					

Ao analisar as médias dos diferentes grupos avaliando a dentina, verifica-se que o grupo b) apresenta uma menor média em comparação com o grupo c). Constatou-se uma diferença de 0,942 HV entre o grupo experimental e o grupo controlo. No que respeita aos grupos relativos à dentina, o grupo experimental (PAP) não revelou uma diferença estatisticamente significativa face ao grupo controlo ($p = 0,682$) (Tabela 4).

5.2. MEV

No que diz respeito ao esmalte, observou-se uma diferença clara entre os grupos a) e d). A superfície do esmalte lingual, do grupo controlo d) (Figura 20) apresentou-se lisa e íntegra, em contraste, ao grupo experimental a), correspondente ao esmalte vestibular exposto ao gel branqueador com PAP, em que se notaram alterações morfológicas evidentes, como aumento da rugosidade e perda da uniformidade da superfície.

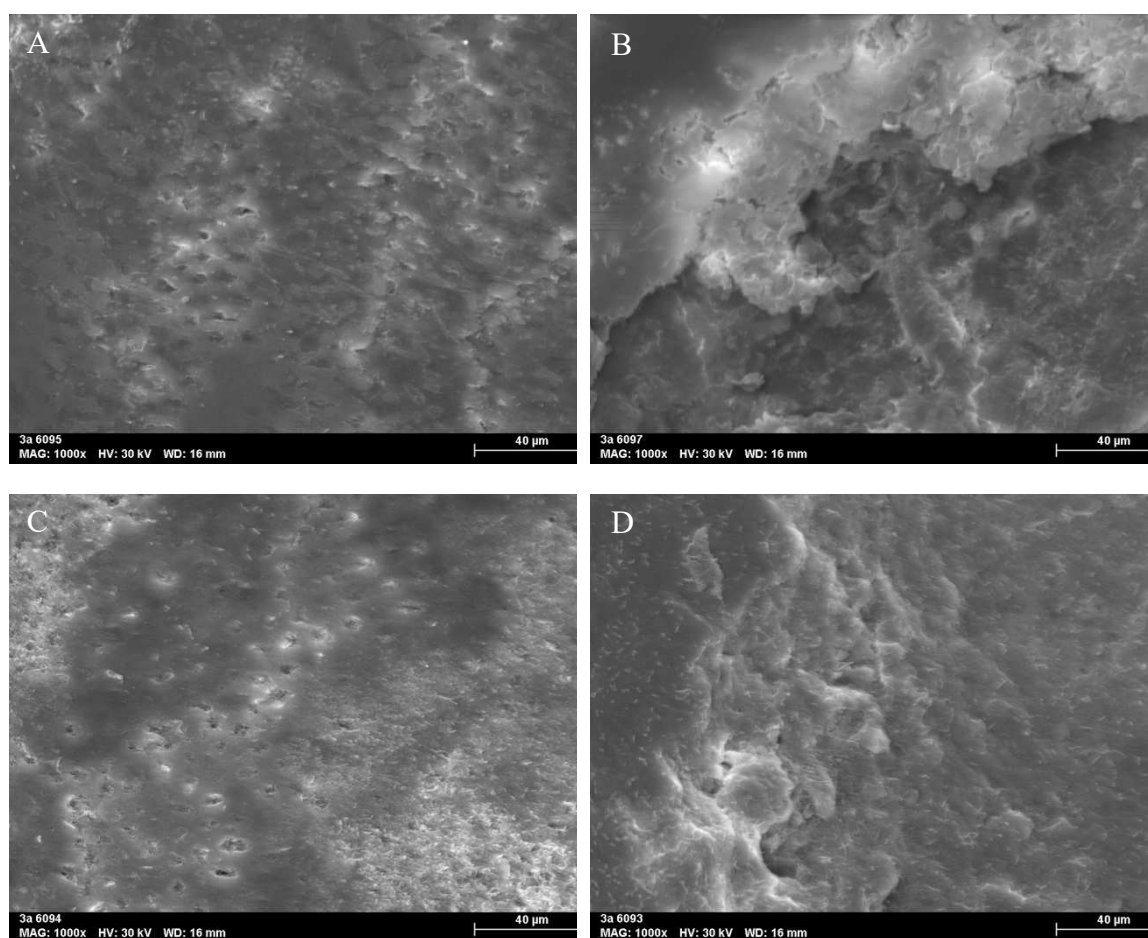


Figura 20 - Micrografias recolhidas do SEM com ampliação x1000 para analisar a topografia da superfície do esmalte antes (A e C) e após o branqueamento com PAP (B e D)

Quanto à dentina, tanto a região lingual do grupo controlo (c) como a região vestibular do grupo teste (b) apresentaram superfícies semelhantes, sem alterações morfológicas significativas (Figura 21).

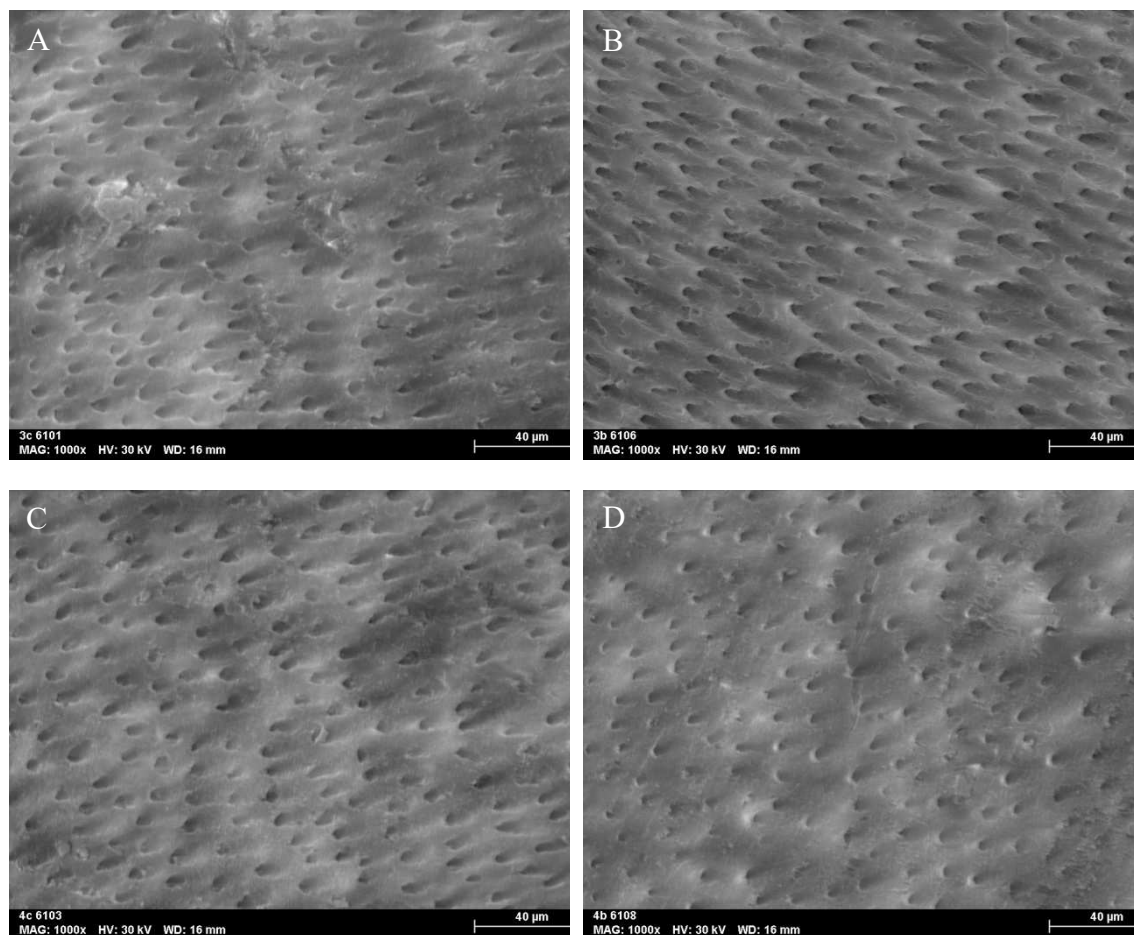


Figura 21 - Micrografias recolhidas do SEM com ampliação x1000 para analisar a topografia da superfície da dentina antes (A e C) e após o branqueamento com PAP (B e D)

6 DISCUSSÃO

Este trabalho teve como principal objetivo avaliar o impacto de um gel de branqueamento à base de PAP na microdureza e na topografia superficial do esmalte e da dentina, procurando determinar se este composto poderia constituir uma alternativa menos agressiva aos agentes de branqueamento tradicionais, como o PH e PC.

As medições de microdureza foram efetuadas através do teste de Vickers, com uma carga aplicada de 29,42 N durante 5 segundos. Os valores médios obtidos foram de 344,2 HV para o esmalte controlo (grupo d), 305,9 HV para o esmalte testado (grupo a), 65,9 HV para a dentina controlo (grupo c) e 65,0 HV para a dentina testada (grupo b).

Os resultados sugerem uma diminuição da microdureza do esmalte após a exposição ao PAP. Esta tendência foi confirmada pela análise estatística inferencial, que revelou uma diferença significativa entre os grupos a) e d). Deste modo, pode afirmar-se que a aplicação do PAP induz uma redução significativa da microdureza do esmalte, rejeitando a hipótese nula 1 H0.1.

Por outro lado, não foi observada qualquer variação significativa na dentina, uma vez que os valores se mantiveram praticamente idênticos entre os grupos c) e b), aceitando a hipótese nula 2 H0.2, em que aplicação de um gel branqueador à base de PAP não influencia a microdureza da dentina.

A análise da topografia de superfície do esmalte e da dentina por MEV revelou uma alteração visível na superfície do esmalte nos espécimes tratados, traduzindo-se num aumento da rugosidade face aos grupos controlo. No entanto, esta alteração está em concordância com a redução de microdureza observada no esmalte.

Na dentina, as imagens obtidas não mostraram diferenças notórias entre os grupos testados e controlo, o que sugere uma maior resistência deste tecido à ação do PAP.

Estes resultados foram comparados com os dados de vários estudos anteriores. Ao confrontar os dados obtidos com a literatura científica existente, constata-se que as nossas observações coincidem com algumas investigações, enquanto divergem de outras.

O nosso estudo está de acordo com um estudo de Greenwall-Cohen e colaboradores, em 2019, no qual, também observaram efeitos indesejáveis relacionados com a utilização de produtos branqueadores contendo PAP no esmalte. Este estudo realizado no Reino Unido tinha como objetivo determinar a segurança de novos produtos vendidos sem receita e avaliou as variações da microdureza e das alterações na superfície através de MEV. A análise das amostras revelou modificações significativas na morfologia do esmalte, com sinais de dissolução da superfície, exposição dos cristais subjacentes do esmalte e um padrão de gravação semelhante ao produzido pelo ácido fosfórico. Adicionalmente, as medições da microdureza *Vickers* demonstraram que dois destes produtos induziram uma diminuição significativa da dureza do esmalte. Estes dados contradizem, portanto, a hipótese de uma total inocuidade dos géis sem peróxido, incluindo aqueles que contêm PAP (Greenwall-Cohen et al., 2019).

Outro estudo em 2021 mostrou que os géis à base de PAP provocavam uma redução da microdureza do esmalte assim como um efeito de condicionamento visível nas superfícies tratadas, o que também está de acordo com o nosso estudo. Uma possível explicação para estes efeitos estaria provavelmente relacionado com um pH demasiado ácido numa formulação pouco otimizada.

No entanto, existe um estudo mais recente que evidenciou o potencial do PAP enquanto agente branqueador eficaz e mais seguro do que os compostos clássicos à base de peróxido. Este estudo *in vitro* permitiu a observação por MEV das amostras de esmalte tratadas com uma nova tecnologia de branqueamento dentário (ALPINE WHITE, Cobe AG, Dänikon, Suíça), formulada a partir de cristais de PAP. A análise revelou a ausência de alterações morfológicas da superfície do esmalte, mesmo após quatro aplicações sucessivas de 15 min. Não foi detetada qualquer erosão, rugosidade ou modificação significativa da estrutura superficial. Estes resultados sugerem que o PAP não tem efeito deletério sobre o esmalte dentário, ao contrário do nosso estudo. Contudo, importa salientar que este estudo assentou num número muito limitado de amostras, o que limita a generalização das suas conclusões. De facto, embora indicativos de potencial, os resultados obtidos a partir de uma única amostra continuam insuficientes para se poder concluir de forma definitiva sobre a inocuidade do PAP no esmalte (Stübinger et al., 2024).

Na literatura, para além do PAP, surgiu outro agente branqueador como o PAP+. Este agente incorpora diversos aditivos, como hidroxiapatite e citrato de potássio, para reforçar a sua inocuidade (Pascolutti & de Oliveira, 2021). Neste estudo, o gel PAP+ testado (Hismile Pty Ltd., Burleigh Waters, Qld, Austrália) foi comparado com outros géis branqueadores à base de PH e PC em diferentes concentrações. As características superficiais iniciais foram medidas com um perfilómetro de superfície calibrado, e a dureza superficial inicial foi determinada através de um microdurecímeter. Os resultados mostraram que não foi observada qualquer erosão do esmalte no grupo PAP+. Pelo contrário, verificou-se mesmo um aumento da microdureza superficial após o tratamento. Estes resultados contradizem as observações reportadas com os géis à base de peróxido, que são frequentemente associados a perda de estrutura e amolecimento do esmalte. A melhoria observada no grupo PAP+ é muito provavelmente atribuível à presença de hidroxiapatite e citrato de potássio, que atuam como agentes remineralizantes e protetores.

Outro estudo, conduzido por Rachana Maiya, incide igualmente sobre um gel à base de PAP+, desta vez no âmbito de um protocolo que combina irradiação laser e tratamento de branqueamento. O principal objetivo foi analisar os efeitos deste método na morfologia superficial do esmalte, bem como no teor de cálcio e fosfato, comparando-os com os efeitos das técnicas clássicas de branqueamento à base de peróxido de hidrogénio. Após a aplicação dos diferentes tratamentos, as amostras foram observadas ao microscópio eletrónico de varrimento (MEV). Os resultados mostraram que as amostras tratadas com o gel PAP+ apresentaram alterações de superfície significativamente menores, bem como uma perda mineral reduzida face aos grupos tratados com produtos à base de PH. Este estudo evidencia assim o potencial do PAP+ enquanto agente branqueador menos agressivo, capaz de preservar melhor a integridade do esmalte, mantendo a eficácia. Estes resultados reforçam a hipótese de que uma formulação otimizada do PAP poderá constituir uma alternativa séria aos tratamentos convencionais (Maiya et al., 2024).

Este estudo, apesar de fornecer resultados interessantes sobre o efeito do PAP na microdureza e na superfície do esmalte e da dentina, apresenta algumas limitações que importa destacar. Por um lado, foi realizado num número reduzido de amostras, o que limita o alcance estatístico e a generalização das conclusões. Por outro lado, não incluiu

grupos comparativos tratados com outros agentes branqueadores de uso comum, como o PH ou o PC, o que impede uma avaliação objetiva do desempenho e da inocuidade do PAP em comparação direta. É também importante notar que o estudo foi conduzido no âmbito de um trabalho universitário por uma estudante sem experiência prévia nas técnicas de microdureza ou de observação ao microscópio eletrônico, o que poderá introduzir um viés metodológico.

Para tornar este estudo mais significativo, poderão ser consideradas várias vias de melhoria. Em primeiro lugar, seria essencial aumentar o número de amostras para obter dados mais representativos e estatisticamente fiáveis. Seria igualmente pertinente comparar o gel à base de PAP com produtos branqueadores clássicos, como os produtos à base de PH ou PC, para melhor situar a sua eficácia e segurança. Além disso, outro eixo de aprofundamento interessante seria comparar géis contendo apenas PAP com aqueles contendo PAP+, de modo a avaliar a contribuição real dos aditivos remineralizantes, como a hidroxiapatite ou o citrato de potássio. Seria igualmente pertinente proceder a uma avaliação duas a três semanas após a conclusão do branqueamento, com armazenamento prévio em saliva artificial, de forma a verificar a reversibilidade dos efeitos observados.

De seguida, a utilização de técnicas complementares, como a análise elementar por espectroscopia EDX, permitiria uma melhor compreensão das eventuais perdas minerais a nível do esmalte ou da dentina.

Por fim, poderia ser desenvolvido um âmbito de reflexão mais amplo: mesmo que o PAP provoque uma ligeira alteração dos tecidos dentários, será que isso continua a ser menos prejudicial do que os efeitos frequentemente observados com o PH ou o PC? Estas futuras investigações poderão assim ajudar a determinar se o PAP representa um caminho mais respeitador para o branqueamento dentário, ou se ainda carece de ajustes antes de poder ser considerado uma verdadeira alternativa.

7 CONCLUSÕES

Tendo em conta os resultados obtidos, tanto ao nível da microdureza como das alterações morfológicas na superfície do esmalte e da dentina, é possível concluir que:

- A aplicação do gel branqueador à base de PAP diminuiu os valores de microdureza do esmalte.
- A aplicação do gel branqueador à base de PAP não alterou os valores de microdureza da dentina.
- Foram registadas alterações na superfície do esmalte nas imagens MEV no grupo tratado com branqueamento à base de PAP em comparação com o grupo controlo.
- Por outro lado, não se verificaram alterações na superfície da dentina nas imagens MEV entre o grupo tratado com branqueamento à base de PAP (grupo b) e o grupo controlo.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Akkus, A., Karasik, D., & Roperto, R. (2017). Correlation between micro-hardness and mineral content in healthy human enamel. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 9(4), e569–e573. <https://doi.org/10.4317/jced.53345>
- Alkahtani, R., Stone, S., German, M., & Waterhouse, P. (2020). A review on dental whitening. In *Journal of Dentistry* (Vol. 100). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2020.103423>
- AlOtaibi, F. (2019). Adverse effects of tooth bleaching: A review. *International Journal of Oral Care and Research*, 7(2), 53. https://doi.org/10.4103/injo.injo_22_19
- Alqahtani, M. Q. (2014). Tooth-bleaching procedures and their controversial effects: A literature review. In *Saudi Dental Journal* (Vol. 26, Issue 2, pp. 33–46). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.sdentj.2014.02.002>
- Aragão, W. A. B., Chemelo, V. S., Alencar, C. de M., Silva, C. M., Pessanha, S., Reis, A., de Souza Rodrigues, R. D., & Lima, R. R. (2024). Biological action of bleaching agents on tooth structure: A review. In *Histology and Histopathology* (Vol. 39, Issue 10, pp. 1229–1243). Histology and Histopathology. <https://doi.org/10.14670/HH-18-726>
- Arnold, W. H., & Gaengler, P. (2007). Quantitative analysis of the calcium and phosphorus content of developing and permanent human teeth. *Annals of Anatomy*, 189(2), 183–190. <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2006.09.008>
- Avicenna, A.-S. B., Mahardika, C., & Jayanti, L. W. (2022). Effect of 35% hydrogen peroxide on in-office bleaching against changes in tooth enamel hardness: Literature review. *South East Asia Nursing Research*, 4(1), 47. <https://doi.org/10.26714/seanr.4.1.2022.47-50>
- Bazin, D., Boudierlique, E., Daudon, M., Frochot, V., Haymann, J. P., Letavernier, E., Tielens, F., & Weil, R. (2021). Scanning electron microscopy-a powerful imaging technique for the clinician. *Comptes Rendus Chimie*, 24(S2), 1–24. <https://doi.org/10.5802/CRCHIM.101>
- Bizhang, M., Domin, J., Danesh, G., & Zimmer, S. (2017). Effectiveness of a new non-hydrogen peroxide bleaching agent after single use - A double-

- blind placebo-controlled short-term study. *Journal of Applied Oral Science*, 25(5), 575–584. <https://doi.org/10.1590/1678-7757-2016-0463>
- Caldas, A., Vasconcelos, D., Sampaio, G., Campos, J., Aragão, L., & Cavalcanti, A. N. (2015). PRODUTOS CLAREADORES OVER THE COUNTER: UMA REVISÃO DE LITERATURA. *Revista Bahiana de Odontologia*, 6(2). <https://doi.org/10.17267/2238-2720revbahianaodonto.v5i2.586>
- Carey, C. M. (2014). Tooth whitening: What we now know. *Journal of Evidence-Based Dental Practice*, 14(SUPPL.), 70–76. <https://doi.org/10.1016/j.jebdp.2014.02.006>
- Coceska, E., Gjorgievska, E., Coleman, N. J., Gabric, D., Slipper, I. J., Stevanovic, M., & Nicholson, J. W. (2016). Enamel alteration following tooth bleaching and remineralization. *Journal of Microscopy*, 262(3), 232–244. <https://doi.org/10.1111/jmi.12357>
- De Dios Teruel, J., Alcolea, A., Hernández, A., & Ruiz, A. J. O. (2015). Comparison of chemical composition of enamel and dentine in human, bovine, porcine and ovine teeth. *Archives of Oral Biology*, 60(5), 768–775. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2015.01.014>
- de Mendonça, L. C., Rodrigues, M. LA, Bicalho, A. A., da Silva, G. R., Quagliatto, P. S., Santos, D. Q., & Soares, C. J. (2024). Analysis of Calcium and Phosphate Ion Extraction From Dental Enamel by Bleaching Gels Using Ion Chromatography, Micro-CT, and SEM. *Operative Dentistry*, 49(2), 157–165. <https://doi.org/10.2341/23-026-L>
- Elfallah, H. M., Bertassoni, L. E., Charadram, N., Rathsam, C., & Swain, M. V. (2015). Effect of tooth bleaching agents on protein content and mechanical properties of dental enamel. *Acta Biomaterialia*, 20, 120–128. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2015.03.035>
- Epple, M., Meyer, F., & Enax, J. (2019). A critical review of modern concepts for teeth whitening. In *Dentistry Journal* (Vol. 7, Issue 3). MDPI Multidisciplinary Digital Publishing Institute. <https://doi.org/10.3390/dj7030079>
- Eva Filija, & Ivan Šalinović. (n.d.). *Microhardness testing: can we measure the repair of demineralized lesion?* <https://niom.no/hardness-te->

- Greenwall-Cohen, J., Francois, P., Silikas, N., Greenwall, L., Le Goff, S., & Attal, J. P. (2019). The safety and efficacy of “over the counter” bleaching products in the UK. *British Dental Journal*, 226(4), 271–276. <https://doi.org/10.1038/s41415-019-0011-6>
- Greenwall-Cohen, J., & Greenwall, L. H. (2019). The single discoloured tooth: vital and non-vital bleaching techniques. *British Dental Journal*, 226(11), 839–849. <https://doi.org/10.1038/s41415-019-0373-9>
- Haywood, V. B., & Sword, R. J. (2017). Tooth bleaching questions answered. In *British Dental Journal* (Vol. 223, Issue 5, pp. 369–380). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2017.767>
- Jiang, T., Guo, Y. R., Feng, X. W., Sa, Y., Yang, X., Wang, M., Li, P., & Wang, Y. N. (2018). Hydrogen Peroxide Might Bleach Natural Dentin by Oxidizing Phosphoprotein. *Journal of Dental Research*, 97(12), 1339–1345. <https://doi.org/10.1177/0022034518784260>
- Karteva, E., Manchorova-Veleva, N., Damyanov, Z., & Karteva, T. (2019). MORPHOLOGY AND STRUCTURAL CHARACTERIZATION OF HUMAN ENAMEL AND DENTIN BY OPTICAL AND SCANNING ELECTRON MICROSCOPY. *Journal of IMAB - Annual Proceeding (Scientific Papers)*, 25(4), 2744–2750. <https://doi.org/10.5272/jimab.2019254.2744>
- Khan, A. A., AlKhureif, A. A., Almutairi, M., Nooh, A. N. Bin, Bin Hassan, S. A., & Alqahtani, Y. M. (2024). Effects of Time-Elapsed Bleaching on the Surface and Mechanical Properties of Dentin Substrate Using Hydrogen Peroxide-Free Nanohydroxyapatite Gel. *International Journal of Nanomedicine*, 19, 10307–10317. <https://doi.org/10.2147/IJN.S478930>
- Khositphanthawong, N., Sirimaharaj, V., & Wanachantararak, S. (n.d.). *Microhardness and Cutting Resistance in Enamel of Primary Molars Among Various Caries Experience Groups In Vitro*.
- Kina, M., Paula, A., Borghi, S., Fabre, A. F., César, O., Martins, L., Simonato, L. E., Boer, N. P., & Kina, J. (2015). Clareamento dental em dentes vitais: protocolo clínico em consultório. In *Arch Health Invest* (Vol. 4, Issue 4).
- Klaric, E., Rakic, M., Sever, I., Milat, O., Par, M., & Tarle, Z. (2015). Enamel and dentin microhardness and chemical composition after experimental

- light-activated bleaching. *Operative Dentistry*, 40(4), E132–E141.
<https://doi.org/10.2341/14-148-L>
- Kwon, S. R., & Wertz, P. W. (2015). Review of the mechanism of tooth whitening. In *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry* (Vol. 27, Issue 5, pp. 240–257). <https://doi.org/10.1111/jerd.12152>
- Lacruz, R. S., Habelitz, S., Wright, J. T., & Paine, M. L. (2017). DENTAL ENAMEL FORMATION AND IMPLICATIONS FOR ORAL HEALTH AND DISEASE. *Physiol Rev*, 97, 939–993.
<https://doi.org/10.1152/physrev.00030.2016.-Dental>
- Lee, E.-S., Wadhwa, P., Kim, M.-K., Bo Jiang, H., Um, I.-W., & Kim, Y.-M. (n.d.). *Organic Matrix of Enamel and Dentin and Developmental Defects*. www.intechopen.com
- Li, K., Chen, S., Wang, J., Xiao, X., Song, Z., & Liu, S. (2024). Tooth whitening: current status and prospects. In *Odontology* (Vol. 112, Issue 3, pp. 700–710). Springer. <https://doi.org/10.1007/s10266-024-00914-4>
- Llena, C., Esteve, I., & Forner, L. (2018). Effects of in-office bleaching on human enamel and dentin. Morphological and mineral changes. *Annals of Anatomy*, 217, 97–102. <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2018.01.003>
- Maiya, R., Attavar, S. H., & Kovoov, K. L. (2024). Comparative analysis of laser activated radical free bleaching agent on surface morphology and calcium phosphate content of enamel. *Lasers in Dental Science*, 8(1). <https://doi.org/10.1007/s41547-024-00250-4>
- Monjaras-Avila, A., Zavala-Alonso, V., Morales-Alcocer, G., Martinez-Castanon, G. A., Patiño-Marin, N., & Ramirez-Gonzalez, J. (2017). *Superficies y Vacío* (Vol. 30, Issue 1).
- Nathanson, D. (1997). Vital tooth bleaching: Sensitivity and pulpal considerations. *Journal of the American Dental Association*, 128(4 SUPPL.), 41S-44S. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.1997.0423>
- Orilisi, G., Monterubbianesi, R., Notarstefano, V., Tosco, V., Vitiello, F., Giuliani, G., Putignano, A., & Orsini, G. (2021). New insights from Raman MicroSpectroscopy and Scanning Electron Microscopy on the microstructure and chemical composition of vestibular and lingual surfaces in permanent and deciduous human teeth. *Spectrochimica Acta -*

- Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 260.
<https://doi.org/10.1016/j.saa.2021.119966>
- Pascolutti, M., & de Oliveira, D. (2021). A radical-free approach to teeth whitening. *Dentistry Journal*, 9(12). <https://doi.org/10.3390/dj9120148>
- Perdigao, J., Lambrechts, P., Meerbeek, ' B Van, Vanherle, ' G, & Lopes2, A. L. B. (1995). *Field emission SEM comparison of four postfixation drying techniques for human dentin*.
- Qin, J., Zeng, L., Min, W., Tan, L., Lv, R., & Chen, Y. (2019). A bio-safety tooth-whitening composite gels with novel phthalimide peroxy caproic acid. *Composites Communications*, 13, 107–111.
<https://doi.org/10.1016/j.coco.2019.04.002>
- Rodríguez-Martínez, J., Valiente, M., & Sánchez-Martín, M. J. (2019). Tooth whitening: From the established treatments to novel approaches to prevent side effects. In *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry* (Vol. 31, Issue 5, pp. 431–440). Blackwell Publishing Ltd.
<https://doi.org/10.1111/jerd.12519>
- Serbanoiu, D. C., Vartolomei, A. C., Ghiga, D. V., Pop, S. I., Panainte, I., Moldovan, M., Sarosi, C., Petean, I., Boileau, M. J., & Pacurar, M. (2024). Comparative Evaluation of Dental Enamel Microhardness Following Various Methods of Interproximal Reduction: A Vickers Hardness Tester Investigation. *Biomedicines*, 12(5).
<https://doi.org/10.3390/biomedicines12051132>
- Stübinger, S., Altenried, S., & Ren, Q. (2024). Tooth-Whitening with a Novel Phthalimido Peroxy Caproic Acid: Short Communication. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dentistry*, 16, 219–225.
<https://doi.org/10.2147/CCIDE.S450920>
- Sun, W., Xu, Y., Zhou, Y., Zeng, Z., Wang, L., & Ouyang, J. (2024). Topographic Scanning Electronic Microscopy Reveals the 3D Surface Structure of Materials. *Advanced Functional Materials*.
<https://doi.org/10.1002/adfm.202420372>
- União Europeia. (2009). *Regulamento (CE) n.º 1223/2009 do Parlamento Europeu e do Conselho de 30 de Novembro de 2009 relativo aos produtos cosméticos*.

- V Tamara, P. (2015). Tooth-bleaching: Mechanism, Biological Aspects and Antioxidants. *International Journal of Dentistry and Oral Health*, 1(3).
<https://doi.org/10.16966/2378-7090.116>

9 ANEXOS

Anexo 1: Comité da ética



Comissão de Ética EGAS MONIZ

Processo Interno: 1522
PT 570/24

Ex.ma Senhora
Marine Gisèle Noëlle Evrard

Monte de Caparica, 18 de dezembro de 2024.

Ex.ma Senhora,

Em resposta ao Pedido de Parecer que submeteu à apreciação da Comissão de Ética da Egas Moniz, com o tema denominado: "Avaliação da influência do ácido ftalimidoperoxicaiproico (PAP) na integridade do Esmalte e da Dentina", foi aprovado.

A Presidente da Comissão de Ética da Egas Moniz

Profª Doutora Cidália de Castro

Anexo 2: Autorização

Open Access Article

A Radical-Free Approach to Teeth Whitening

by **Mauro Pascolutti** *  and **Dileusa de Oliveira** 

Hismile Research Centre, 225-229 Burleigh Connection Rd., Burleigh Waters 4220, Australia

* Author to whom correspondence should be addressed.

Dent. J. **2021**, 9(12), 148; <https://doi.org/10.3390/dj9120148>

Submission received: 18 October 2021 / Revised: 3 December 2021 / Accepted: 7 December 2021 /

Published: 9 December 2021