

## Blanqueamiento en dientes vitales

Maryline Minoux, DMD<sup>a</sup>, y René Serfaty, DMD, PhD<sup>b</sup>

*El tratamiento estético de las discromías, dependiendo de su etiología, suele llevarse a cabo mediante diferentes técnicas en blanqueamiento de dientes vitales. La molécula activa empleada en estos procedimientos es el peróxido de hidrógeno; sin embargo, no se conoce completamente su mecanismo de acción. Por otra parte, la gran variedad de estudios contradictorios hacen difícil la evaluación de la seguridad de las técnicas de blanqueamiento. Por ello el propósito de este estudio es la revisión de la literatura existente sobre la materia (1) para describir las propiedades físicoquímicas del peróxido de hidrógeno y (2) para valorar la seguridad de su uso como agente de blanqueamiento en dientes vitales. La capacidad que tiene el peróxido de hidrógeno de generar radicales libres que difunden por los tejidos duros dentarios ha despertado cierta preocupación por los efectos adversos que los agentes de blanqueamiento podrían inducir sobre dentina y pulpa, y sobre su efecto sobre la adhesión a los composites. Por otro lado, durante la autoaplicación de los productos de blanqueamiento empleados de forma ambulatoria, se libera peróxido de hidrógeno a la cavidad bucal, y se ingiere. Por todo ello se han planteado ciertas cuestiones sobre su toxicidad y su posible carcinogénesis.*

(Quintessence Int. 2008;39:645-59)

El blanqueamiento dental representa una solución estética para los pacientes que presentan alteraciones del color dentario. El color natural de los dientes depende fundamentalmente de las propiedades de reflexión y transmisión de la luz de los tejidos duros dentales, dependiendo el color global del diente sobre todo de las propiedades ópticas de la dentina<sup>1</sup>. Este color natural puede verse modificado por alteraciones del color intrínsecas o extrínsecas. Las discromías intrínsecas se deben a cambios en la naturaleza molecular, en la estructura, o en el grosor de la dentina y del esmalte. Su origen puede ser pre o posteruptivo. Las discromías intrínsecas son preeruptivas cuando se producen durante la morfogénesis del diente, pudiendo ser inducidas por traumas, trastornos genéticos, administración de tetraciclinas, o ingestión de elevados niveles de flúor. Las discromías posteruptivas se deben fundamentalmente a traumatismos (con preservación de la vitalidad dentaria) y al proceso de envejecimiento. A diferencia de las discromías intrínsecas, las tinciones extrínsecas son superficiales y se producen por el depósito de cromógenos de la dieta y de otros elementos externos sobre la superficie del esmalte o su inclusión en la placa dental<sup>2,3</sup>.

El diagnóstico de estas discromías dentales es esencial porque su tratamiento adecuado depende totalmente de su etiología. A modo de ejemplo, mientras que una simple limpieza profesional a menudo resulta suficiente para eliminar la mayoría de las tinciones externas, el tratamiento de las discromías internas es más complejo y se basa en diferentes métodos y enfoques, como la macroabrasión empleada con cerámica o composite, la microabrasión, o el blanqueamiento dental<sup>2</sup>.

El blanqueamiento dental puede realizarse de forma intracoronral en dientes endodonciados (blanqueamiento dental no vital) o externamente<sup>4</sup> (blanqueamiento dental en dientes vitales). A pesar del elevado número de métodos que se han descrito en la literatura para el blanqueamiento externo de dientes vitales, todos ellos se basan en el empleo directo de peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) o de su precursor, el peróxido de carbamida.

<sup>a</sup>Profesora Ayudante. Departamento de Odontología Restauradora. Facultad de Odontología. Université Louis Pasteur. Estrasburgo, Francia.

<sup>b</sup>Profesor Adjunto. Departamento de Odontología Restauradora. Facultad de Odontología. Université Louis Pasteur. Estrasburgo, Francia.

Correspondencia: Dra. Maryline Minoux.  
Department of Restorative Dentistry, Faculty of Dentistry, Université Louis Pasteur.  
4 Place de l'Hôpital, 67000 Estrasburgo, Francia.  
Correo electrónico: minoux@igbmc.u-strasbg.fr

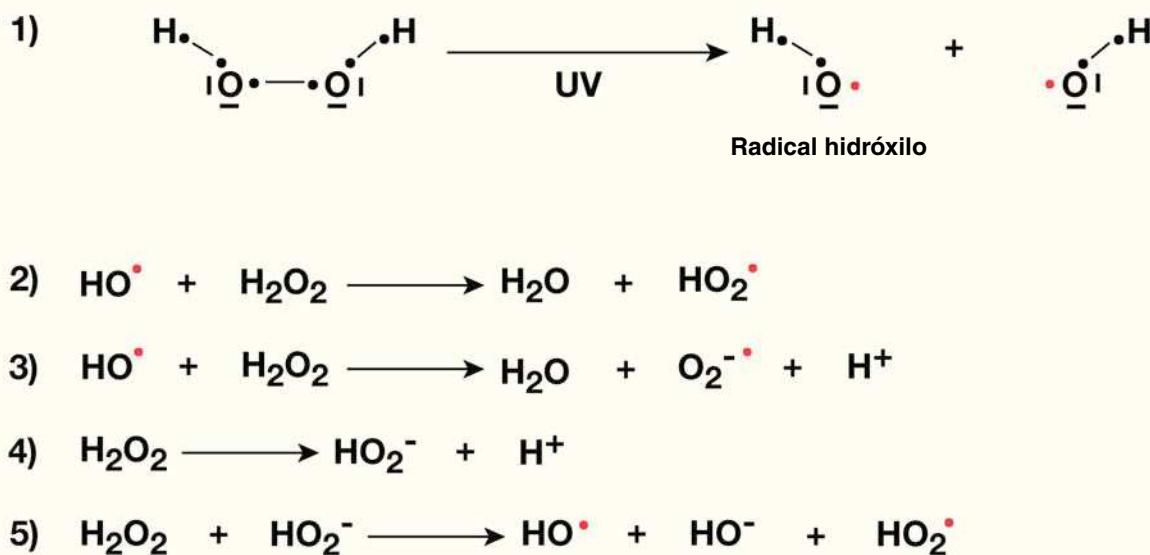


Figura 1. Mecanismos de acción del peróxido de hidrógeno. Las ecuaciones 1, 2 y 3 representan las reacciones que sufre el peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) en presencia de calor o luz UV, mientras que las ecuaciones 4 y 5 representan las reacciones que ocurren bajo condiciones alcalinas. H: hidrógeno; HO: radical hidróxilo;  $\text{HO}_2^-$ : radical perhidróxilo; O: oxígeno;  $\text{O}_2^-$ : anión superóxido. El punto rojo representa los electrones sueltos de los radicales libres.

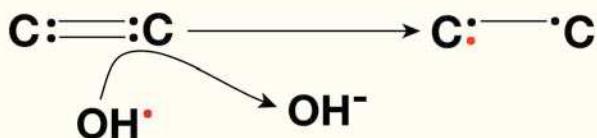


Figura 2. Ruptura de los dobles enlaces por los radicales libres. Para estabilizar su estructura molecular, los radicales libres ganan un electrón de los dobles enlaces conjugados. La ruptura resultante de estos dobles enlaces conduce a la producción de moléculas menos cromatogénicas. C: carbono; H: hidrógeno; O: oxígeno. El punto rojo representa los electrones sueltos de los radicales libres.

Básicamente, existen tres enfoques fundamentales para el blanqueamiento dental en dientes vitales: blanqueamiento en la consulta, blanqueamiento con férula nocturna y supervisión clínica, y uso de productos de blanqueamiento comerciales<sup>5-7</sup>. En la técnica de férula nocturna, el gel que contiene el peróxido de hidrógeno se aplica sobre los dientes con la ayuda de una cubeta fabricada a medida. La férula normalmente se usa por la noche durante al menos dos semanas. En esta técnica, la concentración del peróxido de carbamida en el gel es relativamente baja (10% a 15%), lo que corresponde a una concentración de peróxido de hidrógeno del 3% al 5%<sup>8,9</sup>. Por el contrario, en la técnica de blanqueamiento en consulta, se emplea una concentración más elevada de peróxido de hidrógeno (25% a 35%) durante un período de tiempo más corto, y a menudo se emplea una

fuente de calor o de luz para acelerar el blanqueamiento dental<sup>10-13</sup>.

La eficiencia del blanqueamiento dental ha sido extensamente descrita en la literatura durante los últimos 15 años<sup>14-16</sup>; sin embargo, muy recientemente se han despertado algunas dudas sobre sus potenciales efectos adversos. El propósito de este artículo es revisar los datos descritos en la literatura concernientes a los efectos biológicos adversos del peróxido de hidrógeno empleado como agente de blanqueamiento en dientes vitales. Los temas se centrarán sobre el efecto que el peróxido de hidrógeno puede inducir en las estructuras de esmalte, dentina y pulpa, y sobre sus posibles efectos sobre la adhesión a composites. También se revisará la toxicidad potencial local y sistémica y la carcinogenicidad del peróxido de hidrógeno.

## Propiedades fisicoquímicas y mecanismo de acción del peróxido de hidrógeno: generación de radicales libres

A pesar de que el peróxido de hidrógeno ha sido empleado con éxito en odontología durante muchos años, el mecanismo por el que se produce el blanqueamiento no se comprende claramente todavía. Son varias las reacciones que pueden ser responsables de la eficacia de blanqueamiento, dependiendo de las condiciones ambientales, como temperatura, pH, luz ultravioleta (UV), y presencia de algunos iones<sup>17</sup>. En condiciones alcalinas, el peróxido de hidrógeno puede sufrir una disociación iónica que da lugar a la formación del anión perhidróxilo (fig. 1, ecuación 4). El anión perhidróxilo ( $\text{HO}_2^-$ ) por sí mismo puede ser un elemento activo en el proceso de blanqueamiento<sup>18</sup> pero también puede convertirse en un donante de electrones iniciando la formación de radicales libres (fig. 1, ecuación 5).

Price et al<sup>19</sup> han demostrado que, aunque la mayoría de los productos de blanqueamiento tienen un pH ácido, algunos de ellos (especialmente cuando la concentración del peróxido de hidrógeno es baja) podrían también tener un pH básico. Además, se ha demostrado que en los 15 min siguientes al blanqueamiento dental con peróxido de carbamida al 10% aumenta el pH de la saliva y del interior de la cubeta. Este aumento del pH parece deberse al amonio que se origina por degradación de la urea del peróxido de carbamida<sup>20</sup>. De acuerdo con estos estudios, en la cubeta puede encontrarse un pH moderadamente básico, lo que sugiere que en determinadas condiciones la disociación aniónica del peróxido de hidrógeno podría contribuir al blanqueamiento dental. Además de la disociación aniónica, el peróxido de hidrógeno puede sufrir también un fenómeno conocido como fragmentación homolítica. Esta reacción es promovida fundamentalmente por las temperaturas elevadas y por la luz ultravioleta y dar lugar a la aparición de un potente agente oxidante denominado radical hidróxilo<sup>21,22</sup> ( $\text{HO}$ ) (fig. 1, ecuación 1). Tras ello se produce una reacción en cadena que forma nuevos radicales libres de oxígeno, como el radical perhidróxilo ( $\text{HO}_2$ ) y el anión superóxido<sup>22,23</sup> ( $\text{O}_2^-$ ) (fig. 1, ecuaciones 2 y 3).

Los radicales libres son muy inestables debido a que contienen uno o más electrones libres en su orbital atómico. Para estabilizar su estructura molecular, tienen tendencia a ganar un electrón de un compuesto adyacente. Por lo tanto, hay fuertes agentes oxidativos. Los dobles enlaces conjugados con átomos de carbono, nitrógeno y oxígeno son poderosos donantes de electrones y representan el principal objetivo de acción del peróxi-

do. Estos dobles enlaces son esenciales en las moléculas orgánicas que generan el color y que conocemos como cromóforos. Dificultando la conjugación de electrones de los dobles enlaces, los radicales libres cambian la energía de absorción de la molécula (fig. 2). Esto resulta en una desviación del espectro de absorción visible del compuesto de una longitud de onda más larga a una más corta, conduciendo así a la producción de compuestos menos cromatogénicos<sup>24</sup>. No se conoce todavía bien la naturaleza molecular precisa de los cromóforos localizados dentro del diente; por lo tanto en estas moléculas cromatogénicas sólo puede hacerse una extrapolación del mecanismo general de acción del peróxido de hidrógeno. Por otro lado, lo que sigue sin conocerse todavía es el grado de degradación de los cromóforos de los dientes respecto a las condiciones de blanqueamiento (concentración de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , tiempo de exposición, presencia de un catalizador), así como hasta qué punto se puede revertir esta reacción de oxidación.

## Efectos del peróxido de hidrógeno sobre la estructura de dentina y esmalte

Se ha demostrado que los radicales libres, además de afectar a las moléculas pigmentadas, pueden afectar también a los lípidos y proteínas que son componentes orgánicos de los tejidos duros dentales<sup>25</sup>. Por ello se ha planteado la hipótesis de que uno de los posibles efectos adversos de los productos de blanqueamiento sería la alteración de la dentina y el esmalte.

Las alteraciones morfológicas de la superficie del esmalte se han evaluado mediante diferentes técnicas, concretamente mediante microscopio electrónico de barrido y análisis perfilométrico. Varios estudios han revelado ausencia de cambios micromorfológicos significativos asociados al proceso de blanqueamiento empleando peróxido de carbamida al 10%<sup>26-29</sup>, peróxido de carbamida al 20%<sup>30</sup>, e incluso peróxido de hidrógeno al 35%<sup>31,32</sup>. Sin embargo, otros estudios han descrito alteraciones morfológicas leves de la superficie del esmalte después de blanqueamiento dental con peróxido de carbamida al 10% o peróxido de hidrógeno al 35%. Entre los defectos advertidos se encontraban alteración de la rugosidad de la superficie y grietas más profundas<sup>33</sup>, así como aumento discreto y no uniforme de la porosidad de la superficie<sup>34-37</sup>. Según Bistey et al<sup>38</sup>, las alteraciones del esmalte después de un blanqueamiento dental eran proporcionales al tiempo de tratamiento y a la concentración de peróxido de hidrógeno empleada. De hecho, el aumento en la profundidad de los surcos observados por Espec-

troscopia de Infrarrojos Transformada de Fourier (IRTF) era más pronunciado cuando se empleaba peróxido de hidrógeno al 30% que cuando se empleaba peróxido de carbamida al 10%<sup>25</sup>. Varios estudios han confirmado el efecto nocivo de las altas concentraciones de peróxido de hidrógeno sobre la integridad de la superficie del esmalte<sup>30-41</sup>; sin embargo, algunos autores han reseñado también alteraciones en la morfología de la superficie del esmalte incluso con exposiciones a peróxido de carbamida al 10%<sup>42-45</sup>.

También se han encontrado resultados contradictorios respecto a la modificación de la microdureza de la superficie del esmalte. De hecho, mientras algunos estudios han demostrado no encontrar cambios asociados al blanqueamiento dental cuando se empleaba una concentración de peróxido de carbamida de entre el 10%<sup>24,29,44,46-49</sup> y el 15%<sup>50</sup>, otros estudios han demostrado que las mismas concentraciones de peróxido de carbamida podían conducir a una disminución de la microdureza del esmalte<sup>51-55</sup>. La disminución de la microdureza del esmalte está en relación con procesos de desmineralización o pérdida de contenido mineral de la estructura dentaria externa<sup>56</sup>. De la misma manera, Efeoglu et al<sup>57</sup> observaron que la aplicación de peróxido de carbamida al 10% disminuía el contenido mineral en hidroxiapatita en las 50 µm más externas del esmalte. También se ha descrito la pérdida de pequeñas cantidades de fósforo y/o calcio del esmalte tras la exposición a soluciones de peróxido de carbamida al 10%<sup>48,58</sup>; sin embargo, los autores concluyeron que estos cambios químicos en el esmalte no eran clínicamente significativos.

El bajo peso molecular del peróxido de hidrógeno y sus productos derivados les permite difundir a través del esmalte y la dentina. Mediante aplicación directa de peróxido de carbamida al 10% sobre la dentina, algunos estudios han demostrado una disminución de la microdureza de la misma<sup>54,55,59,60</sup>, mientras que otros estudios no han encontrado tal disminución<sup>47,50</sup>. En su estudio in vitro, Tam et al<sup>61</sup> demostraron que la aplicación directa de peróxido de carbamida al 10% sobre la dentina disminuía la resistencia flexural y el módulo de este tejido. Sin embargo, cuando el peróxido de carbamida al 10% se aplicaba sobre el esmalte de dientes intactos, éste no afectaba a las propiedades mecánicas de la dentina subyacente. De la misma manera que ocurre con el esmalte, no está claro si es la fase inorgánica de la dentina o la fase orgánica la que se ve afectada. De hecho, Rotstein et al<sup>62</sup> encontraron una reducción significativa de la relación calcio/fósforo de la dentina después del tratamiento con peróxido de carbamida al 10% o peróxido de hidrógeno al 30%, mientras que Kawamoto y Tsujimoto<sup>63</sup> su-

girieron que el peróxido de hidrógeno no influía en la hidroxiapatita pero sí alteraba los componentes orgánicos de la dentina.

La variabilidad de los resultados obtenidos por los diferentes estudios que han estudiado los efectos de los productos de blanqueamiento sobre la estructura del esmalte puede explicarse por la metodología empleada: tipo de dientes, medio de almacenamiento, tiempo de exposición, composición de los agentes de blanqueamiento comercializados, y pH de la solución<sup>29</sup>. Se ha encontrado una gran variación del pH en los diferentes geles de blanqueamiento disponibles, y se ha sugerido que tanto la disminución de la microdureza del esmalte como la alteración de la morfología de la superficie pueden atribuirse, hasta cierto punto, a las propiedades acidógenas de algunos agentes de blanqueamiento<sup>44,47</sup>. Sin embargo, los defectos observados después del blanqueamiento de dientes vitales son (1) menos severos que los producidos por la aplicación de gel de ácido fosfórico al 37%<sup>33</sup> y (2) no parecen aumentar la susceptibilidad del esmalte a la caries<sup>64,65</sup>. Además, algunos estudios han postulado que los efectos de los productos de blanqueamiento sobre el esmalte y la dentina pueden ser contrarrestados por el potencial de remineralización de la saliva<sup>29,44,59</sup>. La presencia de flúor en algunos productos de blanqueamiento podría conducir también a un efecto de remineralización y por lo tanto a un aumento de la microdureza del esmalte durante el tratamiento y el período de postratamiento<sup>53</sup>.

En conjunto, la enorme cantidad de datos obtenidos en estos estudios ha demostrado que el blanqueamiento de dientes vitales no conlleva alteraciones de los tejidos duros dentales o en todo caso alteraciones muy pequeñas. Sin embargo, en vista de la disparidad de estos estudios, sería interesante estandarizar los protocolos de tratamiento de cara a (1) comparar directamente el reactivo empleado e (2) identificar un grupo susceptible de la población.

## Efectos de los productos de blanqueamiento sobre la adhesión del esmalte y la dentina a composites

Se ha estudiado el potencial adhesivo de los composites al esmalte blanqueado mediante evaluación de la resistencia microtensil y al cizallamiento de la unión adhesiva. Se ha reseñado una disminución de la resistencia de la unión adhesiva esmalte-resina cuando el procedimiento de adhesión se realiza inmediatamente después del blanqueamiento de dientes vitales e independientemente de la concentración de peróxido de hidrógeno o de carbamida empleada<sup>66-71</sup>. Esta reducción de la resistencia de

la unión adhesiva podría ser responsable de un compromiso de la interfase entre el esmalte y la resina. De hecho, se han descrito grandes zonas sin adhesión<sup>67,72</sup> así como lengüetas de resina más cortas y mal definidas<sup>73</sup>.

Normalmente, los productos de blanqueamiento se aplican sobre el esmalte; sin embargo, como la dentina y el esmalte son permeables al peróxido de hidrógeno, la aplicación de productos de blanqueamiento sobre el esmalte puede también afectar a la dentina que se encuentra por debajo. Además, cuando existen retracciones gingivales, los procedimientos restauradores adhesivos pueden realizarse sobre las superficies radiculares que presentan márgenes cervicales en dentina. Al igual que ocurre con el esmalte, también se ha descrito una reducción de la resistencia de la unión adhesiva a la dentina inmediatamente después del blanqueamiento, tanto en la modalidad de blanqueamiento en la consulta como en la de blanqueamiento ambulatorio<sup>74-76</sup>.

La reducción inicial de la resistencia de la adhesión dental ha sido atribuida fundamentalmente a la inhibición de la polimerización de la resina debida a los radicales residuales de peróxido y/o oxígeno presentes en el esmalte<sup>67,69,70</sup> o en la dentina, ya que se ha sugerido que la dentina actúa como un reservorio de oxígeno<sup>67,72,73</sup>. Sin embargo, se ha aceptado que los efectos adversos que pueden producirse sobre la resistencia adhesiva pueden revertirse con el tiempo. Los estudios han reseñado que los valores de resistencia adhesiva dentales vuelven a niveles normales entre 24 h<sup>69</sup> y 3 semanas después del blanqueamiento<sup>77</sup>, tiempo que permite la difusión del peróxido residual de la superficie de esmalte blanqueada hacia el exterior<sup>78</sup>. Basándose en estos datos, se recomienda posponer los procedimientos de restauración adhesiva al menos 24 h después del blanqueamiento.

### Efecto del peróxido de hidrógeno sobre la pulpa: sensibilidad dentaria

La sensibilidad dentaria es el principal efecto adverso del blanqueamiento de dientes vitales y ha sido reseñado por varios estudios clínicos con diferentes incidencias<sup>79-86</sup>. Según el estudio de Haywood et al<sup>81</sup>, un 52% de los pacientes que se sometieron a blanqueamiento dental en dientes vitales con férula nocturna y peróxido de carbamida al 10% durante 6 semanas experimentaron sensibilidad dentaria. Sin embargo, la mayoría de los estudios han reseñado que la sensibilidad dentaria es transitoria y desaparece con el cese del tratamiento o poco después<sup>81-83</sup>, presentándose la mayor parte de la sensibilidad dentaria al principio del tratamiento de blanqueamiento<sup>83</sup>. Cuando durante el tratamiento de blanqueamiento

de dientes vitales se presenta sensibilidad dentaria, se recomienda disminuir la cantidad de solución blanqueante que se administra en la férula, disminuir el número de horas del tratamiento o interrumpir el procedimiento durante unos días<sup>87</sup>. También se ha propuesto para reducir la sensibilidad dentaria el empleo de agentes desensibilizantes, como el nitrato potásico y el flúor<sup>88,89</sup>.

La sensibilidad dentaria se atribuye sobre todo a la penetración del agente blanqueante en la cámara pulpar dando lugar a una pulpitis reversible. Los experimentos *in vitro* han demostrado que el peróxido de hidrógeno, aplicado de forma directa o derivado de la aplicación de peróxido de carbamida, difunde a través del esmalte y la dentina hacia el interior de la cámara pulpar<sup>90,91</sup> incluso con tiempos de exposición cortos de 15 min<sup>90</sup>. En la penetración del peróxido dentro de la pulpa pueden influir varios factores. Los estudios han reseñado que la cantidad de peróxido de hidrógeno que se recupera de la pulpa correlaciona positivamente con el tiempo que el agente ha permanecido en contacto con la superficie dentaria<sup>91</sup> y la concentración de agente de blanqueamiento empleada<sup>92,93</sup>. Además, Gokay et al<sup>94,95</sup> encontraron que la cantidad de penetración del peróxido de hidrógeno en el interior de la cámara pulpar de los dientes restaurados era más elevada que en dientes sanos y que se veía influida por el tipo de material restaurador.

Histológicamente, los estudios *in vivo* han revelado que la difusión del peróxido de hidrógeno hacia el interior de la cámara pulpar da lugar a una inflamación reversible del tejido de la pulpa, variando el grado de esta inflamación de acuerdo con los estudios. Después de un blanqueamiento vital con férula nocturna con peróxido de carbamida al 10% durante dos semanas, Fugaro et al<sup>96,97</sup> describieron una reacción pulpar leve y localizada, sin aumento de los marcadores inflamatorios. Los leves cambios histológicos observados revirtieron en las siguientes dos semanas después del tratamiento. Seale et al<sup>98</sup>, sin embargo, advirtieron en su estudio *in vivo* sobre perros que la aplicación de peróxido de hidrógeno al 35% durante 30 min, en cada uno de los 4 períodos semanales, causaba en los tres días siguientes después del tratamiento una respuesta pulpar muy marcada en el área inmediatamente por debajo de la superficie de esmalte tratada. Sesenta días después de terminado el tratamiento se observaba una resolución de esta respuesta inflamatoria. En este estudio, los daños causados por el peróxido de hidrógeno no se vieron intensificados por la adición de calor de 62 °C; además, no se observaron efectos nocivos sobre la pulpa tras la aplicación sólo de calor. Sin embargo, se ha expresado cierta preocupación sobre el efecto del calor generado por las lámparas em-

pleadas en el proceso de blanqueamiento, sobre la vitalidad pulpar. De hecho, Eldeniz et al<sup>99</sup> y Sulleman et al<sup>100</sup> demostraron en su estudio *in vitro* que el aumento de la temperatura intrapulpar inducida por el empleo de una lámpara láser de diodo superaba el umbral crítico de 5,6 °C conocido por producir daño pulpar irreversible en el 15% de los dientes de los monos rhesus<sup>101</sup>. Además, aparte de su efecto potencial sobre la vitalidad pulpar, se ha demostrado también que la elevación de la temperatura promueve la difusión del peróxido de hidrógeno al interior de la cámara pulpar<sup>102</sup>.

A nivel celular, Bowles y Burns<sup>103</sup> demostraron en su estudio *in vitro* que el peróxido de hidrógeno solo o con calor era capaz de inhibir varios enzimas pulpares. Hanks et al<sup>104</sup> reseñaron también que la difusión del peróxido a partir de un agente blanqueante a través de discos de dentina *in vitro* alcanzaba un nivel capaz de causar efectos citotóxicos sobre cultivos de fibroblastos. Sin embargo, los estudios *in vitro* son limitados en su capacidad de simular las condiciones clínicas<sup>104</sup>. De hecho, se ha propuesto que *in vivo* la presión positiva de la pulpa y la presión osmótica del gel son capaces de reducir la difusión hacia el interior de las moléculas del agente blanqueante hacia la pulpa<sup>104,105</sup>. Por lo tanto, la cantidad de peróxido de hidrógeno empleada en los estudios *in vitro* puede ser más elevada que la cantidad efectivamente presente *in vivo* en la cámara pulpar después de un tratamiento de blanqueamiento<sup>91,102</sup>.

Por otra parte, se ha propuesto que la pulpa se protege a sí misma frente a los daños inducidos por el peróxido de hidrógeno. Así, Lee et al<sup>106</sup> han demostrado que el tratamiento con peróxido de hidrógeno a concentraciones por debajo de 0,3 mmol/l aumenta la capacidad de los odontoblastos de producir dentina. Por tanto, parece que los odontoblastos pueden reaccionar en cierta medida a la acción del peróxido de hidrógeno y que los mecanismos de la pulpa protegen a este tejido de los radicales generados por el peróxido de hidrógeno. Estos mecanismos pueden contribuir a la reversibilidad tanto de los daños fisiológicos como de la sensibilidad dentinaria. En resumen, no se han descrito efectos pulparos irreversibles a largo plazo tras el blanqueamiento de dientes vitales<sup>81,84,107</sup>.

## Toxicidad

### Efectos adversos sobre la cavidad oral

Varios estudios sobre animales han descrito los efectos adversos a corto plazo del peróxido de hidrógeno aplicado sobre los tejidos orales. En ratas, 4 aplicaciones de

peróxido de hidrógeno al 30% sobre la punta de la lengua a intervalos de 15 min han demostrado inducir un extenso edema de los tejidos submucosos. La curación de este edema se produjo en los siguientes 7 días<sup>108</sup>. En ratones, la aplicación tópica de peróxido de hidrógeno al 15% a 30% sobre la piel del dorso produjo una necrosis epidérmica masiva, así como inflamación y daño vascular<sup>109</sup>. En el sexto día, sin embargo, se observaron áreas de hiperplasia epidérmica que marcaban el proceso de regeneración. De la misma manera a menudo se ha reseñado en los estudios clínicos la irritación gingival como efecto adverso común del blanqueamiento vital con férula nocturna<sup>83,87</sup>. Para prevenir la exposición gingival al producto de blanqueamiento, es aconsejable, por lo tanto, que la férula cubra únicamente al esmalte. Y, en concreto, cuando el blanqueamiento vital se realiza en la consulta con peróxido de hidrógeno a elevada concentración, se recomienda proteger de forma mecánica la mucosa gingival mediante dique de goma con ligaduras y crema aislante.

### Toxicidad sistémica aguda

Los efectos tóxicos del peróxido de carbamida o peróxido de hidrógeno se han abordado en varios estudios animales. En ratas, la administración mediante lavado de estómago de 15 a 50 mg de peróxido de carbamida por kilogramo de peso corporal (PC) (o 150 y 500 mg de blanqueante dental conteniendo peróxido de carbamida al 10%) indujo la ulceración de la mucosa gástrica después de una hora<sup>110</sup>. La ulceración comenzó a curar 24 h después de la administración de estos productos. Administrando una sola dosis oral de 5 g/kg PC de un blanqueante dental conteniendo peróxido de carbamida al 10%, 15% o 35%, Cherry et al<sup>111</sup> demostraron que la toxicidad aguda del peróxido de carbamida en ratas es dependiente de la concentración. Tres de 22 animales que recibieron la concentración más elevada de peróxido de carbamida murieron en las siguientes 48 h; los otros mostraron signos de distress, como disminución de la frecuencia de respiración, disminución de la temperatura corporal, y respiración dificultosa. Las ratas que recibieron concentraciones más pequeñas de peróxido de carbamida exhibieron signos de toxicidad similares pero más leves. Estos datos sugieren que el efecto agudo de los blanqueantes dentales comercializados depende de la cantidad y la concentración ingeridas. Las concentraciones elevadas son tóxicas de forma aguda para las ratas y en ocasiones fatales. Sin embargo, el uso de los productos de blanqueamiento dental que contienen peróxido de carbamida al 35% está restringido a la técnica

de aplicación en la consulta dental y por lo tanto se emplean siempre bajo supervisión clínica. Por otro lado, es poco probable que durante el blanqueamiento vital con férula nocturna pueda ingerirse semejante cantidad de blanqueantes dentales<sup>112</sup>. La toxicidad de los agentes de blanqueamiento dental por lo tanto guarda más relación con su ingestión accidental, como en el caso por ejemplo de accidentes con niños pequeños.

Como muchos de los síntomas que se observan en humanos tras la ingestión de peróxido de hidrógeno son similares a los reseñados en los estudios animales, es probable que los efectos tóxicos de los productos de blanqueamiento comercializados se deban al peróxido de hidrógeno o sus derivados. Típicamente, los síntomas que ocasiona la ingestión de peróxido de hidrógeno en seres humanos son hinchazón del estómago con gases, hemorragia gástrica, vómitos, insuficiencia respiratoria, convulsiones, daños neurológicos, y muerte<sup>113-121</sup>. Es importante mantener estos productos fuera del alcance de los niños para evitar accidentes, a pesar de que no se ha descrito ningún caso en la literatura sobre envenenamiento con blanqueantes dentales.

#### *Toxicidad sistémica crónica*

En un estudio de pautas para la Organización para las Buenas Prácticas de Laboratorio y la Cooperación y el Desarrollo Económico (CDE), Weiner et al<sup>122</sup> evaluaron la toxicidad subcrónica del peróxido de hidrógeno (el componente activo de los agentes de blanqueamiento dental) administrado de forma continuada durante 13 semanas en el agua de bebida de ratones que presentaban déficit de catalasa (C57 BL/6N). Los grupos de animales que recibieron 3.000 y 1.000 ppm de peróxido de hidrógeno desarrollaron pequeñas hiperplasias de la mucosa duodenal. Sin embargo, las lesiones duodenales fueron reversibles durante un período de recuperación de 6 semanas. El nivel sin observación de efectos adversos (NSOEAE) definido en este estudio fue de 100 ppm, lo que corresponde a 26 a 37 mg de peróxido de hidrógeno/kg PC/día, respectivamente para hombres y mujeres. La extrapolación de estos resultados al riesgo humano generalmente requiere del uso de un factor de seguridad, encaminado a determinar el nivel máximo de exposición aceptable en humanos. Este factor referido a los datos obtenidos en pruebas animales da un margen de seguridad para las personas expuestas al agente químico. Asumiendo que los seres humanos son 10 veces más sensibles que los animales y que las diferencias entre sensibilidades personales son de un rango de hasta

10 veces, Dahl y Pallesen<sup>123</sup> han aplicado un factor de seguridad de 100.

Para un NSOEAE de 26 mg de peróxido de hidrógeno/kg PC/día y un factor de seguridad de 100, el límite de exposición diaria para una persona no debe exceder los 0,26 mg/kg PC/día. Sin embargo, como el NSOEAE se ha establecido en una cepa de ratón que presentaba déficit de catalasa (que por lo tanto se considera más sensible a los efectos potenciales del peróxido de hidrógeno), el nivel de seguridad de exposición al peróxido de hidrógeno en humanos probablemente es más importante que 0,26 mg/kg PC/día.

Varios estudios han demostrado que, durante la aplicación de los productos de blanqueamiento ambulatorios, se libera peróxido de hidrógeno a la cavidad oral y que probablemente este se ingiere<sup>124-130</sup>. Sin embargo, el empleo de peróxido de carbamida al 10% (peróxido de hidrógeno al 3,3%) aplicando en la cubeta 500 mg del producto se ha demostrado seguro de acuerdo con un estudio de Hannig et al<sup>126</sup>, quienes encontraron que, después de 60 min de período de blanqueamiento en una persona de 60 kg, se recuperaban 0,04 mg de peróxido de hidrógeno/kg PC de la saliva. Además del sistema de cubeta, Hannig et al<sup>126</sup> determinaron también la cantidad de peróxido de hidrógeno eliminada tras la aplicación de productos de blanqueamiento en tiras (Crest Whitestrips, Procter & Gamble; peróxido de hidrógeno al 5%) y barniz (160 mg, entre 5,0% y 5,5% de peróxido de hidrógeno). Observaron que la cantidad de peróxido de hidrógeno recuperada en la saliva para los diferentes productos variaba entre 0,004 y 0,046 mg/kg PC, lo que es menos que la dosis diaria de seguridad recomendada.

Estos datos sugieren que, cuando se emplean dosis y concentraciones bajas de peróxido de hidrógeno, los sistemas de blanqueamiento ambulatorio son seguros. Sin embargo, parece que la cantidad de peróxido recuperada de la saliva difiere considerablemente dependiendo de los productos empleados. De hecho, uno de los geles para barnizar probados por Hannig et al<sup>126</sup> fue arrastrado en los primeros minutos de blanqueamiento, lo que condujo al cabo de una hora a una considerable liberación de peróxido en la saliva. Por lo tanto, la eficacia del blanqueamiento y la relación riesgo/beneficio de los productos, que tienen un tiempo limitado de contacto con la superficie dentaria, podrían ser discutidas. Por otra parte, los estudios generalmente determinan la cantidad de peróxido liberada a la saliva durante las 2 primeras horas de blanqueamiento dental, cuando en la práctica los períodos de tratamiento que se recomiendan en los sistemas de blanqueamiento ambulatorio son más prolongados. Para evaluar la dosis diaria de exposición a

los productos de blanqueamiento sería por lo tanto más adecuado determinar el peróxido recuperado en la cavidad oral a distintos intervalos del tiempo de aplicación diario recomendado.

## Genotoxicidad y carcinogenicidad de los productos de blanqueamiento

El peróxido de hidrógeno no contiene un electrón suelto en su orbital molecular; por lo tanto, no es un radical. Sin embargo, mediante la reacción De Fenton<sup>23</sup> el peróxido de hidrógeno en presencia de iones metálicos parcialmente reducidos, y en particular en presencia de hierro, se convierte en el radical hidroxilo altamente reactivo. El radical hidroxilo, junto con el radical anión superóxido y el oxígeno singlet, son Especies de Oxígeno Reactiva (EOR), que son generadas normalmente por el metabolismo celular<sup>131</sup>. Las 3 especies están involucradas en la cadena de respiración mitocondrial<sup>132</sup>, en las cascadas de señalización intracelular, y en los mecanismos inflamatorios<sup>133</sup>. Bajo condiciones fisiológicas normales, la producción de EOR es contrarrestada por la acción de oxidantes enzimáticos y no enzimáticos que contribuyen a mantener las EOR a concentraciones bajas constantes. El estrés oxidativo se produce cuando existe un desequilibrio entre la producción celular de EOR y los mecanismos de defensa oxidativa a favor de los oxidantes. Este proceso puede dar lugar a un aumento del nivel celular de EOR endógenas u exógenas<sup>134,135</sup>.

### Estudios *in vitro*

Los datos experimentales respaldan un importante papel del exceso de EOR en la modificación del ADN celular. El daño del ADN es la principal causa de desarrollo de cáncer, y en distintos tumores se han observado niveles elevados de lesiones oxidativas del ADN, lo que convierte al peróxido de hidrógeno en un agente potencialmente carcinogénico<sup>131</sup>.

Una de las lesiones oxidativas del ADN más estudiadas es la formación de 8-hidroxiguanina (8-OH-G) por interacción de EOR, y más en concreto del radical hidroxilo con la guanina<sup>136</sup>. Mediante síntesis *in vitro* de ADN, la 8-OH-G dirige la incorporación de desoxicitosina-5' monofosfato (dCMF) o desoxiadenosin-5' monofosfato (dAMF) a la hebra de ADN opuesta a la lesión<sup>137</sup>. También se ha demostrado que esta modificación oxidativa de la pareja es mutagénica en células de mamífero induciendo transversiones específicas de Guanina a Timina<sup>138,139</sup>, mutación que se encuentra en oncogenes y en genes supresores de tumores en el cáncer humano<sup>140</sup>.

La 8-OH-G por lo tanto es mutagénica y potencialmente carcinogénica<sup>133</sup>. La sustitución del par de la base se ha observado también en linfocitos humanos primarios en el locus hipoxantina guanina fosforribosiltransferasa (HGFT) después de su cultivo celular con tratamiento de peróxido de hidrógeno<sup>141</sup>.

Otro de los daños del ADN producidos por las EOR *in vitro* son las delecciones<sup>141</sup>, desviaciones de la estructura, rupturas de la cadena de ADN<sup>142,143</sup>, intercambios con la cromatina hermana y reorganizaciones cromosómicas<sup>135,144-146</sup>. Los estudios *in vitro* han resultado esenciales para comprender el mecanismo de acción del peróxido de hidrógeno; así han permitido la caracterización de los efectos genotóxicos y mutagénicos de las EOR sobre el ADN. De cualquier manera, no son suficientes por sí solos para estudiar el potencial efecto carcinogénico de los productos de blanqueamiento *in vivo* porque no tienen en cuenta la absorción, distribución, cinética, y excreción del peróxido de hidrógeno<sup>147</sup>. Por otra parte, la presencia de moléculas antioxidantes a niveles tan bajos en células aisladas comparadas con tejidos endógenos<sup>148,149</sup> impide la correlación entre los estudios *in vitro* e *in vivo*. De acuerdo con esto, los daños cromosómicos inducidos por el peróxido de hidrógeno en células de hámster chino V-79 pueden prevenirse mediante la adición de enzimas antioxidantes<sup>144,150,151</sup> (catalasas).

### Estudios *in vivo*

Los estudios *in vivo* son esenciales para evaluar el efecto carcinogénico del peróxido de hidrógeno que se emplea durante los blanqueamientos dentales, como lo demuestra completamente lo que vamos a discutir a continuación.

La potencial implicación del peróxido de hidrógeno en la carcinogénesis ha sido evaluada a nivel local y sistémico. Los estudios se han centrado en su capacidad de actuar como iniciador, promotor, o carcinógeno completo.

Para evaluar su influencia sobre la carcinogénesis oral, el peróxido de hidrógeno se ha aplicado directamente sobre la piel o la mucosa oral de animales de experimentación. Kurokawa et al<sup>152</sup> y Klein-Szanto y Slaga<sup>109</sup> estudiaron la promoción y carcinogénesis completa del peróxido de hidrógeno sobre la piel de ratones. Kurowaka et al<sup>152</sup> encontraron que el peróxido de hidrógeno no tenía ni actividad de promoción ni de carcinogénesis completa. Sin embargo, advirtieron hiperplasia epidérmica, en el 45% de los ratones en la prueba de promoción. Sin embargo, Klein-Szanto y Slaga<sup>109</sup>, empleando concentraciones más elevadas de peróxido de hidrógeno, concluyeron que éste era un promotor extremadamente débil. Además de los estudios en ratones con aplicación

sobre la piel, también se han evaluado los efectos colaterales al contacto del peróxido de hidrógeno en la cavidad bucal de hamsters. Weitzman et al<sup>153</sup> pincelaron la cara interna de las mejillas de hamsters dos veces a la semana con una solución al 0,25% de dimetilbenzantraceno (DMBA) durante 19 a 22 semanas y dos veces a la semana con peróxido de hidrógeno al 3% o 30% (al día siguiente de la aplicación de DMBA). No se advirtió ningún aumento significativo de carcinoma yugal en los hamsters tratados con DMBA y peróxido de hidrógeno al 3% cuando se comparó con la aplicación de DMBA solo. Sin embargo, sí se observó una tendencia hacia el aumento de carcinomas, cuando se empleó peróxido de hidrógeno al 30% en combinación con DMBA, lo que sugería que el peróxido de hidrógeno al 30% tenía un efecto de promoción sobre la carcinogénesis del DMBA. Sin embargo, la aplicación de peróxido de hidrógeno al 30% solo, dos veces a la semana durante 19 a 22 semanas, no inducía tumores, aunque sí se observaban cambios patológicos frecuentemente asociados a lesiones preneoplásicas.

Como posiblemente durante el blanqueamiento de dientes vitales se ingiere cierta cantidad de peróxido de hidrógeno (sobre todo durante el blanqueamiento mediante férula nocturna), es importante considerar el potencial efecto carcinogénico del peróxido de hidrógeno no sólo en la cavidad oral, sino también a nivel sistémico. En un estudio experimental en el que se exponía a ratones a peróxido de hidrógeno al 0,1% y 0,4% en el agua de bebida durante 100 semanas, se observó la aparición de un aumento de la incidencia dosis dependiente de hiperplasia duodenal 10 semanas después de la administración inicial de peróxido de hidrógeno. Después de 64 semanas, se observó un aumento pequeño pero estadísticamente significativo de carcinomas. De este estudio, los autores concluyeron que el peróxido de hidrógeno pudo aumentar la presentación espontánea de hiperplasia duodenal o de lesiones hiperplásicas que se transformaron en nódulos neoplásicos<sup>154</sup>. En otro estudio, los ratones fueron expuestos a peróxido de hidrógeno al 0,4% en el agua de bebida durante un período de hasta 700 días. Después de 90 días de exposición se encontraron erosión e hiperplasia del estómago y duodeno, así como cáncer duodenal. Las lesiones gástricas regresaron completamente en los ratones expuestos al peróxido de hidrógeno durante los 180 días siguientes a un período sin exposición de 30 días, pero algunas de las lesiones duodenales persistieron<sup>155</sup>.

A la luz de todos los estudios animales que se han llevado a cabo, la Agencia Internacional de Investigación

sobre el Cáncer<sup>156</sup> (AIIC) ha hablado sobre el potencial carcinogénico del peróxido de hidrógeno y ha concluido que la evidencia es limitada en el caso de los animales de experimentación e inadecuada en humanos. La AIIC basa sus conclusiones en el hecho de que el débil efecto de estimulación, promoción y/o carcinogénesis demostrado en algunos estudios animales ocurrió tras la exposición repetida a elevadas dosis de peróxido de hidrógeno, lo que hace que estos estudios no sean representativos de las bajas cantidades de peróxido de hidrógeno que se emplean en el blanqueamiento dental. Respecto al mecanismo de acción del peróxido de hidrógeno y a los estudios inapropiados que se han llevado a cabo sobre animales, se requiere ahora un estudio clínico a gran escala para excluir de forma definitiva el riesgo carcinogénico en pacientes que presentan susceptibilidades, como fallo de las defensas antioxidantes naturales, fallo de las enzimas reparadoras del ADN, o ingesta de alcohol y tabaco.

## Conclusión

La preocupación acerca de los efectos biológicos adversos de los productos de blanqueamiento ha generado numerosos estudios y publicaciones. La investigación disponible realizada sobre este aspecto parece apoyar la seguridad de uso del peróxido de hidrógeno en el blanqueamiento dentario en dientes vitales cuando el procedimiento es supervisado clínicamente. Los puntos más importantes son los siguientes:

1. Los productos de blanqueamiento no inducen alteraciones importantes sobre las estructuras de esmalte y dentina.
2. Los procedimientos restauradores deben retrasarse al menos 24 h después del blanqueamiento dental.
3. La sensibilidad dentaria es uno de los efectos adversos más importantes del blanqueamiento de dientes vitales y refleja una pulpitis reversible; ningún estudio ha reseñado efectos de pulpitis irreversible.
4. No existen evidencias a partir de los datos experimentales en animales de que el peróxido de hidrógeno empleado en los procedimientos de blanqueamiento (a esas dosis) presente riesgo de toxicidad y/o carcinogénesis.

## Agradecimientos

Los autores agradecen al Dr. Nicolas Matt y a Suzanne Leitz la lectura crítica de este trabajo y al Dr. Murie Rhinn su ayuda en la preparación del escrito.

## Bibliografía

1. Ten Bosch JJ, Coops JC. Tooth color and reflectance as related to light scattering and enamel hardness. *J Dent Res* 1995;74:374-380.
2. Hattab FN, Qudeimat MA, al-Rimawi HS. Dental discoloration: An overview. *J Esthet Dent* 1999;11: 291-310.
3. Watts A, Addy M. Tooth discolouration and staining: A review of the literature. *Br Dent J* 2001;190: 309-316.
4. Haywood VB. Bleaching of vital and nonvital teeth. *Curr Opin Dent* 1992;2:142-149.
5. Haywood VB. Commonly asked questions about nightguard vital bleaching. *Dent Assist* 1996;65:6-8, 10-12.
6. Barghi N. Making a clinical decision for vital tooth bleaching: At-home or in-office? *Compend Contin Educ Dent* 1998;19:831-838.
7. Heymann HO. Tooth whitening: Facts and fallacies. *Br Dent J* 2005;198:514.
8. Haywood VB. Nightguard vital bleaching: Current concepts and research. *J Am Dent Assoc* 1997; 128(suppl):19S-25S.
9. Sulieman M. An overview of bleaching techniques: 2. Night Guard Vital Bleaching and non-vital bleaching. *Dent Update* 2005;32:39-40, 42-44, 46.
10. Tavares M, Stultz J, Newman M, et al. Light augments tooth whitening with peroxide. *J Am Dent Assoc* 2003;134:167-175.
11. Luk K, Tam L, Hubert M. Effect of light energy on peroxide tooth bleaching. *J Am Dent Assoc* 2004;135: 194-201.
12. Goodson JM, Tavares M, Sweeney M, et al. Tooth whitening: Tooth color changes following treatment by peroxide and light. *J Clin Dent* 2005;16: 78-82.
13. Sulieman M, MacDonald E, Rees JS, Addy M. Comparison of three in-office bleaching systems based on 35% hydrogen peroxide with different light activators. *Am J Dent* 2005;18: 194-197.
14. Zekonis R, Matis BA, Cochran MA, Al Shetri SE, Eckert GJ, Carlson TJ. Clinical evaluation of in-office and at-home bleaching treatments. *Oper Dent* 2003; 28:114-121.
15. Auschill TM, Hellwig E, Schmidale S, Sculean A, Arweiler NB. Efficacy, side-effects and patients' acceptance of different bleaching techniques (OTC, in-office, at-home). *Oper Dent* 2005;30: 156-163.
16. Dietschi D, Rossier S, Krejci I. In vitro colorimetric evaluation of the efficacy of various bleaching methods and products. *Quintessence Int* 2006;37: 515-526.
17. Joiner A. The bleaching of teeth: A review of the literature. *J Dent* 2006;34:412-419.
18. Korytowski W, Sarna T. Bleaching of melanin pigments. Role of copper ions and hydrogen peroxide in autoxidation and photooxidation of synthetic dopa-melanin. *J Biol Chem* 1990;265:12410-12416.
19. Price RB, Sedarous M, Hiltz GS. The pH of tooth-whitening products. *J Can Dent Assoc* 2000;66: 421-426.
20. Leonard RH Jr, Bentley CD, Haywood VB. Salivary pH changes during 10% carbamide peroxide bleaching. *Quintessence Int* 1994;25:547-550.
21. Kashima-Tanaka M, Tsujimoto Y, Kawamoto K, Senda N, Ito K, Yamazaki M. Generation of free radicals and/or active oxygen by light or laser irradiation of hydrogen peroxide or sodium hypochlorite. *J Endod* 2003;29:141-143.
22. Poole AJ. Treatment of biorefractory organic compounds in wool scour effluent by hydroxyl radical oxidation. *Water Res* 2004;38: 3458-3464.
23. Valko M, Izakovic M, Mazur M, Rhodes CJ, Telser J. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol Cell Biochem* 2004;266:37-56.
24. Seghi RR, Denry I. Effects of external bleaching on indentation and abrasion characteristics of human enamel in vitro. *J Dent Res* 1992;71:1340-1344.
25. Hegedus C, Bistey T, Flora-Nagy E, Keszthelyi G, Jenei A. An atomic force microscopy study on the effect of bleaching agents on enamel surface. *J Dent* 1999;27:509-515.
26. Haywood VB, Leech T, Heymann HO, Crumpler D, Bruggers K. Nightguard vital bleaching: Effects on enamel surface texture and diffusion. *Quintessence Int* 1990;21:801-804.
27. White DJ, Kozak KM, Zoladz JR, Duschner HJ, Gotz H. Effects of tooth-whitening gels on enamel and dentin ultrastructure – A confocal laser scanning microscopy pilot study. *Compend Contin Educ Dent Suppl* 2000;(29):S29-34.
28. Leonard RH Jr, Eagle JC, Garland GE, Matthews KP, Rudd AL, Phillips C. Nightguard vital bleaching and its effect on enamel surface morphology. *J Esthet Restor Dent* 2001;13:132-139.
29. Lopes GC, Bonissoni L, Baratieri LN, Vieira LC, Monteiro S Jr. Effect of bleaching agents on the hardness and morphology of enamel. *J Esthet Restor Dent* 2002;14:24-30.
30. White DJ, Kozak KM, Zoladz JR, Duschner H, Gotz H. Peroxide interactions with hard tissues: Effects on surface hardness and surface/subsurface ultrastructural properties. *Compend Contin Educ Dent* 2002;23:42-48.
31. Yurdukorlu B, Akoren AC, Unsal MK. Alterations in human enamel surface morphology following the use of an office bleaching agent and consecutive application of 37% phosphoric acid in vivo. *J Clin Dent* 2003;14:103-107.
32. 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;32:581-590.
33. Ernst CP, Marroquin BB, Willershausen-Zonnchen B. Effects of hydrogen peroxide-containing bleaching agents on the morphology of human enamel. *Quintessence Int* 1996;27:53-56.
34. Ben-Amar A, Liberman R, Gorfil C, Bernstein Y. Effect of mouthguard bleaching on enamel surface. *Am J Dent* 1995;8:29-32.
35. Kwon YH, Huo MS, Kim KH, Kim SK, Kim YJ. Effects of hydrogen peroxide on the light reflectance and morphology of bovine enamel. *J Oral Rehabil* 2002; 29:473-477.
36. 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;15:154-164.
37. Yeh ST, Su Y, Lu YC, Lee SY. Surface changes and acid dissolution of enamel after carbamide peroxide bleach treatment. *Oper Dent* 2005;30:507-515.
38. 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;35:325-330.
39. Titley K, Torneck CD, Smith D. The effect of concentrated hydrogen peroxide solutions on the surface morphology of human tooth enamel. *J Endod* 1988; 14:69-74.
40. Hosoya N, Honda K, Iino F, Arai T. Changes in enamel surface roughness and adhesion of Streptococcus mutans to enamel after vital bleaching. *J Dent* 2003;31:543-548.
41. Cavalli V, Arrais CA, Giannini M, Ambrosano GM. High-concentrated carbamide peroxide bleaching agents effects on enamel surface. *J Oral Rehabil* 2004;31:155-159.
42. McGuckin RS, Babin JF, Meyer BJ. Alterations in human enamel surface morphology following vital bleaching. *J Prosthet Dent* 1992;68:754-760.
43. Bitter NC. A scanning electron microscopy study of the effect of bleaching agents on enamel: A preliminary report. *J Prosthet Dent* 1992;67:852-855.
44. Shannon H, Spencer P, Gross K, Tira D. Characterization of enamel exposed to 10% carbamide peroxide bleaching agents. *Quintessence Int* 1993;24: 39-44.
45. Josey AL, Meyers IA, Romanik K, Symons AL. The effect of a vital bleaching technique on enamel surface morphology and the bonding of composite resin to enamel. *J Oral Rehabil* 1996;23:244-250.
46. Murchison DF, Charlton DG, Moore BK. Carbamide peroxide bleaching: Effects on enamel surface hardness and bonding. *Oper Dent* 1992;17: 181-185.

47. Nathoo SA, Chmielewski MB, Kirkup RE. Effects of Colgate Platinum Professional Toothwhitening System on microhardness of enamel, dentin, and composite resins. *Compend Suppl* 1994;S627-630.
48. Potocnik I, Kosec L, Gaspersic D. Effect of 10% carbamide peroxide bleaching gel on enamel microhardness, microstructure, and mineral content. *J Endod* 2000;26:203-206.
49. White DJ, Kozak KM, Zoladz JR, Duschner HJ, Gotz H. Effects of Crest Whitestrips bleaching on surface morphology and fracture susceptibility of teeth in vitro. *J Clin Dent* 2003;14:82-87.
50. Unlu N, Cobankara FK, Altinoz C, Ozer F. Effect of home bleaching agents on the microhardness of human enamel and dentin. *J Oral Rehabil* 2004;31: 57-61.
51. Basting RT, Rodrigues Junior AL, Serra MC. The effect of 10% carbamide peroxide bleaching material on microhardness of sound and demineralized enamel and dentin in situ. *Oper Dent* 2001;26:531-539.
52. Rodrigues JA, Basting RT, Serra MC, Rodrigues Junior AL. Effects of 10% carbamide peroxide bleaching materials on enamel microhardness. *Am J Dent* 2001;14:67-71.
53. Basting RT, Rodrigues AL Jr, Serra MC. The effects of seven carbamide peroxide bleaching agents on enamel microhardness over time. *J Am Dent Assoc* 2003;134:1335-1342.
54. Lewinstein I, Fuhrer N, Churaru N, Cardash H. Effect of different peroxide bleaching regimens and subsequent fluoridation on the hardness of human enamel and dentin. *J Prosthet Dent* 2004;92: 337-342.
55. Basting RT, Rodrigues AL Jr, Serra MC. The effect of 10% carbamide peroxide, carbopol and/or glycerin on enamel and dentin microhardness. *Oper Dent* 2005;30:608-616.
56. Lippert F, Parker DM, Jandt KD. In vitro demineralization/remineralization cycles at human tooth enamel surfaces investigated by AFM and nanoindentation. *J Colloid Interface Sci* 2004;280:442-448.
57. Efeoglu N, Wood D, Efeoglu C. Microcomputerised tomography evaluation of 10% carbamide peroxide applied to enamel. *J Dent* 2005;33:561-567.
58. McCracken MS, Haywood VB. Demineralization effects of 10 percent carbamide peroxide. *J Dent* 1996;24:395-398.
59. de Freitas PM, Basting RT, Rodrigues JA, Serra MC. Effects of two 10% peroxide carbamide bleaching agents on dentin microhardness at different time intervals. *Quintessence Int* 2002;33:370-375.
60. Arcari GM, Baratieri LN, Maia HP, De Freitas SF. Influence of the duration of treatment using a 10% carbamide peroxide bleaching gel on dentin surface microhardness: An in situ study. *Quintessence Int* 2005;36:15-24.
61. Tam LE, Abdool R, El-Badrawy W. Flexural strength and modulus properties of carbamide peroxide- treated bovine dentin. *J Esthet Restor Dent* 2005; 17:359-367.
62. Rotstein I, Dankner E, Goldman A, Heling I, Stabholz A, Zalkind M. Histochemical analysis of dental hard tissues following bleaching. *J Endod* 1996;22:23-25.
63. Kawamoto K, Tsujimoto Y. Effects of the hydroxyl radical and hydrogen peroxide on tooth bleaching. *J Endod* 2004;30:45-50.
64. Al-Qunaian TA. The effect of whitening agents on caries susceptibility of human enamel. *Oper Dent* 2005;30:265-270.
65. Pretty IA, Edgar WM, Higham SM. The effect of bleaching on enamel susceptibility to acid erosion and demineralisation. *Br Dent J* 2005;198:285-290.
66. Stokes AN, Hood JA, Dhariwal D, Patel K. Effect of peroxide bleaches on resin-enamel bonds. *Quintessence Int* 1992;23:769-771.
67. Titley KC, Torneck CD, Ruse ND, Krmec D. Adhesion of a resin composite to bleached and unbleached human enamel. *J Endod* 1993;19:112-115.
68. Garcia-Godoy F, Dodge WW, Donohue M, O'Quinn JA. Composite resin bond strength after enamel bleaching. *Oper Dent* 1993;18:144-147.
69. Dishman MV, Covey DA, Baughan LW. The effects of peroxide bleaching on composite to enamel bond strength. *Dent Mater* 1994;10:33-36.
70. Lai SC, Tay FR, Cheung GS, et al. Reversal of compromised bonding in bleached enamel. *J Dent Res* 2002;81:477-481.
71. Kum KY, Lim KR, Lee CY, et al. Effects of removing residual peroxide and other oxygen radicals on the shear bond strength and failure modes at resin-tooth interface after tooth bleaching. *Am J Dent* 2004;17:267-270.
72. Torneck CD, Titley KC, Smith DC, Adibfar A. The influence of time of hydrogen peroxide exposure on the adhesion of composite resin to bleached bovine enamel. *J Endod* 1990;16:123-128.
73. Titley KC, Torneck CD, Smith DC, Cherneky R, Adibfar A. Scanning electron microscopy observations on the penetration and structure of resin tags in bleached and unbleached bovine enamel. *J Endod* 1991;17:72-75.
74. Spyrides GM, Perdigão J, Pagani C, Araujo MA, Spyrides SM. Effect of whitening agents on dentin bonding. *J Esthet Dent* 2000;12:264-270.
75. Kaya AD, Turkun M. Reversal of dentin bonding to bleached teeth. *Oper Dent* 2003;28:825-829.
76. Miguel LC, Baratieri LN, Monteiro S Jr, Ritter AV. In situ effect of 10% carbamide peroxide on resin-dentin bond strengths: A novel pilot study. *J Esthet Restor Dent* 2004;16:235-241.
77. Cavalli V, Reis AF, Giannini M, Ambrosano GM. The effect of elapsed time following bleaching on enamel bond strength of resin composite. *Oper Dent* 2001;26:597-602.
78. Adibfar A, Steele A, Torneck CD, Titley KC, Ruse D. Leaching of hydrogen peroxide from bleached bovine enamel. *J Endod* 1992; 18:488-491.
79. Nathanson D, Parra C. Bleaching vital teeth: A review and clinical study. *Compendium* 1987;8:490-492, 494, 496-497.
80. Schulte JR, Morrisette DB, Gasior EJ, Czajewski MV. The effects of bleaching application time on the dental pulp. *J Am Dent Assoc* 1994;125:1330-1335.
81. Haywood VB, Leonard RH, Nelson CF, Brunson WD. Effectiveness, side effects and long-term status of nightguard vital bleaching. *J Am Dent Assoc* 1994;125:1219-1226.
82. Matis BA, Cochran MA, Eckert G, Carlson TJ. The efficacy and safety of a 10% carbamide peroxide bleaching gel. *Quintessence Int* 1998;29:555-563.
83. Tam L. Clinical trial of three 10% carbamide peroxide bleaching products. *J Can Dent Assoc* 1999; 65:201-205.
84. Leonard RH Jr, Bentley C, Eagle JC, Garland GE, Knight MC, Phillips C. Nightguard vital bleaching: A long-term study on efficacy, shade retention, side effects, and patients' perceptions. *J Esthet Restor Dent* 2001;13:357-369.
85. Jorgensen MG, Carroll WB. Incidence of tooth sensitivity after home whitening treatment. *J Am Dent Assoc* 2002;133:1076-1082.
86. Pohjola RM, Browning WD, Hackman ST, Myers ML, Downey MC. Sensitivity and tooth whitening agents. *J Esthet Restor Dent* 2002;14:85-91.
87. Leonard RH Jr, Haywood VB, Phillips C. Risk factors for developing tooth sensitivity and gingival irritation associated with nightguard vital bleaching. *Quintessence Int* 1997;28:527-534.
88. Haywood VB, Caughman WF, Frazier KB, Myers ML. Tray delivery of potassium nitrate-fluoride to reduce bleaching sensitivity. *Quintessence Int* 2001;32:105-109.
89. Leonard RH Jr, Smith LR, Garland GE, Caplan DJ. Desensitizing agent efficacy during whitening in an at-risk population. *J Esthet Restor Dent* 2004;16: 49-55.
90. Cooper JS, Bokmeyer TJ, Bowles WH. Penetration of the pulp chamber by carbamide peroxide bleaching agents. *J Endod* 1992;18: 315-317.
91. Pugh G Jr, Zaidel L, Lin N, Stranick M, Bagley D. High levels of hydrogen peroxide in overnight tooth-whitening formulas: Effects on enamel and pulp. *J Esthet Restor Dent* 2005;17:40-45.
92. Benetti AR, Valera MC, Mancini MN, Miranda CB, Balducci I. In vitro penetration of bleaching agents into the pulp chamber. *Int Endod J* 2004;37: 120-124.
93. Gokay O, Mujdeci A, Algn E. Peroxide penetration into the pulp from whitening strips. *J Endod* 2004;30:887-889.

94. Gokay O, Tuncbilek M, Ertan R. Penetration of the pulp chamber by carbamide peroxide bleaching agents on teeth restored with a composite resin. *J Oral Rehabil* 2000;27:428-431.
95. Gokay O, Yilmaz F, Akin S, Tuncbilek M, Ertan R. Penetration of the pulp chamber by bleaching agents in teeth restored with various restorative materials. *J Endod* 2000;26:92-94.
96. Fugaro JO, Nordahl I, Fugaro OJ, Matis BA, Mjor IA. Pulp reaction to vital bleaching. *Oper Dent* 2004; 29:363-368.
97. Fugaro OJ, Fugaro JO, Matis B, Gregory RL, Cochran MA, Mjor I. The dental pulp: Inflammatory markers and vital bleaching. *Am J Dent* 2005;18:229-232.
98. Seale NS, McIntosh JE, Taylor AN. Pulpal reaction to bleaching of teeth in dogs. *J Dent Res* 1981;60: 948-953.
99. Eldeniz AU, Usumez A, Usumez S, Ozturk N. Pulpal temperature rise during light-activated bleaching. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2005;72: 254-259.
100. Sulieman M, Addy M, Rees JS. Surface and intra-pulpal temperature rises during tooth bleaching: An in vitro study. *Br Dent J* 2005;199:37-40.
101. Zach L, Cohen G. Pulp response to externally applied heat. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1965; 19:515-530.
102. Bowles WH, Ugwuener Z. Pulp chamber penetration by hydrogen peroxide following vital bleaching procedures. *J Endod* 1987; 13:375-377.
103. Bowles WH, Burns H Jr. Catalase/peroxidase activity in dental pulp. *J Endod* 1992;18:527-534.
104. Hanks CT, Fat JC, Wataha JC, Corcoran JF. Cytotoxicity and dentin permeability of carbamide peroxide and hydrogen peroxide vital bleaching materials, in vitro. *J Dent Res* 1993;72:931-938.
105. Thitinanthapan W, Satamanont P, Vongsavan N. In vitro penetration of the pulp chamber by three brands of carbamide peroxide. *J Esthet Dent* 1999; 11:259-264.
106. Lee DH, Lim BS, Lee YK, Yang HC. Effects of hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) on alkaline phosphatase activity and matrix mineralization of odontoblast and osteoblast cell lines. *Cell Biol Toxicol* 2006;22:39-46.
107. Ritter AV, Leonard RH Jr, St Georges AJ, Caplan DJ, Haywood VB. Safety and stability of nightguard vital bleaching: 9 to 12 years post-treatment. *J Esthet Restor Dent* 2002;14:275-285.
108. Rotstein I, Wesselink PR, Bab I. Catalase protection against hydrogen peroxide – induced injury in rat oral mucosa. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1993; 75:744-750.
109. Klein-Szanto AJ, Slaga TJ. Effects of peroxides on rodent skin: Epidermal hyperplasia and tumor promotion. *J Invest Dermatol* 1982;79:30-34.
110. Dahl JE, Becher R. Acute toxicity of carbamide peroxide and a commercially available tooth-bleaching agent in rats. *J Dent Res* 1995;74:710-714.
111. Cherry DV, Bowers DE Jr, Thomas L, Redmond AF. Acute toxicological effects of ingested tooth whiteners in female rats. *J Dent Res* 1993;72: 1298-1303.
112. Li Y. Biological properties of peroxide-containing tooth whiteners. *Food Chem Toxicol* 1996;34: 887-904.
113. Giberson TP, Kern JD, Pettigrew DW 3rd, Eaves CC Jr, Haynes JF Jr. Near-fatal hydrogen peroxide ingestion. *Ann Emerg Med* 1989;18:778-779.
114. Rackoff WR, Merton DF. Gas embolism after ingestion of hydrogen peroxide. *Pediatrics* 1990;85: 593-594.
115. Humberston CL, Dean BS, Krenzelok EP. Ingestion of 35% hydrogen peroxide. *J Toxicol Clin Toxicol* 1990; 28:95-100.
116. Luu TA, Kelley MT, Strauch JA, Avradopoulos K. Portal vein gas embolism from hydrogen peroxide ingestion. *Ann Emerg Med* 1992;21:1391-1393.
117. Christensen DW, Faught WE, Black RE, Woodward GA, Timmons OD. Fatal oxygen embolization after hydrogen peroxide ingestion. *Crit Care Med* 1992; 20:543-544.
118. Sherman SJ, Boyer LV, Sibley WA. Cerebral infarction immediately after ingestion of hydrogen peroxide solution. *Stroke* 1994; 25:1065-1067.
119. Cina SJ, Downs JC, Conradi SE. Hydrogen peroxide: A source of lethal oxygen embolism. Case report and review of the literature. *Am J Forensic Med Pathol* 1994;15:44-50.
120. Dickson KF, Caravati EM. Hydrogen peroxide exposure – 325 exposures reported to a regional poison control center. *J Toxicol Clin Toxicol* 1994;32: 705-714.
121. Ijichi T, Itoh T, Sakai R, et al. Multiple brain gas embolism after ingestion of concentrated hydrogen peroxide. *Neurology* 1997;48: 277-279.
122. Weiner ML, Freeman C, Trochimowicz H, et al. 13-week drinking water toxicity study of hydrogen peroxide with 6-week recovery period in catalase-deficient mice. *Food Chem Toxicol* 2000;38: 607-615.
123. Dahl JE, Pallesen U. Tooth bleaching – A critical review of the biological aspects. *Crit Rev Oral Biol Med* 2003;14:292-304.
124. Hannig C, Zech R, Henze E, Dorr-Tolui R, Attin T. Determination of peroxides in saliva – Kinetics of peroxide release into saliva during home-bleaching with Whitestrips and Vivastyle. *Arch Oral Biol* 2003;48:559-566.
125. Hannig C, Zech R, Henze E, Dreier S, Attin T. Peroxide release into saliva from five different home bleaching systems in vivo. *Am J Dent* 2005;18:13-18.
126. Hannig C, Willenbacher S, Becker K, Mahony C, Attin T. Recovery of peroxides in saliva during home bleaching – Influence of smoking. *J Oral Rehabil* 2006;33:533-541.
127. Matis BA, Gaiao U, Blackman D, Schultz FA, Eckert GJ. In vivo degradation of bleaching gel used in whitening teeth. *J Am Dent Assoc* 1999;130: 227-235.
128. Matis BA. Degradation of gel in tray whitening. *Compend Contin Educ Dent Suppl* 2000;S28, S31-25.
129. Matis BA, Yousef M, Cochran MA, Eckert GJ. Degradation of bleaching gels in vivo as a function of tray design and carbamide peroxide concentration. *Oper Dent* 2002;27:12-18.
130. Al-Qunaian TA, Matis BA, Cochran MA. In vivo kinetics of bleaching gel with three-percent hydrogen peroxide within the first hour. *Oper Dent* 2003;28:236-241.
131. Waris G, Ahsan H. Reactive oxygen species: Role in the development of cancer and various chronic conditions. *J Carcinog* 2006; 5:14.
132. Sheu SS, Nauduri D, Anders MW. Targeting antioxidants to mitochondria: A new therapeutic direction. *Biochim Biophys Acta* 2006;1762:256-265.
133. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* 2006;160: 1-40.
134. Laval J. Role of DNA repair enzymes in the cellular resistance to oxidative stress. *Pathol Biol (Paris)* 1996;44:14-24.
135. Floyd RA. The effect of peroxides and free radicals on body tissues. *J Am Dent Assoc* 1997; 128(suppl):37S-40S.
136. Rosen JE, Prahalad AK, Williams GM. 8-Oxodeoxyguanosine formation in the DNA of cultured cells after exposure to  $H_2O_2$  alone or with UVB or UVA irradiation. *Photochem Photobiol* 1996; 64: 117-122.
137. Shibusawa S, Takeshita M, Grollman AP. Insertion of specific bases during DNA synthesis past the oxidation-damaged base 8-oxodG. *Nature* 1991;349: 431-434.
138. Moriya M. Single-stranded shuttle phagemid for mutagenesis studies in mammalian cells: 8-oxoguanine in DNA induces targeted G-C→T,A transversions in simian kidney cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993;90:1122-1126.
139. Cheng KC, Cahill DS, Kasai H, Nishimura S, Loeb LA. 8-Hydroxyguanine, an abundant form of oxidative DNA damage, causes G-T and A-C substitutions. *J Biol Chem* 1992;267:166-172.
140. Hussain SP, Harris CC. Molecular epidemiology of human cancer: Contribution of mutation spectra studies of tumor suppressor genes. *Cancer Res* 1998;58:4023-4037.
141. Diaz-Llera S, Podlutsky A, Osterholm AM, Hou SM, Lambert B. Hydrogen peroxide induced mutations at the HPRT locus in primary human T-lymphocytes. *Mutat Res* 2000;469:51-61.

142. Ribeiro DA, Marques ME, Salvadori DM. Assessment of genetic damage induced by dental bleaching agents on mouse lymphoma cells by single cell gel (comet) assay. *J Oral Rehabil* 2005;32:766-771.
143. Ribeiro DA, Marques ME, Salvadori DM. Study of DNA damage induced by dental bleaching agents in vitro. *Pesqui Odontol Bras* 2006;20:47-51.
144. Speit G, Vogel W, Wolf M. Characterization of sister chromatid exchange induction by hydrogen peroxide. *Environ Mutagen* 1982; 4:135-142.
145. Estervig D, Wang RJ. Sister chromatid exchanges and chromosome aberrations in human cells induced by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and other photo-products generated in fluorescent light-exposed medium. *Photochem Photobiol* 1984;40:333-336.
146. Miyachi T, Tsutsui T. Ability of 13 chemical agents used in dental practice to induce sister-chromatid exchanges in Syrian hamster embryo cells. *Odontology* 2005;93:24-29.
147. DeSesso JM, Lavin AL, Hsia SM, Mavis RD. Assessment of the carcinogenicity associated with oral exposures to hydrogen peroxide. *Food Chem Toxicol* 2000;38:1021-1041.
148. McGregor DB, Edwards I, Wolf CR, Forrester LM, Caspary WJ. Endogenous xenobiotic enzyme levels in mammalian cells. *Mutat Res* 1991;261:29-39.
149. Sun Y, Oberley LW, Elwell JH, Sierra-Rivera E. Antioxidant enzyme activities in normal and transformed mouse liver cells. *Int J Cancer* 1989;44:1028-1033.
150. MacRae WD, Stich HF. Induction of sister-chromatid exchanges in Chinese hamster ovary cells by thiol and hydrazine compounds. *Mutat Res* 1979;68:351-365.
151. Mehnert K, During R, Vogel W, Speit G. Differences in the induction of SCEs between human whole blood cultures and purified lymphocyte cultures and the effect of an S9 mix. *Mutat Res* 1984;130:403-410.
152. Kurokawa Y, Takamura N, Matsushima Y, Imazawa T, Hayashi Y. Studies on the promoting and complete carcinogenic activities of some oxidizing chemicals in skin carcinogenesis. *Cancer Lett* 1984;24:299-304.
153. Weitzman SA, Weitberg AB, Stossel TP, Schwartz J, Shklar G. Effects of hydrogen peroxide on oral carcinogenesis in hamsters. *J Periodontol* 1986;57:685-688.
154. Ito A, Watanabe H, Naito M, Naito Y. Induction of duodenal tumors in mice by oral administration of hydrogen peroxide. *Gann* 1981;72:174-175.
155. Ito A, Naito M, Naito Y, Watanabe H. Induction and characterization of gastro-duodenal lesions in mice given continuous oral administration of hydrogen peroxide. *Gann* 1982;73:315-322.
156. International Agency on Research on Cancer. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Vol. 71: Re-evaluation of Some Organic Chemicals, Hydrazine and Hydrogen Peroxide. Lyon: IARC, 1999.