
INFLUENCIA DEL TIEMPO POSBLANQUEAMIENTO SOBRE LA ADHESIÓN DE UNA RESINA COMPUESTA AL ESMALTE DENTAL¹

INFLUENCE OF POST-BLEACHING TIME ON A COMPOSITE RESIN BOND STRENGTH TO ENAMEL¹

PAULA ALEJANDRA BALDIÓN ELORZA²

RESUMEN. *Introducción:* a pesar de las ventajas estéticas del blanqueamiento dental, se ha demostrado que puede producir alteraciones en la adhesión de las resinas compuestas al esmalte dental, proceso dependiente de la concentración residual de radicales libres de oxígeno en la superficie y subsuperficie del esmalte por la degradación del peróxido de hidrógeno del agente blanqueador. El objetivo del estudio fue evaluar el efecto del peróxido de hidrógeno sobre la resistencia de unión de una resina compuesta al esmalte dental en diferentes intervalos de tiempo posterior al blanqueamiento dental. *Métodos:* se seleccionaron 90 premolares humanos divididos en 6 grupos: el grupo control al que solo se le hizo técnica adhesiva y 5 grupos de estudio, a los cuales se les aplicó el agente blanqueador para luego hacer la técnica adhesiva a cada grupo en diferentes intervalos de tiempo posterior al blanqueamiento dental (0, 1, 7, 14 y 28 días) para luego determinar la resistencia de unión al corte de la resina adherida al esmalte dental. Los datos fueron analizados mediante la prueba ANOVA con la prueba estadística F y las comparaciones múltiples de Fisher y Duncan, con valores de $p < 0,05$ como diferencias estadísticamente significativas. *Resultados:* los valores de adhesión en los grupos con blanqueamiento de los 0 a los 28 días fueron estadísticamente menores al grupo control. *Conclusiones:* el peróxido de hidrógeno reduce los valores de adhesión al esmalte dental. El tiempo posblanqueamiento es determinante para recuperar la resistencia de unión de la resina compuesta a la estructura dental.

Palabras clave: esmalte, adhesión dental, blanqueamiento dental, resinas compuestas, peróxido de hidrógeno.

Baldión PA. Influencia del tiempo posblanqueamiento sobre la adhesión de una resina compuesta al esmalte dental. Rev Fac Odontol Univ Antioq 2013; 25(1): 92-116.

ABSTRACT. *Introduction:* despite the aesthetic advantages of tooth whitening, it has been shown to alter the adhesion of composite resins to enamel—a process determined by the residual concentration of oxygen-free radicals on the enamel's surface and subsurface due to degradation of the bleaching agents' hydrogen peroxide—. The goal of this study was to evaluate the effect of hydrogen peroxide on a composite resin's bond strength to enamel in different time intervals after whitening. *Methods:* 90 human premolars were selected and sorted out in 6 groups: the control group, which was subjected to the adhesive technique only, and five study groups treated with the bleaching agent and each of them being later subjected to the adhesive technique at different time intervals after whitening (0, 1, 7, 14, and 28 days), in order to determine the shear bond strength of the resin adhered to enamel. The obtained data were analyzed by means of the ANOVA test with the F statistical test and Fisher & Duncan multiple comparisons, using p values of <0.05 as statistically significant differences. *Results:* the groups undergoing bleaching from 0 to 28 days presented adhesion values statistically lower than those of the control group. *Conclusions:* hydrogen peroxide reduces the values of adhesion to enamel. Post-bleaching time is crucial to recover the composite resin bonding strength to dental structure.

Key words: enamel, dental bonding, tooth whitening, composite resin, hydrogen peroxide.

Baldión PA. Influence of post-bleaching time on a composite resin bond strength to enamel. Rev Fac Odontol Univ Antioq 2013; 25(1) 92-116.

-
- 1 Artículo derivado de trabajo para optar por la categoría de Profesor asociado. Grupo de Investigación en Materiales dentales (GRIMAD). Apoyo institucional de la Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Colombia.
 - 2 Odontóloga, especialista en Rehabilitación Oral, Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Colombia. Docente, Departamento de Salud Oral, Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá.

- 1 Article derived from a research project to opt to the category of Associate Professor. Grupo de Investigación en Materiales Dentales (GRIMAD). With institutional support from Universidad Nacional de Colombia School of Dentistry.
- 2 Dentist, Specialist in Oral Rehabilitation, Faculty of Dentistry, Universidad Nacional de Colombia. Professor, Department of Oral Health, School of Dentistry, Universidad Nacional de Colombia at Bogotá.

INTRODUCCIÓN

En múltiples investigaciones como las de Dishman y colaboradores,¹ van der Vyver y colaboradores,² Homewood y colaboradores³ y Cappeletto y colaboradores⁴ se han descrito los efectos de los agentes blanqueadores sobre los tejidos dentales y la adhesión de las resinas compuestas posteriores al tratamiento de blanqueamiento dental. Sin embargo, lo que se sabe sobre cómo minimizar o revertir los efectos indeseables aún está en estudio, y en la actualidad es una preocupación importante determinar la mejor manera de hacer un procedimiento clínico estéticamente exitoso y que además, brinde seguridad biológica, disminuyendo los efectos adversos durante y después del tratamiento sobre los tejidos orales y los materiales dentales.^{5, 6} Por esta razón, se requieren estudios que sustenten alternativas de protocolos clínicos que mejoren el pronóstico de las restauraciones adhesivas posblanqueamiento.

Cobankara y colaboradores,⁷ y Pinto y colaboradores,⁸ han reportado alteraciones producidas por la aplicación de agentes blanqueadores sobre la estructura dental como cambios microestructurales y rugosidades del esmalte dental valoradas por microscopía electrónica. Gotz y colaboradores⁹ demostraron cambios en la composición química del esmalte por pérdida del contenido mineral y alteración en la fluorescencia y deshidratación dental.

Claus¹⁰ y Moreira de Freitas y colaboradores¹¹ reportan disminución de la dureza superficial y de la resistencia al desgaste de la estructura del esmalte y la dentina. Estos inconvenientes han sido atribuidos al mecanismo de acción de los agentes blanqueadores, el cual se fundamenta en la degradación del peróxido de hidrógeno; que es una sustancia altamente reactiva e inestable con capacidad de descomponerse lentamente en oxígeno y agua con liberación de calor. La velocidad de descomposición puede aumentar en presencia de catalizadores, desencadenando una reacción redox o de óxido-reducción que consiste en una transferencia de electrones entre las sustancias reactivas dando lugar a un cambio en los estados de oxidación de estas con respecto a los productos.¹²

INTRODUCTION

The effects of bleaching agents on both dental tissues and composite resins' bond strength after whitening have been described in numerous studies including the ones by Dishman et al,¹ van der Vyver et al,² Homewood et al,³ and Cappeletto et al.⁴ However, the ways to minimize or reverse undesirable effects are still under study, and there is currently much concern in determining the best way to perform aesthetically successful clinical procedures while at the same time providing biological safety, reducing side effects during and after treating oral tissues and dental materials.^{5, 6} For this reason, more studies are required to substantiate alternative clinical protocols to improve the prognosis of adhesive restorations after whitening.

Cobankara et al⁷ and Pinto et al⁸ have reported alterations produced by applying bleaching agents on dental structures such as microstructural changes and tooth enamel roughness, evaluated by electron microscopy. Gotz et al⁹ showed changes in the enamel's chemical composition due to mineral content loss, as well as alterations in dental fluorescence and dehydration.

Claus¹⁰ and Moreira de Freitas et al¹¹ reported decreased surface hardness and wear resistance of the structure of both enamel and dentin. These drawbacks have been attributed to the bleaching agents' mechanism of action, which is based on degradation of hydrogen peroxide—a highly reactive, unstable substance capable of slowly breaking down into oxygen and water with heat release—. Decomposition rates may increase in the presence of catalysts, triggering a redox reaction or an oxidation-reduction reaction consisting of electron transfers between the reacting substances leading to a change in their oxidation states in relation to the products.¹²

El peróxido de hidrógeno actúa como un agente oxidante que tiende a captar los electrones del medio quedando reducido; mientras que las moléculas de pigmentos de cadenas moleculares largas que se encuentran inmersas en la estructura funcionan como un agente reductor que suministra electrones de su estructura química al medio siendo oxidado, generándose un rompimiento de enlaces simples y dobles de las cadenas conjugadas extensas. Este proceso químico resulta en la conversión de pigmentos oscuros o cromóforos que frecuentemente incluyen heteroátomos, carbonilos y anillos fenílicos,¹³ a estructuras de cadenas moleculares lineales no saturadas débilmente pigmentadas hasta convertirse en estructuras hidrofílicas no pigmentadas que facilitan el paso de la luz a través de la estructura del esmalte dental hasta llegar al denominado “punto de saturación”,¹⁴ que se define como el fraccionamiento completo de las cadenas lineales de pigmentos.

Las moléculas de oxígeno gaseoso liberadas tienen la capacidad de penetrar a través de la estructura por vías naturales de permeabilidad del esmalte dental como son las vainas de los prismas, la matriz intercristalina, las estrías de Retzius, las lamelas del esmalte y los cuerpos fusiformes o husos adamantinos¹⁵ o por zonas porosas creadas por desmineralización asociadas al bajo pH de algunos agentes blanqueadores.¹⁶

Los radicales de oxígeno son moléculas muy pequeñas que penetran fácilmente y son altamente reactivas debido a la presencia de una capa de electrones de valencia no apareada, su reactividad depende de las condiciones de la reacción, incluyendo la temperatura, el pH, la luz y la presencia de metales de transición.¹³ El peróxido de hidrógeno es capaz de producir diferentes tipos de especies reactivas de oxígeno (ROS); bajo condiciones alcalinas, el peróxido de hidrógeno procede vía el anión perhidroxil (HO_2^-) y bajo condiciones diferentes de pH se forman radicales libres tipo: anión superóxido ($\text{O}_2^{\cdot -}$) y el anión hidroxilo (OH^-),^{13, 17} que se pueden presentar a partir de la reacción de Fenton, que involucra la presencia de iones y subespecies metálicas o por la reacción de Haber-Weiss a partir de peróxido de hidrógeno y superóxido, generando radicales (OH^-).¹⁸

Hydrogen peroxide acts as an oxidizing agent that tends to capture electrons from the environment and is therefore reduced, while pigment molecules of long molecular chains that are embedded in a given structure function as a reducing agent that provides the environment being oxidized with electrons of its chemical structure, breaking the single and double bonds of extended conjugated chains. This chemical process results in the transformation from dark pigments or chromophores, which often include heteroatoms, carbonyl and phenyl rings,¹³ to structures of unsaturated linear molecular chains weakly pigmented that later become nonpigmented hydrophilic structures that facilitate the passage of light through the enamel structure until reaching the so-called “saturation point”,¹⁴ defined as the complete fractionation of linear chains of pigments.

The released gaseous oxygen molecules have the ability to penetrate the enamel through its natural permeability canals, such as prism sheaths, the intercrystalline matrix, Retzius striae, enamel lamellae, and spindle bodies or adamantine spindles,¹⁵ or through porous areas produced by demineralization associated with the low pH of certain bleaching agents.¹⁶

Oxygen radicals are very small molecules easily penetrable and they are highly reactive due to the presence of a layer of unpaired valence electrons; their reactivity depends on the reaction conditions, including temperature, pH, light, and the presence of transition metals.¹³ Hydrogen peroxide can produce different types of reactive oxygen species (ROS); under alkaline conditions, hydrogen peroxide works via the hydroperoxyl anion (HO_2^-) and under different pH conditions certain free radicals are formed, such as the superoxide anion ($\text{O}_2^{\cdot -}$) and the hydroxyl anion (OH^-),^{13, 17} which may result from either the Fenton reaction, which involves the presence of metal ions and subspecies, or the Haber-Weiss reaction from peroxide hydrogen and superoxide, thus producing radicals (OH^-).¹⁸

El estrés oxidativo se ha definido como el fenómeno por el cual se desencadenan alteraciones significativas en las estructuras, esto es debido a la exposición de tejidos vitales a diversas fuentes que producen una ruptura del equilibrio que debe existir entre la cantidad de especies reactivas de oxígeno y las sustancias o factores prooxidantes y los mecanismos antioxidantes (como la peroxidasa) encargados de eliminar dichas especies químicas.¹⁹ Este mecanismo, en el caso del blanqueamiento dental, no se regula adecuadamente por el incremento exagerado en la producción de especies reactivas del oxígeno a partir de la utilización de peróxidos de carbamida e hidrógeno o de perborato de sodio.²⁰

Mc Guckin y colaboradores²⁰ y Titley y colaboradores²¹ han reportado que la presencia de peróxido residual u oxígeno liberado por los agentes de blanqueamiento, además de tener un potencial nocivo sobre los tejidos bucales, pueden inhibir el proceso de polimerización de los sistemas adhesivos y las resinas compuestas, por interrupción en la conformación de la red tridimensional de la cadena larga de polímero de las resinas a base de metacrilato, disminuyendo el grado de conversión. Como consecuencia de este fenómeno, se reporta una disminución de la fuerza adhesiva que ha llevado a sugerir por parte de varios autores como van der Vyver y colaboradores,² Cappeletto y colaboradores,⁴ Carvalli y colaboradores,²² Rotstein y colaboradores,²³ Shinora y colaboradores²⁴ y Sung y colaboradores²⁵ que los procedimientos restaurativos deben postergarse de dos a cuatro semanas después del blanqueamiento dental, ya que la reducción de la resistencia de unión ha demostrado ser transitoria.²⁴

Dishman y colaboradores,¹ reportan una disminución en la adhesión al esmalte dental luego de la aplicación de peróxido de hidrógeno al 25%, resultado que atribuyen a una formación inadecuada de las interdigitaciones del adhesivo en la interfase resina-esmalte.

Shinohara y colaboradores²⁴ demostraron que los valores de resistencia de unión al corte posblanqueamiento son dependientes del tiempo, por lo que recomiendan esperar dos semanas después del blanqueamiento dental para

Oxidative stress has been defined as a phenomenon that triggers significant structure changes due to exposure of vital tissues to various sources that may alter the necessary balance between the amount of reactive oxygen species and prooxidant substances or factors and antioxidant mechanisms (such as peroxidase)—responsible for eliminating such chemical species—.¹⁹ In the case of whitening, this mechanism is not properly regulated due to an excessive increase in the production of reactive oxygen species as a result of using carbamide peroxide or hydrogen and sodium perborate.²⁰

Mc Guckin et al²⁰ and Titley et al²¹ have reported that the presence of residual peroxide or oxygen released by bleaching agents, besides having a potential deleterious influence on oral tissues, may inhibit the polymerization process of both adhesive systems and composite resins by interrupting the formation of the three-dimensional net of the long polymer chain of methacrylate-based resins, reducing their conversion degree. As a consequence, a bond strength decrease has been reported, which leads several authors, including van der Vyver et al,² Cappeletto et al,⁴ Carvalli et al,²² Rotstein et al,²³ Shinora et al²⁴ and Sung et al,²⁵ to suggest that restorative procedures should be postponed for two to four weeks after whitening, since the reduction of bonding strength has proven to be transient.²⁴

Dishman et al¹ reported a decrease in adhesion to dentin after applying 25% hydrogen peroxide—a result they attribute to inadequate formation of the adhesive interdigitations at the resin-enamel interface.

Shinohara et al²⁴ showed that the values of shear bond strength after whitening are time dependent, so they recommend waiting two weeks after teeth whitening to

poder hacer restauraciones adhesivas satisfactorias en esmalte y dentina; hallazgos similares a los reportados por van der Vyver y colaboradores² quienes describen el mismo fenómeno de disminución en los valores de fuerza adhesiva cuando se aplicaba peróxido de carbamida y este era activado por luz.

Sung y colaboradores²⁵ concluyeron que la resistencia de unión adhesiva al esmalte dental se disminuía con la aplicación previa de un agente blanqueador a base de peróxido de carbamida al 10%, encontrando una correlación con el tipo de solvente utilizado en la composición de los sistemas adhesivos, reportando mayor afectación de la unión para adhesivos a base de acetona comparado con los adhesivos a base de alcohol.

Adicionalmente, Cadenaro y colaboradores²⁶ afirman que el grado de conversión de los sistemas adhesivos aplicados posblanqueamiento sobre la superficie de dentina es bajo, debido a la inhibición de la polimerización por el oxígeno residual impregnado en la estructura dental y que un tiempo de catorce días o una polimerización prolongada pueden mejorar el grado de conversión de los adhesivos dentinales.

Por otro lado, autores como Ben-Amar y colaboradores,²⁷ y Josey y colaboradores,²⁸ atribuyen este efecto al cambio en la composición química de la estructura del esmalte posterior al blanqueamiento dental.²⁹

El propósito de este estudio fue evaluar el efecto del blanqueamiento con peróxido de hidrógeno de alta concentración (38%) sobre la resistencia de unión al corte de un sistema adhesivo a base de etanol y de una resina compuesta nanohíbrida al esmalte dental, en diferentes intervalos de tiempo (0, 1, 7, 14 y 28 días) posterior al tratamiento de blanqueamiento dental.

MÉTODOS

Se hizo un estudio de tipo experimental cuantitativo *in vitro*, para el cual se seleccionaron 90 dientes premolares humanos recientemente extraídos por razones ortodóncicas con un tiempo de almacenamiento máximo posterior a la extracción de tres meses.

perform satisfactory adhesive restorations on enamel and dentin; these findings are similar to the ones reported by van der Vyver et al,² who describe the same phenomenon of decreased adhesive strength values when carbamide peroxide is applied and activated by light.

Sung et al²⁵ concluded that adhesive bond strength to dentin decreases with the prior application of a bleaching agent containing 10% carbamide peroxide, as they found out a correlation with the type of solvent used as a component of adhesive systems; in fact, they reported greater bonding loss in acetone-based adhesives compared to alcohol-based adhesives.

Furthermore, Cadenaro et al²⁶ suggest that adhesive systems applied on the dentin surface after whitening present low conversion degrees due to the polymerization inhibition produced by the residual oxygen covering the tooth structure, and that a fourteen-day period, or prolonged polymerization, may improve the conversion degree of dentin adhesives.

On the other hand, authors such as Ben-Amar et al²⁷ and Josey et al²⁸ consider this effect as the result of chemical composition changes of the enamel structure after whitening.²⁹

The purpose of this study was to evaluate the effect of bleaching with hydrogen peroxide at a high concentration (38%) on an ethanol-based adhesive system and a nanohybrid composite resin shear bond strength to dentin at different time intervals (0, 1, 7, 14, and 28 days) after teeth whitening.

METHODS

For this *in vitro* quantitative experimental study, the researchers selected 90 human premolars recently extracted for orthodontic reasons and stored for no more than three months after extraction.

Todos los dientes fueron seleccionados según los criterios de inclusión, verificando que tuvieran formación radicular completa y ausencia de: caries o defectos del desarrollo del esmalte, restauraciones previas, líneas de fracturas o fracturas completas del esmalte, dentina expuesta por desgaste o lesiones superficiales. Se tuvieron en cuenta las consideraciones éticas para el estudio según la Declaración de Helsinki³⁰ y la resolución N.º 8430 de 1993 del Ministerio de Salud,³¹ en donde se clasifica como una investigación con riesgo mínimo, para la cual se diligenció un formato firmado por cada paciente quien dio su consentimiento para la donación de sus dientes para el presente estudio específicamente, que fue aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Odontología de Universidad Nacional de Colombia.

Se hizo una limpieza mecánica de los restos de tejido blando a nivel radicular de cada diente y se fijaron en cloramina al 0,5% por 24 h.³²

Posteriormente, se aplicó formaldehído al 2% en el foramen apical con una lima de endodoncia de calibre delgado recubierta con algodón. Se selló el foramen apical con acrílico de autopolimerización y se cubrió la raíz con espaciador de troqueles hasta la línea amelocementaria para disminuir la permeabilidad dentinal.

Las muestras se mantuvieron en agua destilada desionizada en un refrigerador a una temperatura nominal de 4° C, en recipiente con sello hermético que fue reemplazada periódicamente a fin de minimizar el deterioro, hasta 24 h antes de hacer las pruebas, momento en el cual se procedió a colocarlas en agua destilada a 37° C, según las recomendaciones de la Norma Técnica Colombiana 4882.³²

Para la aplicación de la prueba de resistencia de unión al corte, y facilitar la colocación de las muestras en la máquina de ensayos universales Shimadzu AG-SI Series (Corporación Shimadzu, Tokio, Japón), se conformaron moldes sostenedores en forma de cubo para embeber en resina acrílica cada diente dejando expuesta la superficie vestibular del esmalte, previa amputación radicular con disco de diamante 2 mm por debajo de la unión amelocementaria.

All the teeth were selected according to these inclusion criteria: fully developed roots and absence of the following conditions: cavities or enamel developmental defects, previous restorations, fracture lines or full enamel fractures, and dentin exposed due to attrition or superficial lesions. This study took into account ethical considerations following both the Declaration of Helsinki³⁰ and the Ministry of Health Resolution No. 8430 of 1993,³¹ according to which this one is classified as a minimal risk research. A form was filled and signed by each patient giving their consent to donate their teeth specifically for this study, which was approved by the Ethics Committee of Universidad Nacional de Colombia School of Dentistry.

Soft tissue remains on the teeth roots were mechanically cleansed, and the samples were stored in 0.5% chloramine for 24 h.³²

Next, a thin cotton-coated endodontic file was used to apply 2% formaldehyde on the apical foramen of each tooth. The apical foramen were sealed with self-curing acrylic and the roots were covered with die spacers up to the cementoenamel line in order to reduce dentinal permeability.

The samples were kept in deionized distilled water in a refrigerator at a nominal temperature of 4° C inside a container with an airtight seal that was periodically replaced in order to minimize deterioration until 24 hours prior to testing, when they were put in distilled water at 37° C, as recommended by the Colombian Technical Standard 4882.³²

To test shear bond strength and to easily place the samples in the universal testing machine AG-SI Series Shimadzu (Shimadzu Corporation, Tokyo, Japan), cube-like holding molds were designed for embedding each tooth acrylic resin, exposing the enamel's buccal surface, after root amputation with a 2 mm diamond disc below the cementoenamel junction.

La superficie del esmalte vestibular expuesta fue desgastada con lija de SiC n.º 1000 para retirar la capa aprismática y mejorar el tipo de acondicionamiento superficial del esmalte y crear una superficie plana para garantizar la aplicación de una fuerza de cizalla pura.³²

Los 90 dientes se dividieron aleatoriamente en seis grupos de quince dientes cada uno, a los que se les hizo la técnica adhesiva dependiendo del intervalo de tiempo estimado para cada grupo de la siguiente manera: grupo control adhesión sin blanqueamiento previo; grupo I blanqueamiento y adhesión inmediata; grupo II blanqueamiento y adhesión 1 día después; grupo III blanqueamiento y adhesión siete días después; grupo IV blanqueamiento y adhesión 14 días después; grupo V blanqueamiento y adhesión 28 días después. La aplicación del peróxido de hidrógeno al 38% (Opalescence Xtra Boost®/Ultradent Products, South Jordan, USA) se hizo según las instrucciones del fabricante, haciendo tres aplicaciones consecutivas con un espesor máximo de 0,5 mm, dejándose actuar cada una durante un periodo de 8 min, sin lavar entre aplicación y aplicación.

Luego de terminado el proceso de blanqueamiento se procedió a retirar el agente blanqueador con agua corriente, cepillo manual extra suave^{33, 34} y crema dental sin flúor (FitoKids®, PF Farmacéutica SA/Tecser Laboratorios Ltda, Bogotá, Colombia).

Los dientes se mantuvieron inmersos en saliva artificial (Salivar®, Laboratorios Farpag, Bogotá, Colombia) a 37° C desde que se inició el procedimiento de blanqueamiento dental hasta el momento del ensayo de resistencia de unión según el intervalo de tiempo asignado a cada grupo de prueba, se hizo recambio de la saliva artificial cada 2 días.³⁵

Para comenzar la técnica adhesiva los dientes fueron limpiados con bicarbonato de sodio y agua. El área en donde se aplicó el adhesivo se delimitó previamente mediante el empleo de un círculo de papel Contact® de 6 mm de diámetro con un agujero en el centro del mismo de 2 mm de diámetro, esto para estandarizar el área de adhesión.

The exposed buccal enamel surface was abraded with #1000 SiC sandpaper to remove the prismless enamel layer, to improve the type of conditioning of the enamel surface, and to create a flat surface ensuring the application of pure shear force.³²

The 90 teeth were randomly divided into six groups of fifteen teeth each, which were treated with an adhesive technique depending on the estimated time interval for each group as follows: control group, adhesion with no prior bleaching; group I, bleaching and immediate adhesion; group II, bleaching and adhesion one day later; group III, bleaching and adhesion seven days later; group IV, bleaching and adhesion 14 days later; group V, bleaching and adhesion 28 days later. 38% hydrogen peroxide (Opalescence Xtra Boost®/ Ultradent Products, South Jordan, USA) was applied according to the manufacturer's instructions, making three successive applications with a maximum thickness of 0.5 mm, letting each one act for a period of 8 min, without washing in between applications.

After completion of the whitening process, the bleaching agent was removed with running water, a very soft manual toothbrush,^{33,34} and non-fluoride toothpaste (FitoKids®, PF Farmacéutica SA/Tecser Laboratorios Ltda, Bogotá, Colombia).

The teeth were kept in artificial saliva (Salivary®, Laboratorios Farpag, Bogotá, Colombia) at 37° C since the beginning of the whitening procedure until bond strength test according to the time interval of each group test; artificial saliva was replaced every two days.³⁵

To begin the adhesive technique, the teeth were cleansed with baking soda and water. The area where the adhesive agent was applied was previously delineated by means of a Contact® paper circle of 6 mm in diameter with a 2 mm diameter hole in its center, in order to standardize the adhesion area.

Se aplicó ácido fosfórico al 35% en gel Scotchbond® (3M ESPE, St Paul, Minnesota, USA) como agente grabador durante 15 s, se lavó y se secó con papel absorbente y se aplicaron dos capas consecutivas de sistema adhesivo Single Bond Plus® (3M ESPE, St Paul, Minnesota, USA) con un aplicador tipo cepillo (*brush*) para facilitar la impregnación, hasta que la superficie quedara brillante, manteniéndolo en posición antes de airear durante 20 s; posteriormente se aireó entre 2 a 5 s y se fotopolimerizó con una lámpara de luz halógena Elipar® 2500 (3M ESPE, St Paul, Minnesota, USA) con una intensidad de 600 mW/cm² durante 10 s a una distancia de 2 mm, siguiendo las instrucciones del fabricante.³⁶

Se introdujo el material restaurador de resina compuesta Filtek Z350 XT® Color A2E (3M ESPE, St Paul, Minnesota, USA) dentro de un tubo de polipropileno de 2,08 mm de diámetro externo y una luz interna de 2 mm de diámetro que correspondía al área adhesiva. Los agregados se hicieron en dos incrementos de 1 mm cada uno, utilizando una espátula de acero inoxidable con recubrimiento de teflón y se asentó sobre la superficie del esmalte preparada evitando burbujas y excesos laterales. Por último, se fotopolimerizó por 40 s por la superficie mesial, distal y vestibular.

Después de hecha la adhesión de la resina, los especímenes fueron inmersos en agua destilada a 37° C por 24 h.

Posteriormente, las muestras fueron llevadas a la máquina universal de ensayos Shimadzu AG-SI Series (Corporación Shimadzu, Tokio, Japón), la cual consta de una lámina de corte, que fue colocada a 0,5 mm de la interfase de unión para aplicar la carga de 50 N a una velocidad de 1 mm/min, y registrar los valores en los que se produjo la falla. Teniendo en cuenta el área de adhesión ($A = \pi r^2$) en mm² y la magnitud de la carga registrada en Newtons se calculó el correspondiente esfuerzo en MPa (N/mm²).

Los datos fueron procesados en el software de operación para la prueba de materiales TRAPEZIUM X (Microsoft Windows®, USA) para ser consignados en una tabla que relacionaba las dos variables del estudio:

The next step consisted on applying 35% phosphoric acid gel Scotchbond® (3M ESPE, St Paul, Minnesota, USA) as an etchant for 15 s; then the samples were washed and dried with absorbent paper, and two consecutive layers of the adhesive system Single Bond Plus® (3M ESPE, St. Paul, Minnesota, USA) were applied with a brush to facilitate impregnation until the surfaces turned bright; the samples were kept in position prior to aeration for 20 s. Next they were aired from 2 to 5 s and light cured with a halogen light Elipar® 2500 (3M ESPE, St Paul, Minnesota, USA) at an intensity of 600 mW/cm² for 10 s and at a distance of 2 mm, following the manufacturer's instructions.³⁶

The composite resin restorative material Filtek Z350 XT®, Color A2E (3M ESPE, St. Paul, Minnesota, USA) was introduced in a polypropylene tube of 2.08 mm in outer diameter and an inner light of 2 mm in diameter corresponding to the adhesive area. The aggregates were added in two increments of 1 mm each, using a stainless steel spatula with Teflon coating, and they were flattened on the prepared enamel surfaces in order to avoid bubbles and side excesses. Finally, the samples were light cured for 40 s at their mesial, distal, and vestibular surfaces.

After successful adhesion of the resin, the specimens were immersed in distilled water at 37° C for 24 h.

Later, the samples were brought to the universal testing machine AG-SI Shimadzu Series (Shimadzu Corporation, Tokyo, Japan), which contains a cutting blade that was placed at 0.5 mm from the bonding interface in order to apply a load of 50 N at a speed of 1 mm/min, and to record the values at which failure occurred. Since the adhesion area ($A=\pi r^2$) was measured in mm² and the load magnitude in Newtons, the final stress was calculated in MPa (N/mm²).

The obtained data were processed with the TRAPEZIUM X operating software for material testing (Microsoft Windows®, USA) and later displayed on a table that correlates the two variables of the study:

intervalos de tiempo posblanqueamiento (0, 1, 7, 14 y 28 días) y la fuerza de adhesión al esmalte dental en cada momento de prueba (resistencia de unión al corte en Mpa).

Una vez hecha la fractura de los especímenes, se procedió a determinar el tipo de falla que se presentó en cada una de las muestras, mediante la utilización del estereomicroscopio Leica Zoom® 2000 (Leica Microsystems, Buffalo NY, USA) a un aumento de 15X.

La evaluación de las fracturas, consistió en clasificar el tipo de falla en: adhesiva (> 75% de falla entre el esmalte y la resina compuesta), cohesiva en esmalte (> 75% de falla en el espesor del esmalte), cohesiva en resina (> 75% de falla en el espesor de la resina compuesta), y mixta (combinación de las anteriores).

Para la prueba de resistencia de unión al corte los datos fueron analizados mediante el test de varianza unidireccional (ANOVA) con la prueba estadística F con el empleo del paquete estadístico Social Sciences Statistical Package SPSS, 15,0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Por medio de las comparaciones múltiples de Fisher y Duncan, estas últimas avaladas por la homogeneidad de varianzas con la prueba de Levene, se aplicaron medidas de tendencia central (media y desviación estándar) para resumir la presentación de los datos por grupo. Considerándose valores de $p < 0,05$ como diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y los grupos tratados con blanqueador en diferentes intervalos de tiempo.

RESULTADOS

Los valores de resistencia de unión al corte de cada muestra por grupo en los diferentes intervalos de tiempo se observan en la figura 1. La media y el promedio de los valores de resistencia de unión al corte obtenidos en cada grupo se presentan en la tabla 1, y se observa el porcentaje de recuperación de la resistencia de unión a medida que transcurre el tiempo posblanqueamiento.

post-bleaching time intervals (0, 1, 7, 14, and 28 days) and bond strength to dentin in each test time (shear bond strength in MPa).

Once the specimens were fractured, the type of failure that occurred in each of the samples was determined by means of a Zoom® 2000 Leica stereomicroscope (Leica Microsystems, Buffalo NY, USA) at a 15X magnification.

Fractures were evaluated by classifying the type of failure, as follows: adhesive failure (> 75% failure between enamel and composite resin), cohesive failure in enamel (> 75% failure in enamel thickness), cohesive failure in resin (> 75% failure in composite resin thickness), and mixed failure (a combination of the above).

For shear bond strength testing, the data were analyzed by means of one-way analysis of variance (ANOVA) with the statistical F test and the Statistical Package for Social Sciences (SPSS) 15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Measures of central tendency (mean and standard deviation) were calculated with the use of Fisher and Duncan multiple comparisons—validated by homogeneity of variance with Levene's test—in order to summarize each group's data. P-values of < 0.05 were considered as statistically significant differences between the control group and the groups treated with bleaching at different time intervals.

RESULTS

Figure 1 shows shear bond strength values for each sample per group at the time intervals analyzed. Mean and median values of shear bond strength obtained for each group are presented in table 1, which also shows the percentage of bonding strength recovery as post-bleaching time elapses.

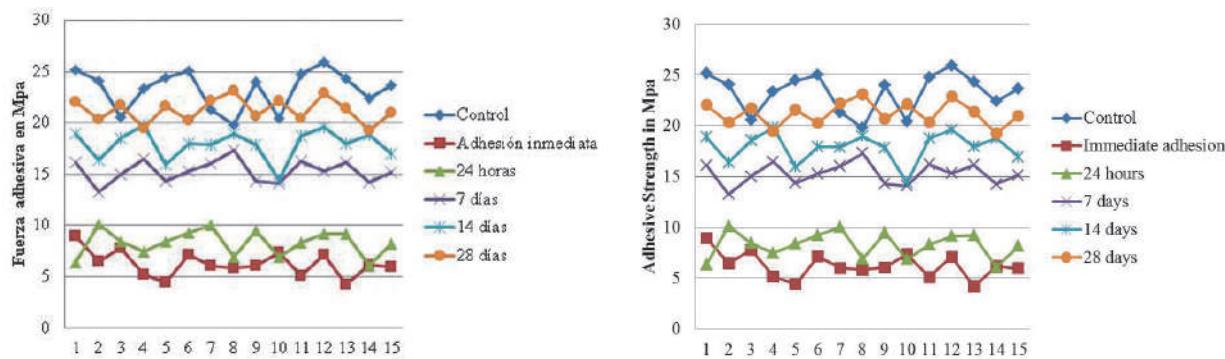


Figura 1. Valores de resistencia de unión de cada muestra por grupo en los diferentes intervalos de tiempo

Figure 1. Bonding strength values of each sample per group at the different time intervals

Tabla 1. Valores de resistencia de unión al corte al esmalte dental posblanqueamiento por grupo

Grupo	Tiempo en días	Nº muestras	Mediana (MPa)	Promedio (MPa)	DE* (σ)	% Recuperado de RUC**
Control	-	15	23,97	23,28	1,93	-
I	0 días	15	6,09	6,25	1,28	26,84
II	1 día	15	8,37	8,27	1,30	35,52
III	7 días	15	12,01	11,50	1,21	49,39
IV	14 días	15	17,93	17,91	1,46	76,93
V	28 días	15	21,41	21,24	1,16	91,23

*DE = desviación estándar ** RUC = resistencia de unión al corte en MPa.

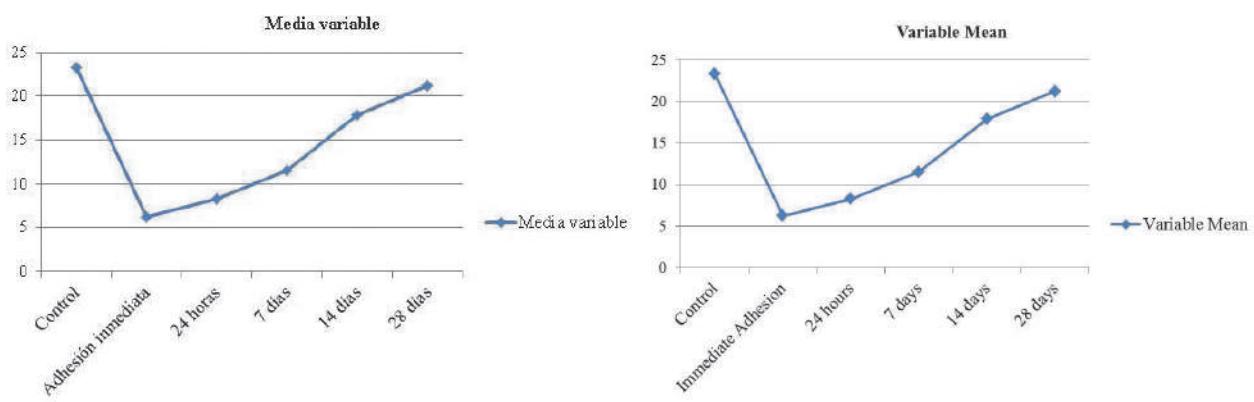
Table 1. Values of post-bleaching shear bond strength to enamel by group

Group	Time (in days)	Number of samples	Median (MPa)	Mean (MPa)	SD* (σ)	% Recovered SBS**
Control	-	15	23.97	23.28	1.93	-
I	0 days	15	6.09	6.25	1.28	26.84
II	1 day	15	8.37	8.27	1.30	35.52
III	7 days	15	12.01	11.50	1.21	49.39
IV	14 days	15	17.93	17.91	1.46	76.93
V	28 days	15	21.41	21.24	1.16	91.23

*SD = Standard Deviation ** SBS = Shear bond strength in MPa.

En la figura 2 se presentan las medias en cada uno de los intervalos de tiempo. Se observa que a medida que pasa el tiempo, la resistencia de unión al corte se recupera. Se establece que en el día 28 el promedio de la resistencia se acerca a la obtenida en el grupo control.

Figure 2 displays the means at each time interval. It shows that as time passes, shear bond strength is recovered. Note that on day 28 the average resistance approaches that of the control group.

Figura 2. *Medidas promedio de la resistencia de la unión al corte por grupos*Figure 2. *Average measures of shear bond strength by groups*

Con respecto a la variabilidad en cada uno de los grupos, el comportamiento de la varianza es homogéneo. Este resultado hace que los grupos sean comparables y que se puedan hacer las pruebas necesarias para saber si existen diferencias estadísticas entre los grupos. La descripción de los datos da como hipótesis que el día 28 se obtiene el mejor promedio entre los grupos de tratamiento y se acerca al promedio del grupo control.

Con un nivel de confianza de 95% con el cual el valor de α (nivel de significancia) es de 0,05, en la primera prueba se establece si hay diferencia entre el grupo control y los diferentes tiempos de exposición, el resultado es que al menos uno de los grupos es estadísticamente diferente al grupo control ($p < 0,001$), determinando que hay evidencia estadística para asegurar que existe al menos un tratamiento que es diferente.

Los valores de resistencia de unión con las diferencias entre cada uno de los grupos con sus respectivos valores p se presentan en la tabla 2. Se rechaza la hipótesis nula de igualdad entre medias de tratamientos. Se encontró una disminución estadísticamente significativa en los valores de resistencia de unión al corte al esmalte dental posblanqueamiento con respecto al grupo control en los grupos I (0 días $p = 0,000$), II (1 día $p = 0,000$), y III (7 días $p = 0,000$), IV (14 días $p = 0,000$) y V (28 días $p = 0,002$).

Concerning variability within each group, variance behavior is homogeneous. This result means that the groups are comparable and that tests are needed to establish statistical differences between groups. Data analysis suggests that day 28 yields the best mean between the groups and that it is close to that of the control group.

With a confidence level of 95% so that the value of α (significance level) is 0.05, the first test shows no difference between the control group and the different exposure times, which suggests that at least one of the groups is statistically different from the control group ($p < 0.001$), offering statistical evidence to claim that at least one treatment is different.

Table 2 shows bond strength values with differences within each group and their respective p values. The null hypothesis of equality between treatment means was rejected. In relation to the control group, a statistically significant decrease of post-bleaching values of shear bond strength to dentin was observed in groups I (0 days $p = 0.000$), II (1 day $p = 0.000$), and III (7 days $p = 0.000$), IV (14 days $p = 0.000$) and V (28 days $p = 0.002$).

Tabla 2. Análisis de comparaciones múltiples con respecto a la variable dependiente: resistencia de unión al corte

	Experimento (I)	Experimento (J)	Diferencia de medias	p valor*	Límite inferior	Límite superior
HSD Tukey	Control	Adhesión inmediata	17,1	0,000	15,55	18,56
		24 horas	15,0	0,000	13,52	16,52
		7 días	11,8	0,000	10,29	13,30
		14 días	5,4	0,000	3,88	6,89
		28 días	2,1	0,002	0,56	3,56
	Adhesión inmediata	24 horas	-2,0	0,002	-3,54	-0,53
		7 días	-5,3	0,000	-6,76	-3,76
		14 días	-11,7	0,000	-13,17	-10,16
		28 días	-15,0	0,000	-16,50	-13,49
	24 horas	7 días	-3,2	0,000	-4,73	-1,72
		14 días	-9,6	0,000	-11,14	-8,13
		28 días	-13,0	0,000	-14,46	-11,46
	7 días	14 días	-6,4	0,000	-7,91	-4,90
		28 días	-9,7	0,000	-11,24	-8,23
	14 días	28 días	-3,3	0,000	-4,83	-1,82

* La diferencia de medias es significativa al nivel 0,05.

Table 2. Multiple comparison analysis of the dependent variable: shear bond strength

	Experiment (I)	Experiment (J)	Difference of means	p value*	Lower limit	Upper limit
HSD Tukey	Control	Immediate adhesion	17.1	0.000	15.55	18.56
		24 hours	15.0	0.000	13.52	16.52
		7 days	11.8	0.000	10.29	13.30
		14 days	5.4	0.000	3.88	6.89
		28 days	2.1	0.002	0.56	3.56
	Immediate adhesion	24 hours	-2.0	0.002	-3.54	-0.53
		7 days	-5.3	0.000	-6.76	-3.76
		14 days	-11.7	0.000	-13.17	-10.16
		28 days	-15.0	0.000	-16.50	-13.49
	24 hours	7 days	-3.2	0.000	-4.73	-1.72
		14 days	-9.6	0.000	-11.14	-8.13
		28 days	-13.0	0.000	-14.46	-11.46
	7 days	14 days	-6.4	0.000	-7.91	-4.90
		28 days	-9.7	0.000	-11.24	-8.23
	14 days	28 days	-3.3	0.000	-4.83	-1.82

* The difference of means is significant at a 0.05 level.

La prueba de Duncan es más fuerte en su composición, por lo cual los resultados confirman que estadísticamente existen diferencias entre todas las medias de los tratamientos. La media del grupo I es estadísticamente menor que la del grupo II, esta es menor que la del grupo III, la del grupo III menor que la media del grupo IV y al igual que la del grupo V y finalmente este último grupo es estadísticamente menor que el control.

The Duncan test has a stronger composition, so the results confirm that there are statistical differences between all treatment means. The mean of group I is statistically lower than that of group II, this one is lower than that of group III, the one of group III is lower than the means of both group IV and group V, and finally this last group is statistically smaller than the control group.

El tipo de falla más frecuente fue la mixta adhesiva y cohesiva. En algunas muestras la falla cohesiva se presentó en el esmalte y en otras en la resina o en el espesor de la capa adhesiva. Más específicamente, se observó que las muestras del grupo control la mayoría tuvieron fallas cohesivas en esmalte; entre los 0 y 14 días posblanqueamiento se presentaron la mayoría de fallas adhesivas y aumentó la frecuencia de fallas cohesivas en la resina, a los 28 días se presentaron menor cantidad de fallas cohesivas en la resina y aumentaron las fallas cohesivas en el esmalte asemejándose al comportamiento del grupo control (tabla 3).

The most common failure type was the mixed one (adhesive and cohesive). In some samples, the cohesive failure occurred on the enamel, while in others it happened on the resin or on the adhesive layer thickness. Furthermore, most samples from the control group experienced cohesive failures on the enamel; the majority of adhesive failures occurred between 0 and 14 days post-bleaching and during this time the frequency of cohesive failures on the resin increased. Cohesive failures on the resin decreased 28 days after bleaching, while the ones on the enamel increased during the same period—similarly to the behavior of the control group (table 3).

Tabla 3. Clasificación del tipo de falla

Grupo	Tiempo	Nº muestras	Falla adhesiva	Falla cohesiva en esmalte	Falla cohesiva en resina	Falla mixta adhesiva y cohesiva
Control	-	15	2	5	3	5
I	0 días	15	6	1	3	5
II	1 día	15	7	1	2	5
III	7 días	15	7	0	1	7
IV	14 días	15	4	1	2	8
V	28 días	15	3	3	4	5

Table 3. Failure type classification

Group	Time	N° of samples	Adhesive failure	Cohesive failure on enamel	Cohesive failure on resin	Mixed failure (adhesive and cohesive)
Control	-	15	2	5	3	5
I	0 days	15	6	1	3	5
II	1 day	15	7	1	2	5
III	7 days	15	7	0	1	7
IV	14 days	15	4	1	2	8
V	28 days	15	3	3	4	5

DISCUSIÓN

Varias investigaciones como las de Dishman y colaboradores,¹ van der Vyver y colaboradores,² Homewood y colaboradores³ y Cappeletto y colaboradores⁴ reportan disminución transitoria de la resistencia de unión de resinas compuestas al esmalte posblanqueamiento,^{37,38} es relevante clínicamente tener conocimiento del comportamiento de la adhesión con respecto al tiempo por la necesidad de intervenciones estéticas adhesivas como remplazo de restauraciones preexistentes, modificaciones de contorno y forma, y cementación de carillas indirectas, entre otras.³⁷

DISCUSSION

Studies such as the ones by Dishman et al,¹ van der Vyver et al,² Homewood et al,³ and Cappeletto et al⁴ have reported a transient decrease in composite resins' bond strength to enamel after bleaching.^{37,38} Clinically, it is necessary to have relevant information on the behavior of bonding over time in order to perform adhesive cosmetic procedures such as replacing existing restorations, modifying shape and form, and cementing indirect veneers.³⁷

Por este motivo, en el presente estudio se pretendió evaluar el efecto de la aplicación de peróxido de hidrógeno al 38% sobre la resistencia de unión al corte de una resina compuesta, haciendo el procedimiento adhesivo en diferentes intervalos de tiempo (0, 1, 7, 14 y 28 días) después de haber culminado el tratamiento de blanqueamiento dental, para poder determinar el lapso de tiempo en el que este procedimiento afecta significativamente la adhesión al esmalte dental y así, poder contrastar los resultados con lo reportado por otros autores. En este estudio se determinó que hay una reducción significativa de la adhesión después de haber aplicado peróxido de hidrógeno al 38%, efecto que es inmediato y puede prolongarse durante los días posteriores al blanqueamiento dental, resultado que concuerda con los hallazgos de Kimyai y colaboradores³⁹ y Shinohara y colaboradores,²⁴ quienes afirman que la aplicación de agentes blanqueadores en diferentes concentraciones afectan adversamente la unión inmediata de las resinas compuestas.

Sin embargo, autores como Dishman y colaboradores¹ y Homewood y colaboradores³ concluyeron que al cabo de 24 h no se presentaron diferencias estadísticamente significativas en la adhesión posblanqueamiento, pero reportan haber encontrado una disminución en la formación de las interdigitaciones de resina e inhibición de la polimerización de la misma, por contacto con el oxígeno residual; teoría que podría explicar una de las posibles razones por las cuales se puede observar en el presente estudio, alta frecuencia de fallas adhesivas y cohesivas en la resina entre los 0 y 14 días; mientras que en el grupo control se presentaron fallas cohesivas en el esmalte, resultado que demuestra que la resistencia de unión en la interfase adhesiva es mayor que la misma resistencia cohesiva del tejido; comportamiento similar a lo obtenido a los 28 días en el que se presentaron menor cantidad de fallas cohesivas en la resina y aumentaron las fallas cohesivas en el esmalte.

Van der Vyver y colaboradores² reportan que hay disminución importante de los valores de resistencia de unión, pero solo durante las dos primeras semanas, mientras que bajo las condiciones del presente estudio se determinó que las alteraciones en la resistencia de unión adhesiva pueden prolongarse hasta cuatro semanas después de culminado el blanqueamiento, a las dos semanas solo se logró una recuperación del 76,93%

With that in mind, the present study sought to evaluate the effect of 38% hydrogen peroxide on a composite resin shear bond strength, by performing the adhesive procedure at different time intervals (0, 1, 7, 14, and 28 days) after completion of teeth whitening treatment, in order to determine the period in which this procedure significantly affects adhesion to enamel and thus to be able to compare the results with those reported by other authors. In this study, we observed a significant reduction in adhesion after applying 38% hydrogen peroxide; we also found out that this effect is immediate and that it may last for days after bleaching, in agreement with the findings by Kimyai et al³⁹ and Shinohara et al,²⁴ who claim that applying bleaching agents in different concentrations adversely affects the immediate bonding of composite resins.

However, authors such as Dishman et al¹ and Homewood et al³ concluded that after 24 h there were no statistically significant differences in post-bleaching adhesion but they report a decrease in the formation of resin tags as well as inhibition of resin polymerization due to contact with residual oxygen. This theory may explain one of the possible reasons why in this study we observed a high frequency of adhesive and cohesive resin failures between 0 and 14 days, while the control group experienced cohesive enamel failures, suggesting that bonding strength at the adhesive interface is greater than that of the tissue's cohesive strength itself; such behavior is similar to that obtained 28 days after whitening, when cohesive resin failures decreased but enamel cohesive failures increased.

Van der Vyver et al² reported a significant decrease in bond strength values, but only for the first two weeks, whereas under the conditions of the present study, adhesive bond strength alterations may take up to four weeks after completion of the bleaching treatment, and two weeks afterwards only a 76.93%

de la resistencia de unión, resultado que puede explicarse por los hallazgos de un estudio anterior²⁹ en el que se determinaron los cambios en la composición química del esmalte luego de la aplicación de peróxido de hidrógeno al 38%, encontrando disminución de calcio del 9,25%; un aumento de peso del oxígeno en 9,43% con respecto al grupo control, y luego de esperar durante dos semanas, solamente se alcanzó a disminuir el porcentaje de oxígeno 2,5%, lo que indica que este tiempo no fue suficiente para que se liberara la totalidad del oxígeno residual de la superficie del esmalte dental.

Según Suelieman y colaboradores⁴⁰ los radicales libres de oxígeno y el peróxido residual penetran en el esmalte, hasta alcanzar el tejido dentinal e incluso la pulpa dental, lo que dificulta la liberación de oxígeno residual del blanqueador a través del tiempo, a lo que se puede atribuir la disminución en la adhesión por alteración del grado de conversión del sistema adhesivo y de la resina compuesta restauradora.

Titley y colaboradores,⁴¹ reportan una formación de zonas porosas de aspecto granular y apariencia de burbuja en la interfase adhesiva atribuidas a la retención de peróxido que reacciona oxidándose en la superficie del esmalte.

Miranda y colaboradores,⁴² argumentan que la reducción en la resistencia de unión microtensil al utilizar peróxido de carbamida al 22% se puede dar hasta tres semanas después de la aplicación del agente blanqueador por dos razones: la primera, una alteración estructural, asociada a una pérdida y erosión de la capa aprismática del esmalte, además de una reducción en el porcentaje de calcio y fósforo; y la segunda, una de carácter residual, debido a la penetración de radicales de oxígeno en el esmalte, que pueden inhibir la polimerización.⁴³

En este estudio, fue necesario retirar la capa aprismática del esmalte, para obtener una superficie plana, estándar y reproducible para aplicar adecuadamente la fuerza de corte en la prueba de resistencia de unión siguiendo las recomendaciones de la Norma técnica Colombiana 4882.³² Se ha reportado que esta capa está presente en un 70% de los dientes permanentes⁴⁴ y su espesor varía

of bond strength recovery was achieved—a result that may be explained by the findings of a previous study²⁹ in which changes in the enamel chemical composition occurred following application of 38% hydrogen peroxide, producing a calcium reduction of 9.25%, an oxygen weight increase of 9.43% with respect to the control group, and after two weeks the percentage of oxygen was reduced by only 2.5%, indicating that this was not enough time for releasing all the residual oxygen from the enamel surface.

According to Suelieman et al,⁴⁰ oxygen-free radicals and residual peroxide penetrate the enamel to reach dentinal tissue and even dental pulp, which hinders the release of bleaching agents' residual oxygen over time, apparently reducing adhesion due to alterations of the conversion degrees of both the adhesive system and the restorative composite resin.

Titley et al⁴¹ reported the formation of bubble-like porous zones of granular appearance in the adhesive interface due to retention of peroxide, which oxidizes on the enamel surface.

Miranda et al⁴² claim that the reduction in microtensile bond strength when using 22% carbamide peroxide may occur up to three weeks after application of the bleaching agent for two reasons: first, for a structural alteration associated with loss and erosion of the enamel prismless layer plus a reduction in the percentage of calcium and phosphorus; the second reason is of a residual nature, and is connected to the penetration of oxygen radicals in the enamel, which can inhibit polymerization.⁴³

For the present study, it was necessary to remove the enamel's prismless layer in order to obtain a flat, standard and reproducible surface to properly apply cutting force during the bond strength test, following the recommendations of Colombian Technical Standard N° 4882.³² It has been reported that this layer is present in about 70% of permanent teeth⁴⁴

entre los diferentes tipos de dientes.⁴⁵ Shi y colaboradores⁴⁶ la describen como una capa superficial altamente mineralizada comparada con la subsuperficie del esmalte, siendo a su vez más resistente a la desmineralización. De esta manera, la función protectora que puede existir a partir de esta estructura se pierde, por lo tanto, el efecto del agente blanqueador a nivel estructural y químico, se presenta en la zona prismática del esmalte afectando la superficie que va a ser acondicionada, disminuyendo así, la resistencia de unión.²⁸

Josey y colaboradores,²⁸ sugieren que el grabado ácido posblanqueamiento produce una pérdida estructural en los límites de los prismas del esmalte, y que dichos cambios podrían afectar las cualidades de retención de los sistemas adhesivos, por la formación inadecuada de las interdigitaciones de resina. Basados en estas afirmaciones, la disminución en la resistencia de unión en dientes con blanqueamiento previo, se puede atribuir en general a dos posibles factores: la modificación microestructural de la superficie y la difusión de peróxido de hidrógeno residual y de los radicales libres de oxígeno en la estructura dental.

La diferencia en los datos reportados por varios autores incluyendo el presente estudio, con respecto al tiempo en el cual se recupera la resistencia de unión de las resinas compuestas puede deberse a varios factores, entre ellos al tipo de agente blanqueador empleado (peróxido de carbamida, peróxido de hidrógeno, perborato de sodio u ozono), pues cada uno difiere en la cantidad de peróxido que tiene la capacidad de degradarse a oxígeno. El peróxido de carbamida al 10% se descompone en 3% de peróxido de hidrógeno y urea, por lo que la cantidad de moléculas de oxígeno gaseoso liberadas se reduce, a comparación de los peróxidos de alta concentración, a los que se les atribuye en estudios como el de Hegedüs y colaboradores,⁴⁷ que se incrementa la posibilidad de daño estructural de la superficie y subsuperficie del esmalte dental.

Adicionalmente, Pérez y colaboradores⁴⁸ afirman que los cambios en la morfología superficial del esmalte están relacionados con el tiempo de exposición y la concentración del agente blanqueador y que un tiempo de exposición mayor a 20 horas produce cambios histológicos en

and its thickness varies among the various types of teeth.⁴⁵ Shi et al⁴⁶ describe it as a surface layer highly mineralized compared with the enamel subsurface, and therefore more resistant to demineralization. Thus, the possible protective function of this structure is lost, and as a consequence the bleaching agent's structural and chemical effects occur at the enamel's prism area affecting the surface to be conditioned and therefore reducing bond strength.²⁸

Josey et al²⁸ suggest that post-bleaching etching produces a structural loss at the limits of the enamel prisms, and that such changes may affect the adhesive systems' retention qualities due to inadequate formation of resin tags. Accordingly, bond strength decrease on previously whitened teeth may generally be attributed to two possible factors: microstructural modification of the surface and distribution of residual hydrogen peroxide and oxygen-free radicals over the tooth structure.

Differences in the data reported by several authors, including the present study, concerning the time required for composite resins to recover bond strength may be due to several factors, including the type of bleaching agent used (carbamide peroxide, hydrogen peroxide, sodium perborate, or ozone), as they all differ in the amount of peroxide that has the ability to degrade to oxygen. 10% carbamide peroxide is decomposed to 3% hydrogen peroxide and urea, so the amount of released gaseous oxygen molecules is also reduced, unlike peroxides of high concentration, which are considered to increase the likelihood of the enamel's surface and subsurface suffering structural damage (see Hegedüs et al).⁴⁷

Furthermore, Pérez et al⁴⁸ argue that morphological changes of the enamel surface are related to exposure time and bleaching agent concentration, and that an exposure time longer than 20 hours produces histological changes

los prismas del esmalte, efecto que puede interferir en el patrón de grabado del esmalte dental.²¹ También se reportan cambios en el comportamiento de los agentes blanqueadores con respecto a la estructura dental por la adición de otras sustancias como carbopol,⁴⁹ flúor^{50, 51} o fosfato de calcio amorfo,^{52, 53} sustancias que incluidas en el producto o utilizadas previamente o posterior al procedimiento de blanqueamiento dental influyen en los cambios microestructurales y en las propiedades mecánicas del esmalte como la dureza superficial.^{50, 54}

Es importante resaltar que las muestras fueron mantenidas inmersas en saliva artificial hasta el momento de la prueba para simular mejor las condiciones intraorales, aunque autores como Cappeletto y colaboradores⁴ mencionan que, a pesar de la exposición prolongada *in vitro* a saliva artificial para revertir los efectos deletéreos del oxígeno residual, no se logra una rápida neutralización del peróxido de hidrógeno. Es posible que los niveles adecuados de adhesión en el esmalte *in vivo* se alcancen en un menor tiempo que el obtenido en este estudio por la acción remineralizante y antioxidante de los componentes salivares.

Se han sugerido diferentes técnicas a fin de reducir el tiempo de espera para hacer técnicas adhesivas posblanqueamiento, como la remoción de la capa externa superficial del esmalte,⁵⁵ el uso de agentes antioxidantes enzimáticos como la catalasa⁵⁶ y la peroxidasa⁵⁷ y no enzimáticos como el ascorbato de sodio,^{57, 58} la aplicación de etanol,⁵⁹ de bicarbonato de sodio y vitamina E,⁶⁰ procedimientos que se plantean como una alternativa para eliminar las moléculas residuales de la superficie del esmalte y así, recuperar la resistencia de unión de las resinas compuestas adheridas al esmalte dental y prevenir los efectos biológicos adversos.⁶¹

En la búsqueda de componentes que actúen disminuyendo los problemas que producen los agentes blanqueadores en el esmalte dental, se ha estudiado el uso de los fluoruros para la estabilización del proceso cíclico de intercambio iónico al cual es sometido el diente. Los átomos de flúor remplazan al ion hidroxilo (OH),

in enamel prisms—an effect that can interfere with the enamel etching pattern.²¹ Some other studies report changes in bleaching agents behavior with respect to tooth structures due to addition of other substances such as carbopol, fluorine,^{49 50, 51} or amorphous calcium phosphate.^{52, 53} If these substances are included in the product or if they are used before or after the whitening procedure, they may produce microstructural changes or alter the enamel's mechanical properties, such as surface hardness.^{50, 54}

It is important to point out that our samples were kept in artificial saliva until the time of testing in order to better simulate intra-oral conditions, but as suggested by authors such as Cappeletto et al,⁴ despite prolonged *in vitro* exposure to artificial saliva with the intention of reversing the deleterious effects of residual oxygen, rapid neutralization of hydrogen peroxide cannot be achieved. In *vivo*, it may be possible to achieve adequate levels of adherence to enamel in less time than the required in this study thanks to the remineralizing and antioxidant action of salivary components.

Different techniques have been suggested to reduce waiting times for post-bleaching bonding procedures, such as removal of the enamel's outer surface layer,⁵⁵ the use of enzymatic antioxidants such as catalase⁵⁶ and peroxidase,⁵⁷ or non-enzymatic antioxidants such as sodium ascorbate,^{57,58} and the application of ethanol,⁵⁹ sodium bicarbonate, and vitamin E,⁶⁰ as alternatives for removing residual molecules from the enamel surface and thus recovering the bonding strength of composite resins adhered to enamel and preventing adverse biological effects.⁶¹

In the search for components able to reduce the problems caused by bleaching agents on enamel, some studies have been conducted on the use of fluoride for stabilizing the cyclic process of ion exchange to which teeth are subjected. Fluorine atoms replace the hydroxyl ion (OH)

formando la fluorapatita, compuesto que ha demostrado tener mayor resistencia a los cambios del pH y por ende a la desmineralización. Türkün y colaboradores⁵⁹ y Da Costa y colaboradores⁶² reportan que la aplicación tópica de flúor tiene la capacidad de revertir los efectos adversos de la desmineralización causada por la aplicación de agentes de blanqueamiento como la disminución de la dureza superficial del esmalte dental.

El uso de la crema dental libre de flúor tuvo como objetivo en la metodología aplicar una sustancia que permitiera retirar completamente el peróxido por un efecto mecánico por medio del cepillado, y no el de hacer modificación de la estructura por medio de aplicación de sustancias remineralizantes.

La crema dental utilizada adicionalmente, contiene Lauril sulfato de sodio que es una sustancia limpiadora que ejerce un efecto detergente que tiene la capacidad de penetrar y favorecer la eliminación de las impurezas depositadas a nivel superficial. Sin embargo, autores como Barkvoll⁶³ han descrito que esta sustancia puede reducir el efecto cariostático del fluoruro cuando está presente conjuntamente con monofluorofosfato de sodio durante la aplicación tópica y que puede interactuar en la deposición del fluoruro en el esmalte dental, situación que no es la que se presenta en la composición de la crema dental utilizada en el presente estudio, pero es importante analizar que a pesar de no encontrar reportes en la literatura específicos donde se determine si el Lauril sulfato afecta la deposición de iones calcio y fosfato en la capa superficial de esmalte, puede ser probable que se produzca alguna interacción similar a la ocurrida en la formación de la fluorapatita, inhibiendo la acción protectora remineralizante que se deseaba obtener a partir del uso de saliva artificial como medio de conservación durante la fase experimental, asemejando las condiciones normales de cavidad oral in vivo.

Adicionalmente, la crema dental FitoKids® (PF Farmacéutica SA/Tecser Laboratorios Ltda, Bogotá, Colombia) tiene en su composición extractos de Caléndula officinalis, Salvia officinalis y Cardamomo, plantas a las que se les atribuyen propiedades antioxidantes, estrogénicas y antiinflamatorias.⁶⁴⁻⁶⁷

to form fluorapatite—a compound that has shown greater resistance to pH changes and therefore to demineralization—. Türkün et al⁵⁹ and Da Costa et al⁶² reported that topical application of fluoride has the ability to reverse the adverse effects of demineralization caused by the application of bleaching agents, such as reduction of the enamel surface hardness.

We used fluoride-free toothpaste in our study with the intention of applying a substance that would completely remove peroxide by a mechanical effect of brushing, and to avoid modifying the structure by applying remineralizing substances.

Additionally, the toothpaste we used contains sodium lauryl sulfate, a cleansing substance that works as a detergent and has the ability to penetrate and eliminate surface impurities. However, Barkvoll⁶³ and other authors have pointed out that this substance can reduce the cariostatic effect of fluoride when in combination with sodium monofluorophosphate during topical application and that it may participate in the deposition of fluoride on enamel. This was not the case of the composition of the toothpaste used in this study, but it is important to note that even though there are no specific reports on the possible influence of lauryl sulfate on the deposition of calcium and phosphate ions on the enamel surface layer, another interaction may occur in a similar way to the one that favored fluorapatite formation, inhibiting the protective remineralizing action pursued by using artificial saliva as a preserving agent during the pilot phase and as a way to imitate the normal conditions of the oral cavity in vivo.

Moreover, FitoKids® (PF Pharmaceuticals SA/Tecser Laboratorios Ltda, Bogotá, Colombia) contains extracts of Calendula officinalis, Salvia officinalis and Cardamom, three plants that are considered to have antioxidant, estrogenic and anti-inflammatory properties.⁶⁴⁻⁶⁷

Su composición se fundamenta en principios activos relacionados con su actividad biológica como los alcaloides, saponinas, flavonoides, taninos, terpenos, cumarinas, entre otros.⁶⁸

Este amplio espectro de tipos de compuestos químicos, está en concordancia con la diversidad de acciones farmacológicas que presentan estas plantas. Su función antioxidante se fundamenta en el contenido de polifenoles que son fitoquímicos de bajo peso molecular, que conforman moléculas simples como el ácido fenólico y los flavonoides, hasta compuestos altamente estructurados como los taninos. Su actividad antioxidante, proviene de su gran reactividad como donador de electrones y de la capacidad del radical formado para estabilizar el electrón desapareado para interrumpir la reacción en cadena. Los flavonoides tienen una poderosa acción antioxidante *in vitro*, siendo capaces de actuar sobre un amplio rango de especies reactivas del oxígeno, nitrógeno y cloro, tales como el superóxido, el radical hidroxilo, el radical perhidroxilo, el ácido hipocloroso, actuando como agentes reductores.^{69, 70}

Es importante analizar que según los resultados de resistencia de unión logrados posterior a la limpieza de la superficie posblanqueamiento, se estima que no hubo una influencia positiva de la sustancia como agente antioxidante, lo que puede deberse a la relación entre la concentración del peróxido y la del antioxidante, lo cual está sustentado por Freire y colaboradores,⁷¹ quienes reportan que los antioxidantes son útiles en la eliminación de radicales libres de oxígeno de la superficie, pero que debe existir una relación directa entre la concentración del peróxido de hidrógeno y la concentración del antioxidante. Reportan que para eliminar completamente 2 g de peróxido de hidrógeno al 35% se requieren 20 ml de ascorbato de sodio al 25%, como mínimo. Por lo que se considera que una solución de menor concentración no alcanza a ser efectiva para neutralizar los radicales producidos por peróxido de hidrógeno al 38%.

Con relación al tiempo de aplicación de la crema como posible agente antioxidante, Lai y colaboradores⁷²

The components of this toothpaste are based on active ingredients known for their biological activity such as alkaloids, saponins, flavonoids, tannins, terpenes, or coumarins.⁶⁸

This wide spectrum of chemical components is consistent with the diversity of pharmacological actions of these plants. Their antioxidant function results from their content of polyphenols—low-molecular weight phytochemicals that form not only simple molecules such as phenolic acid and flavonoids but also highly structured compounds such as tannins—. Their antioxidant activity stems from their high reactivity as electron donors and from the ability of formed radicals to stabilize unpaired electrons and to stop chain reactions. Flavonoids have a powerful antioxidant action *in vitro*, being able to act on a wide range of reactive oxygen, nitrogen, and chlorine species, such as superoxide, the hydroxyl radical, the perhydroxyl radical, and hypochlorous acid, which function as reducing agents.^{69, 70}

It is important to consider that, according to the results achieved in terms of bond strength following post-bleaching surface cleaning, apparently there was not a positive influence of the substance as an antioxidant agent, which may be due to the relationship between the concentrations of both peroxide and antioxidant, as supported by Freire et al,⁷¹ who reported that antioxidants are useful in removing oxygen-free radicals from surfaces, providing that there is a direct relationship between the concentration of hydrogen peroxide and the concentration of antioxidant. They also claim that in order to completely remove 2 g of 35% hydrogen peroxide, 20 ml of sodium ascorbate are required at a concentration of at least 25%. A solution with lower concentrations is therefore considered to be ineffective to neutralize the radicals produced by 38% hydrogen peroxide.

Regarding time of application of the product as a possible antioxidant, Lai et al⁷²

afirman que el tiempo que se debe dejar actuar el agente antioxidante en la superficie dental es de al menos una tercera parte del tiempo empleado en el procedimiento de blanqueamiento dental, así por ejemplo, si el blanqueamiento dental duró 8 h el agente antioxidante debe estar en contacto mínimo durante 3 h.

En el presente estudio no se cumple este parámetro, ya que el agente blanqueador se aplicó según las instrucciones del fabricante durante 24 min (3 aplicaciones de 8 min cada una y la crema estuvo en contacto con la superficie dental aproximadamente durante 30 segundos. Este tiempo no fue efectivo para lograr recuperación de los valores adhesivos desde los 0 hasta los 28 días post-blanqueamiento, demostrándose poca influencia de la sustancia limpiadora.

Como la disminución en la resistencia de unión se ha atribuido a la alteración de la relación de calcio y fosfato de la estructura cristalina,^{9,73} a los cambios microestructurales de los cristales de hidroxiapatita, y por ende, al inadecuado patrón de grabado que se pueda producir en el esmalte durante la técnica adhesiva,^{74,75} se han utilizado diferentes productos para lograr un efecto de remineralización en la estructura dental que ha sido alterada, mecanismo que ha sido definido por Cochrane NJ,⁷⁶ como el proceso por el cual los iones se suministran desde una fuente externa al diente para promover la deposición de iones en los cristales en esmalte desmineralizado para producir ganancia de la red mineral, y de esta manera procurar obtener una mejor calidad del tejido frente a la técnica adhesiva.

Para lograr este efecto se han probado diferentes sustancias, entre ellas: el fluoruro de sodio^{74,77} y calcio,⁷⁸ que actúa como un agente remineralizante que inhibe la pérdida mineral y evita la disminución de la microdureza superficial; el fosfato de calcio amorfo en su forma cristalina, el cual ha demostrado tener dificultad para lograr una remineralización del esmalte adecuada por la poca solubilidad de las fases de fosfato de calcio, de tal manera que los iones de calcio y de fosfato no están disponibles para la remineralización;⁷⁶ de la misma manera ha sido reportado por Da Costa⁶² y Tschoppe y colaboradores,⁷⁹

mantener que el tiempo requerido para dejar que los antioxidantes actúen sobre la superficie dental es al menos un tercio del tiempo empleado en el procedimiento de blanqueamiento dental, así por ejemplo, si el blanqueamiento dental duró 8 h el agente antioxidante debe estar en contacto mínimo durante 3 h.

This parameter was not met in the present study, as the bleaching agent was applied according to the manufacturer's instructions for 24 min (3 applications of 8 min each) and the product was in contact with the tooth surface for about 30 seconds. This time was not effective to achieve recovery of adhesive values from 0 to 28 days post-bleaching, showing little influence of the cleaning substance.

As bond strength decrease has been attributed to the alteration of crystal structures' calcium-phosphate ratio,^{9,73} as well as to microstructural changes of hydroxyapatite crystals, and therefore to inadequate etching patterns on the enamel during the adhesive technique,^{74,75} various products have been used to achieve a remineralization effect on the tooth structure that has been altered—a mechanism defined by Cochrane NJ⁷⁶ as the process by which ions are supplied from a source outside the tooth to promote ion deposition on the crystals in a demineralized enamel in order to produce mineral network gain, and thereby to ensure a better tissue quality in presence of an adhesive technique.

To achieve this effect, several substances have been tested, including sodium fluoride^{74,77}, and calcium,⁷⁸ which acts as a mineralizing agent that inhibits mineral loss and prevents surface microhardness decrease, as well as the amorphous calcium phosphate in its crystalline form, which has been proven to be difficult to achieve adequate enamel remineralization due to low solubility of calcium phosphate phases, so that calcium and phosphate ions are not available for remineralization.⁷⁶ Similarly, Da Costa⁶² and Tschoppe et al⁷⁹

que tanto el nitrato de potasio como el fosfato de calcio amorfo no tienen la capacidad de evitar la disminución de la dureza superficial del esmalte.

También, se ha intentado agregar fosfato tricálcico (TCP) a los productos dentales, del cual se reporta que mejora la microdureza de la superficie del esmalte desmineralizado en comparación con productos con solo fluoruro, posiblemente a través de un efecto abrasivo. Sin embargo, ningún estudio de este material ha sido publicado demostrando su capacidad para remineralizar las lesiones subsuperficiales de esmalte.⁷⁶

Con respecto al fosfato de calcio amorfo estabilizado con fosfopeptidos de caseína (CPP-ACP), se ha encontrado un aumento de la microdureza pos blanqueamiento para muestras blanqueadas con peróxido de hidrógeno utilizando pasta de CPP-ACP antes y después del blanqueamiento, sugiriendo una deposición de minerales en el esmalte. El sistema CPP-ACP proporciona un depósito superior de calcio biodisponible y iones fosfato en comparación con ACP solo, conduciendo a mayor potencial de remineralización.⁷⁶

Dado que siguen siendo controversiales los resultados sobre los efectos adversos de los agentes de blanqueamiento sobre la estructura dental y la adhesión posblanqueamiento, se evidencia la necesidad de replantear protocolos clínicos para procurar un mejor manejo de los agentes de blanqueamiento, de las sustancias remineralizantes y del tiempo necesario para lograr neutralización y remineralización de la estructura dental posblanqueamiento.

CONCLUSIONES

Bajo las condiciones que se desarrollaron en este estudio se concluye que:

- Hay una reducción significativa de la resistencia de unión al corte de una resina compuesta al esmalte dental, luego de la aplicación de peróxido de hidrógeno al 38% hasta los 28 días posblanqueamiento.

have reported that both potassium nitrate and amorphous calcium phosphate lack the ability to prevent enamel surface hardness decrease.

Tricalcium phosphate (TCP) has also been tried in dental products, as it has been proven to be effective to improve the microhardness of demineralized enamel surfaces compared to products with fluoride alone, possibly due to an abrasive effect. However, there are no published studies on this material as to demonstrate its ability to remineralize enamel subsurface lesions.⁷⁶

With respect to amorphous calcium phosphate stabilized by casein phosphopeptides (CPP -ACP), an increase in microhardness after bleaching has been found in samples bleached with hydrogen peroxide using CPP-ACP paste before and after bleaching, suggesting a mineral deposition on the enamel. The CPP-ACP system provides a superior deposit of bioavailable calcium as well as phosphate ions in comparison with ACP alone, leading to higher potential remineralization.⁷⁶

Since there is still much controversy on the adverse effects of bleaching agents on tooth structure and post-bleaching adherence, there is also a clear need of reconsidering clinical protocols to ensure a better management of bleaching agents and remineralizing substances as well as the time required to achieve neutralization and remineralization of tooth structure post-bleaching.

CONCLUSIONS

Given the conditions under which this study was developed, the following conclusions may be drawn:

- A significant reduction of a composite resin's shear bond strength to dentin occurs after the application of 38% hydrogen peroxide until 28 days post-bleaching.

- La resistencia de unión obtenida en los diferentes intervalos de tiempo es estadísticamente inferior a la del grupo control, el grupo V de 28 días descriptivamente se parece al grupo control pero sigue siendo estadísticamente inferior por lo cual el tiempo de espera debería ser mayor a los 28 días si se desea recuperar al 100% el valor de resistencia de unión al corte de la resina adherida al esmalte dental posblanqueamiento.

RECOMENDACIONES

Se espera el desarrollo de nuevas investigaciones que incluyan el uso de sustancias antioxidantes de fácil manejo clínico y de bajo costo, para disminuir el tiempo posblanqueamiento necesario para neutralizar el oxígeno residual y poder efectuar restauraciones adheridas al esmalte dental sin esperar un periodo de tiempo prolongado.

CONFLICTO DE INTERÉS

Se declara que no existe ningún conflicto de interés en el presente estudio.

CORRESPONDENCIA

Paula Alejandra Baldíón
Cra 30 N° 45-03
Facultad de Odontología, Ciudad Universitaria
Universidad Nacional de Colombia.
Bogotá, D.C., Colombia
Correo electrónico: pabaldione@unal.edu.co

- The bond strength obtained at different time intervals is statistically lower than that of the control group. Group V (28 days) descriptively resembles the control group but is still statistically lower, so the waiting time should be greater than 28 days if we want to recover 100% of the shear bond strength values of the resin adhering to dental enamel post-bleaching.

RECOMMENDATIONS

It is necessary to perform new studies involving easy-to-use and inexpensive antioxidants in order to decrease the time needed to neutralize residual oxygen post-bleaching and to achieve dental restorations bonded to enamel without waiting too long.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare having no conflict of interest in the present study.

CORRESPONDING AUTHOR

Paula Alejandra Baldíón
Cra 30 N° 45-03
Facultad de Odontología, Ciudad Universitaria
Universidad Nacional de Colombia
Bogotá, D.C., Colombia
E-mail address: pabaldione@unal.edu.co

REFERENCIAS / REFERENCES

1. Dishman MV, Covey DA, Baughan LW. The effects of peroxide bleaching on composite to enamel bond strength. Dent Mater 1994; 10(1): 33-36.
2. Van der Vyver PJ, Lewis SB, Marais JT. The effect of bleaching agent on composite/enamel bonding. J Dent Assoc S Afr 1997; 52(10): 601-603.
3. Homewood C, Tyas M, Woods. Bonding to previously bleached teeth. Aust Orthod J 2001; 17(1): 27-34.
4. Cappeletto E, Pedroso C, Takeo A, Campos M. Influence of post-bleaching time intervals on dentin bond strength. Braz Oral Res 2004; 18(1): 75-79.
5. 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(9): 1219-1226.
6. Dahl J, Pallesen U. Tooth bleaching a critical review of the biological aspects. Crit Rev Oral Biol Med 2003; 14(4): 292-304.

7. Cobankara FK, Unlun N, Altinoz HC, Fusun O. Effect of home bleaching agents on the roughness and surface morphology of human enamel and dentine. *Int Dent J* 2004; 54(4): 211-218.
8. Pinto CF, Oliveira R, Cavalli V, Giannini M. Peroxide bleaching agent effects on enamel surface microhardness, roughness and morphology. *Braz Oral Res* 2004; 18(4): 306-311.
9. Gotz H, Duschner H, White DJ, Klukowska A, Malgorzata A. Effects of elevated hydrogen peroxide ‘strip’ bleaching on surface and subsurface enamel including subsurface histomorphology, micro-chemical composition and fluorescence changes. *J Dent* 2007; 35: 457-466.
10. Claus PE. Effects of hydrogen peroxide-containing bleaching agents on the morphology of human enamel. *Quintessence Int* 1996; 27(1): 53-56.
11. Moreira de Freitas PM, Turssi CP, Hara AT, Serra MC. Dentin microhardness during and after whitening treatments. *Quintessence Int* 2004; 35(5): 411-417.
12. Romero AD, Bueno GJ. Radicales libres del oxígeno y antioxidantes en medicina. *Rev Clin Española* 1998; 184(7): 345-346.
13. Joiner E. The bleaching of teeth: A review of the literature. *J Dent* 2006; 34(7): 412-419.
14. Goldstein RE, Garber DA. Complete dental bleaching. Chicago: Quintessence Publishing; 1995.
15. Domínguez MN, González LS, Menéndez NM. Study of the diffusion ways in the white spot enamel lesion. *RCOE* 2002; 7(5): 469-476.
16. Price RBT, Sedarous M, Hiltz GS. The pH of tooth-whitening products. *J Can Dent Assoc* 2000; 66: 421-426.
17. Cheesman KH, Slater TF. Free radicals in medicine. *Br Med Bull* 1998; 49: 118-121.
18. Floyd RA. The effect of peroxides and free radicals on body tissues. *J Am Dent Assoc* 1997; 128: 37-44.
19. Venereo JR. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Rev Cub Med Mil* 2002; 31(2): 126-133.
20. Mc Guckin RS, Thurmond BA, Osovitz S. Enamel shear bond strengths after vital bleaching. *Am J Dent* 1992; 5: 216-222.
21. Titley KC, Torneck CD, Smith DC, Chernecky R, Adibfar A. Scanning electron microscopy observation on the penetration and structure of resin “tags” in bleached and unbleached bovine enamel. *J Endod* 1991; 17: 72-75.
22. Carvalli V, Giannini M, Carvalho R. Effect of carbamide peroxide bleaching agents on tensile strength of human enamel. *Dent Mater* 2004; 20: 733-739.
23. Rotstein I. Role of catalase in the elimination of residual hydrogen peroxide following tooth bleaching. *J Endod* 1993; 19: 567-569.
24. Shinohara MS, Peris AR, Pimenta LA, Ambrosano GM. Shear bond strength evaluation of composite resin on enamel and dentin after nonvital bleaching. *J Esthet Restor Dent* 2005; 17(1): 22-29.
25. Sung EC, Chan SM, Mito R, Caputo AA. Effect of carbamide peroxide bleaching on the shear bond strength of composite to dental bonding agent enhanced enamel. *J Prosthet Dent* 1999; 82(5): 595-599.
26. Cadenaro M, Breschi L, Antonioli F, Mazzoni A, Di Lenarda R. Influence of whitening on the degree of conversion of dental adhesives on dentin. *Eur J Oral Sci* 2006; 114(3): 257-262.
27. Ben-Amar A, Liberman R, Gorfil C, Bernstein Y. Effect of night guard bleaching on enamel surface. *Am J Dent* 1995; 8: 29-32.
28. Josey AL, Meyers IA, Romanik K, Symons AL. The effect of vital bleaching technique on enamel surface morphology and the bonding of composite resin to enamel. *J Oral Rehabil* 1996; 23: 244-250.
29. Baldián PA, Arcos LC, Mora MA. Efecto de los fluoruros en la composición química del esmalte dental posblanqueamiento. *Univ Odontol* 2011; 30(65): 41-49.
30. Manzini JL. Declaración de Helsinki: Principios éticos para la investigación médica sobre sujetos humanos. *Acta Bioethica* 2000; 6(2): 321-334.
31. Colombia Ministerio de Salud. Resolución N.º 8430 de 1993, octubre 4, por la cual se establecen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud. Título II. De la investigación en seres humanos. Capítulo 1. De los aspectos éticos de la investigación en seres humanos: Artículos 4 al 16. Bogotá: El Ministerio; 1993.
32. Comité Materiales Odontológicos. NTC 4882. Métodos de ensayo para la evaluación de la unión adhesiva entre los materiales odontológicos y la estructura dental. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación,

- ICONTEC. Sector: 11-Tecnología del cuidado de la salud. Fecha de ratificación: 25/10/2000. Actualización: Ninguna.
33. Tschoppe P, Zandim DL, Martus P, Kielbassa AM. Enamel and dentine remineralization by nano-hydroxyapatite toothpastes. *J Den* 2011; 39(6): 430-437.
 34. Tschoppe P, Meyer-Lueckel H. Effects of regular and highly fluoridated toothpastes in combination with saliva substitutes on artificial enamel caries lesions differing in mineral content. *Arch Oral Biol* 2012; 57(7): 931-939.
 35. Tschoppe P, Kielbassa AM, Meyer-Lueckel H. Evaluation of the remineralising capacities of modified saliva substitutes in vitro. *Arch Oral Biol* 2009; 54(9): 810-816.
 36. 3M ESPE Casa comercial. Perfil técnico del producto: Adpter® Single Bond. Sistema adhesivo dental. [en línea] [fecha de acceso 15 de octubre de 2012]; URL disponible en: <http://multimedia.3m.com/mwsmediaweb-server?UUUUUUC04ehUnx7UGx7UUUPJtEttttS->
 37. Torneck CD, Titley KC, Smith DO, Adibfar A. Effect of water leaching on the adhesion of composite resin to bleached and unbleached enamel. *J Endod* 1991; 17: 156-160.
 38. Gokce B, Comlekoglu ME, Ozpinar B, Türkün M, Demirbas AK. Effect of antioxidant treatment on bond strength of a luting resin to bleached enamel. *J Dent* 2008; 36: 780-785.
 39. Kimyai S, Oskooe SS, Rafighi A, Valizadeh H, Ajami AA, Helali ZZ. Comparison of the effect of hydrogel and solution forms of sodium ascorbate on orthodontic bracket-enamel shear bond strength immediately after bleaching: An *in vitro* study. *Indian J Dent Res* 2010; 21: 54-58.
 40. Suelieman M, Addy M, Macdonald E, Ress J. The leaching depth of a 35% hydrogen peroxide based in-office product: a study *in vitro*. *J Dent* 2005; 33: 33-40.
 41. Titley KC, Torneck CD, Ruse ND. The effect of carbamide-peroxide gel on the shear bond strength of a microfilm resin to bovine enamel. *J Dent Res* 1992; 71: 20-24.
 42. Miranda AM, Bermejo GN, Bazan JE, Saravia MA. Efectos de un blanqueamiento dental con ozono y otro con peróxido de carbamida al 22% sobre la fuerza de adhesión al esmalte en diferentes intervalos de tiempo. *Acta Odontol Venez* 2009; 47(4): 69-77.
 43. 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.
 44. Gómez ME, Campos A. Esmalte. En: Histología y embriología bucodental. 2ed. Madrid: Médica Panamericana; 2003. p. 273-316.
 45. Whittaker DK. Structural variations in the surface zone of human tooth enamel observed by scanning electron microscopy. *Archs Oral Biol* 1982; 27(5): 383-392.
 46. Shi XC, Ma H, Zhou JL, Li W. The effect of cold-light-activated bleaching treatment on enamel surfaces in vitro. *Int J Oral Sci* 2012; 4: 208-213.
 47. Hegedüs C, Bistey T, Flóra-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.
 48. Pérez LF, Díaz AM, Aguirre M, Alcántara CM, Aguilar RE, Acedo JE et al. Efecto del peróxido de carbamida sobre el esmalte dentario a diferentes concentraciones y tiempos de exposición (estudio *in vitro*). *Odontol Sanmarquina* 2004; 8(1): 25-29.
 49. Rodrigues JA, Oliveira GP, Amaral CM. Effect of thickener agents on dental enamel microhardness submitted to at-home bleaching. *Braz Oral Res* 2007; 21(2): 170-175.
 50. Chen HP, Chang CH, Liu JK, Chuang SF, Yang JY. Effect of fluoride containing bleaching agents on enamel surface properties. *J Dent* 2008; 36(9): 718-725.
 51. Dominguez JA, Bittencourt B, Michel M, Sabino N, Gomes JC, Gomes OM. Ultrastructural evaluation of enamel after dental bleaching associated with fluoride. *Microsc Res Tech* 2012; 75(8): 1093-1098.
 52. Adebayo OA, Burrow MF, Tyas MJ. Effects of conditioners on microshear bond strength to enamel after carbamide peroxide bleaching and/or casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate (CPP-ACP) treatment. *J Dent* 2007; 35(11): 862-870.
 53. Zhao J, Liu Y, Sun WB, Zhang H. Amorphous calcium phosphate and its application in dentistry. *Chem Cent J* 2011; 5: 40.
 54. Goswami M, Saha S, Chaitra TR. Latest developments in non-fluoridated remineralizing technologies. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 2012, 30(1): 2-6.
 55. Cvitko E, Deheny GE, Swift Jr EJ, Pires JA. Bond strength of composite resin to enamel bleached with carbamide peroxide. *J Esthet Dent* 1991; 3: 100-102.
 56. Rotstein I, Dankner E, Goldman A, Heling I, Stabholz A, Zalkind M. Histochemical analysis of dental hard tissues following bleaching. *J Endod* 1996; 22: 23-26.

57. Baldíón PA, Viteri LN, Lozano E. Efecto de la peroxidasa sobre la resistencia de unión de una resina compuesta al esmalte dental posblanqueamiento. *Rev Fac Odontol Univ Antioq* 2012; 24(1): 8-21.
58. Kaya AD, Türkün M. Reversal of dentin bonding to bleached teeth. *Oper Dent* 2003; 28(6): 825-829.
59. Türkün M, Kaya AD. Effect of 10% sodium ascorbate on the shear bond strength of composite resin to bleached bovine enamel. *J Oral Rehab* 2004; 31: 1184-1191.
60. Barghi N, Godwin JM. Reducing the adverse effect of bleaching on composite-enamel bond. *J Esthet Dent* 1994; 6: 157-161.
61. García EJ, Oldoni TL, Alencar SM, Reis A, Loguercio AD, Grande RH. Antioxidant activity by DPPH assay of potential solutions to be applied on bleached teeth. *Braz Dent J* 2012; 23: 22-27.
62. Da Costa DB, Mazur RF. Effects of the new formulas of bleaching gel and fluoride application on enamel microhardness: An in vitro study. *Oper Dent* 2007; 32: 589-594.
63. Barkvoll P. Effect of sodium lauryl sulfate on the uptake of fluoride from NaF and MFP by etched enamel in vitro. *J Biol Buccale* 1991; 19(3): 235-239.
64. Kennedy DO, Scholey AB. The psychopharmacology of European herbs with cognition-enhancing properties. *Curr Pharm Des* 2006; 12(35): 4613-4623.
65. Dedio I. Value of Calendula officinalis as a tannin source. *Herba Pol* 1983; 29(3-4): 211-216.
66. Brasseur T, Abgenot L, Pricemail J, Debev C. Free radical formation inhibiting and antioxidant properties of flavonoids. *J Exptl Biol Med* 1986; 37: 533-548.
67. Groppo FC, de Cássia BC, Cogo K, Franz-Montan M, Lopes RH, Dias AE. Use of phytotherapy in dentistry. *Phytother Res* 2008; 22(8): 993-1133.
68. Lu Y, Foo LY. Flavonoid and phenolic glycosides from *Salvia officinalis*. *Phytochemistry* 2000; 55(3): 263-267.
69. Halliwell B, Rafter J, Jenner A. Health promotion by flavonoids, tocopherols, tocotrienols, and other phenols: direct or indirect effects? Antioxidant or not? *Am J Clin Nutr* 2005; 81(suppl): 268-276.
70. Roginsky V. Chain-breaking antioxidant activity of natural polyphenols as determined during the chain oxidation of methyl linoleate in Triton X-100 micelles. *Arch Biochem Biophys* 2003; 414: 261-270.
71. Freire A, Souza E, Bazzetto D, Ribeiro E, Cynthia C, Marins R et al. Reaction kinetics of sodium ascorbate and dental bleaching gel. *J Dent* 2009; 37: 932-936.
72. Lai S, Mak Y, Cheung G, Osorio R, Toledano M. Reversal of compromised bonding to oxidized etched dentin. *J Dent Res* 2001; 80: 1919-1924.
73. Tezel H, Ertaş OS, Ozata F, Dalgar H, Korkut ZO. Effect of bleaching agents on calcium loss from the enamel surface. *Quintessence Int* 2007; 38(4): 339-347.
74. Attin T, Kielbassa AM, Schwanenberg M, Hellwig E. Effect of fluoride treatment on remineralization of bleached enamel. *J Oral Rehabil* 1997; 24: 282-286.
75. Attin T, Hanning G, Wiegand A, Attin R. Effect of bleaching on restorative materials and restorations. A systematic review. *Dent Mater* 2004; 20: 852-861.
76. Cochrane NJ, Cai F, Huq NL, Burrow MF, Reynolds EC. New approaches to enhanced remineralization of tooth enamel. *J Dent Res* 2010; 89: 1187-1197.
77. Lewinstein I. Effect of different peroxide bleaching regimens and subsequent fluoridation on the hardness of human enamel and dentin. *J Prosthet Dent* 2004; 92: 337-342.
78. Cavalli V, Rodrigues LK, Paes-Leme AF, Brancalion ML, Arruda MA, Berger SB, et al. Effects of bleaching agents containing fluoride and calcium on human enamel. *Quintessence Int* 2010; 41: 157-165.
79. Tschoppe P, Neumann K, Mueller J, Kielbassa AM. Effect of fluoridate bleaching gels on the remineralization of predemineralized bovine enamel in vitro. *J Dent* 2009; 37(2): 156-162.