

MICHAŁ CHROBAK¹, URSZULA KACZMAREK²

Wpływ wybielania zębów nadtlenkiem wodoru na mikrotwardość szkliwa

Effect of Teeth Bleaching by Hydrogen Peroxide on Enamel Microhardness

¹ Prywatna praktyka stomatologiczna „Stomadent”, doktorant w Katedrze i Zakładzie Stomatologii Zachowawczej i Dziecięcej Akademii Medycznej we Wrocławiu

² Katedra i Zakład Stomatologii Zachowawczej i Dziecięcej Akademii Medycznej we Wrocławiu

Streszczenie

Wprowadzenie. W odpowiedzi na żądania pacjentów odnośnie do poprawy koloru zębów stawiane stomatologii estetycznej wprowadzono kilka systemów wybielania zębów. Powszechnie stosowanymi czynnikami aktywnymi do wybielania profesjonalnego, w gabinecie i w domu, są nadtlenek wodoru i nadtlenek karbamidu. Chociaż wykazano satysfakcjonującą zdolność tych związków chemicznych do rozjaśniania zębów, to nadal niepokój budzi ich oddziaływanie na tkanki zęba.

Cel pracy. Ocena wpływu wybielania zębów na mikrotwardość szkliwa w warunkach *in vitro*.

Materiał i metody. Z ludzkich zębów przedtrzonowych i trzonowych sporządzono bloczki stanowiące szkliwo i zębinę. Każdy bloczek podzielono na dwie części: niewybielaną – próba kontrolna (n = 9) i wybielaną – próba badana (n = 9). Do wybielania zastosowano LaserSmile Teeth Whitening System®. System ten stanowi 37% nadtlenek wodoru w żelu, który jest aktywowany laserem diodowym emitującym zakres fal długości ok. 810 nm. W warunkach klinicznych na jeden cykl wybielania składa się 3-krotna aplikacja żelu poddawana zróżnicowanej czasowo aktywacji. Badane próby poddawano 1 cyklowi wybielania (n = 5) lub większej liczbie cykli wybielania (n = 4). Mikrotwardość szkliwa mierzono za pomocą testu twardości Vickersa. Za pomocą diamentowego wgłębnika wykonywano 5 wgłębień w różnych miejscach danej próby z użyciem obciążenia 50 g przez 15 s. Z uzyskanych 5 pomiarów obliczano wartość średnią, która stanowiła wartość twardości każdej próby.

Wyniki. Wybielane próbki w porównaniu z niewybielanymi wykazały istotną statystycznie redukcję w mikrotwardości szkliwa.

Wnioski. Wybielanie zębów z użyciem systemu LaserSmile Teeth Whitening System zmniejsza mikrotwardość szkliwa w warunkach *in vitro* (**Dent. Med. Probl. 2009, 46, 1, 63–68**).

Słowa kluczowe: nadtlenek wodoru, wybielanie w gabinecie, test mikrotwardości Vickersa, szkliwo.

Abstract

Background. Several bleaching systems have been introduced in response to the patients' demands in range of the improvement of the colour teeth placed to aesthetic dentistry. The active agents commonly used for the bleaching in-office and at home are hydrogen peroxide or carbamide peroxide. Although positive results have been reported as for the teeth whitening ability of these chemical compounds, concerns still remain as to their impact on dental tissues.

Objectives. Evaluation of the effect of bleaching teeth on enamel microhardness *in vitro* condition.

Material and Methods. Block samples consisted of enamel and dentin were obtained from human premolars and molars. Each sample was divided into two part – the control unbleached specimen (n = 9) and the studied bleached specimen (n = 9). LaserSmile Teeth Whitening System® was used for bleaching. It consists of 37% hydrogen peroxide gel, which is activated by diode laser emitted wavelength spectrum ca. 810 nm. In clinical setting one cycle of the bleaching consists of 3-fold gel application subjected by different time of activation. The bleaching specimens were subjected to 1 bleaching cycle (n = 5) and more (n = 4). Microhardness of the enamel was measured with use of Vicker's microhardness test. Indentations were made with a diamond indenter of five separate locations using 50 g load for 15 s. The five values were averaged to produce one hardness value for each specimen.

Results. The bleached specimens in comparison to unbleached ones showed the statistically significant reduction in enamel microhardness.

Conclusions. Bleaching teeth with use of LaserSmile Teeth Whitening System decreases the enamel microhardness *in vitro* condition (**Dent. Med. Probl.** 2009, 46, 1, 63–68).

Key words: hydrogen peroxide, in-office bleaching, Vicker's microhardness test, enamel.

W ostatnich latach wzrosły oczekiwania estetyczne pacjentów. Wykazano, że 35% kobiet i 41% mężczyzn uznaje „ośniewająco białe, zdrowe zęby” za najbardziej istotną cechę wpływającą na atrakcyjny wygląd twarzy [1]. Postrzegana barwa zębów jest wynikiem kombinacji ich własnego koloru i obecności przebarwień wewnątrz- i zewnątrzpochoodnych. Kolor zęba jest rezultatem interakcji światła z twardymi tkankami zęba polegającej na jego odbiciu, rozproszeniu i transmisji oraz absorpcji i absorpcji z fluorescencją. Chociaż barwa zęba zależy od właściwości rozpraszania i absorpcji światła przez szkliwo i zębinę, to ogólnie determinowana jest przez zębinę. Źródłem przebarwień zewnętrznych powstających na mniej dostępnych do oczyszczania powierzchniach zębów jest bogate w taninę pożywienie, niektóre środki lecznicze (chlorheksydyna, sole cyny i żelaza) oraz palenie tytoniu. W celu poprawy barwy zębów stosuje się różne metody wybielania, w tym domowe wykonywane przez pacjenta pod kontrolą stomatologa (tzw. wybielanie nakładkowe) lub samodzielnie bez kontroli lekarza (wybielające pasty do zębów i inne produkty dostępne bez recepty), profesjonalne zabiegi wybielania i kwasową mikroabrazję oraz licówki i korony ceramiczne w gabinecie [2, 3].

Metody wybielania zębów są oparte na nadtlenu wodoru, który może być stosowany bezpośrednio lub tworzyć się z innych związków chemicznych, takich jak, nadtlenek karbamidu (moczniaka), nadboran sodu i nadwęglan sodu. Nadtlenek karbamidu w kontakcie z wodą rozkłada się na mocznik i nadtlenek wodoru, którego stężenie stanowi 1/3 koncentracji nadtlenu karbamidu. Nadboran sodu i nadwęglan sodu powoli uwalniają nadtlenek wodoru. Stosowane współcześnie metody wybielania można sklasyfikować w odniesieniu do sposobu stosowania i stężenia nadtlenu. Najczęściej dzieli się je na zabiegi wykonywane przez lekarza w zębach z żywą i martwą miazgą (bezmiazgowych) z użyciem dużego stężenia środka wybielającego (35–37% nadtlenek wodoru lub ok. 40% nadtlenu karbamidu), pod kontrolą stomatologa w domu z użyciem indywidualnych nakładek z zastosowaniem mniejszego stężenia środków wybielających (do 20% nadtlenu karbamidu lub 10% nadtlenu wodoru) oraz preparatów z małym stężeniem środka wybielającego (do 10% nadtlenu karbamidu) ogólnie dostępnych dla pa-

cientów (OTC) [2, 3]. Zaletami metody profesjonalnego wybielania w gabinecie stomatologicznym jest kontrola procesu wybielania przez stomatologa, bezpieczeństwo przed uszkodzeniem tkanek miękkich i poknięciem środka wybielającego, krótki czas zabiegu i natychmiastowy efekt. Ponadto, w celu przyspieszenia procesu wybielania są stosowane różne źródła światła, takie jak lampy halogenowe i plazmowe oraz lasery [2–6]. Emitowane światło zwiększa szybkość tworzenia się wolnych rodników tlenu i zwiększa eliminację przebarwionych molekuł.

Wybielanie jest procesem dekoloryzacji lub rozjaśniania występującym w roztworze lub na powierzchni. Substancje barwne, nazywane chromoforami, są związkami organicznymi typowo mającymi długie sprzężone łańcuchy zawierające pojedyncze lub podwójne wiązania, sprzężone heterogenne atomy, pierścienie węglowe i fenylowe. Wybielanie i dekoloryzacja chromoforu następuje przez zniszczenie jednego lub więcej podwójnych wiązań w sprzężonym łańcuchu, rozszczepienie sprzężonego łańcucha lub przez oksydację innej chemicznej części w sprzężonym łańcuchu [3].

Nadtlenek wodoru utlenia wiele organicznych i nieorganicznych związków, ale mechanizmy reakcji utleniania są różne i zależą od substratu, środowiska i katalizatora. Chociaż sposób wybielania przez nadtlenek wodoru nie jest w pełni wyjaśniony, to wiadomo, że powstają różne formy aktywnego tlenu w zależności od temperatury, pH, obecności światła i metali. W warunkach alkalicznych wybielanie następuje przez anion nadhydroksylowy (HO_2^-). Kwaśne środowisko sprzyja natomiast powstawaniu $\text{O}_2 + \text{H}^+$. W innych warunkach wzrasta tworzenie wolnych rodników, np. przez hemolityczne rozszczepienie w nadtlenu wodoru wiązań O-H lub O-O i powstawanie odpowiednio $\text{H}^+ + \cdot\text{OOH}$ i $2 \cdot\text{OH}$ (rodniki hydroksylowe) [3]. W inicjowanych fotochemicznie reakcjach z zastosowaniem światła lub lasera zwiększa się tworzenie rodników hydroksylowych [2, 7].

Po podaniu środka wybielającego na powierzchnię zęba nadtlenek wodoru dyfunduje do szkliwa i przekraczając połączenie szkliwno-zębinowe, osiąga zębinę. Reaguje z chromoforami znajdującymi się w twardych tkankach zębów, powodując zmianę ich zabarwienia. Istnieje jednak granica procesu wybielania, zwana punktem nasycenia (*saturation point*), w którym dalsze wybiela-

nie zostaje zatrzymane i rozpoczyna się destrukcja struktury zęba. Nadmierne wybielanie zębów powoduje ryzyko utlenienia białek szkliwa i zębiny, co w następstwie prowadzi do kruchości i wzrostu porowatości twardych tkanek zęba [8].

Powszechność stosowania zabiegów wybielania zębów i stałe pojawianie się na rynku nowych zestawów do wybielania są przyczyną podejmowania badań nad ich skutecznością i bezpieczeństwem. Dane dotyczące oddziaływania procesu wybielania na strukturę, mikrotwardość i skład chemiczny twardych tkanek zęba nie są w pełni zgodne [9–12], a zatem przydatne jest podjęcie kolejnych badań w tym zakresie.

Celem pracy było określenie wpływu wybielania zębów z użyciem 37% nadtlenu wodoru aktywowanego laserem na mikrotwardość szkliwa w warunkach *in vitro*.

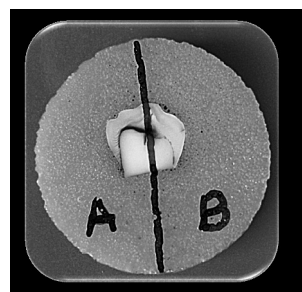
Material i metody

Material badawczy stanowiło 9 wyrzniętych zębów przedtrzonowych i trzecich trzonowych, usuniętych ze wskazań ortodontycznych u osób obojga płci w wieku 21–26 lat. Na pobranie zębów do badań uzyskano pisemną zgodę pacjentów, a na wykonanie badań zgodę Komisji Bioetycznej. W powiększeniu 10-krotnym oceniano zęby pod kątem braku obecności pęknięć i zmian rozwojowych szkliwa. Do czasu przeprowadzenia badania zęby przechowywano w roztworze soli fizjologicznej z tymolem w celu zahamowania rozwoju bakterii i dehydratacji. Po oczyszczeniu za pomocą piaskarki profilaktycznej (Prophyflex) wycinano wargowe powierzchnie zębów, tworząc bloczki o równej podstawie. Bloczek pochodzący z danego zęba dzielono na dwie części, uzyskując dwie próby: kontrolną – niewybielaną i badaną – wybielaną. Powierzchnię próby kontrolnej zabezpieczono tzw. „płynnym koferdamem” przed kontaktem z żelą wybielającym i promieniowaniem lasera.

Do wybielania zastosowano system LaserSmile Teeth Whitening System® (Biolase). W skład systemu wchodzi 37% nadtlenek wodoru w postaci żelu o pH 7 oraz jako aktywator i źródło energii laser diodowy o zakresie długości fali ok. 810 nm. W warunkach klinicznych na jeden cykl wybielania składa się 3-krotne stosowanie żelu, którego pierwszą warstwę aktywuje się laserem 8-krotnie po 15 s, a drugą i trzecią – 4-krotnie po 15 s. Taki schemat wybielania zastosowano w pięciu próbach, a w pozostałych czterech powtórzono go 2-, 3-, 4- i 5-krotnie.

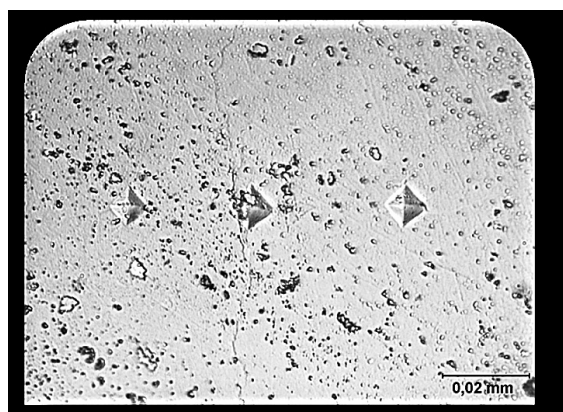
Do oceny mikrotwardości szkliwa przed i po wybielaniu zastosowano test mikrotwardości według Vickersa przeprowadzony za pomocą mikro-

twardościomierza firmy Reichert i obciążenia 50 g działającego przez 15 s w warunkach zgodnych z PN-EN ISO 6507/1: 1999. Użycie węgłbnika diamentowego w kształcie piramidy powoduje powstanie w badanej próbie odcisku o przekroju równoległoboku. Twardość materiału oceniano, mierząc pole powierzchni odcisku – zagłębienia, a wyniki wyrażono w daN/mm². Im mniejsze jest pole powierzchni, tym większa jest twardość. W celu uzyskania stabilnego zamocowania badanej próby zatapiało ją w masie szybko polimeryzującej (Duracryl Plus, Spofa) i następnie próby szlifowano w celu uwidocznienia przekroju poprzecznego szkliwa i zębiny (ryc. 1). Taki sposób postępowania zapewniał pomiar mikrotwardości szkliwa z całkowitym wykluczeniem wpływu twardości zębiny. Sytuacja taka mogłaby mieć miejsce w przypadku wykonywania pomiaru bezpośrednio z powierzchni szkliwa. Na każdej próbie badanej i kontrolnej wykonano po pięć pomiarów i obliczono średnią wartość pomiaru danej próby. Przekątne odcisków mierzono przy powiększeniu 500-krotnym w mikroskopie skaningowym (ryc. 2).



Ryc. 1. Zatopiona i oszlifowana próba zęba przygotowana do pomiaru mikrotwardości

Fig. 1. The immersed and polished tooth probe prepared for microhardness measurement



Ryc. 2. Zagłębienia powstałe w wyniku kontaktu szkliwa z węgłbnikiem diamentowym (powiększenie 500×)

Fig. 2. Indentations resulting from the contact of enamel with a diamond indenter (magnification ×500)

W analizie statystycznej danych, po sprawdzeniu zgodności z rozkładem normalnym za pomocą testu Shapiro-Wilka, istotność różnic wartości średnich między grupą kontrolną i badaną oceniano testem *t*-Studenta, za istotny przyjmując poziom $p \leq 0,05$.

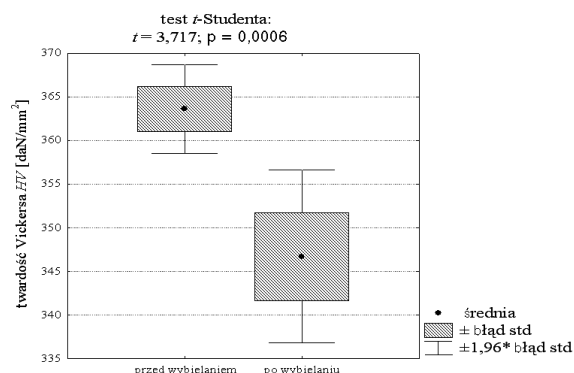
Wyniki i ich omówienie

Ze względu na niewielką liczbę prób ($n = 18$, tj. 9 badanych i 9 kontrolnych) analizę materiału przeprowadzono tylko w odniesieniu do prób wybielanych względem odpowiadających im prób niewybielanych. Wykazano statystycznie istotne zmniejszenie mikrotwardości szkliwa po wybielaniu ($p < 0,0006$) w odniesieniu do niepoddanych wybielaniu prób kontrolnych ($363,0 \text{ daN/mm}^2$ vs $346,5 \text{ daN/mm}^2$) (ryc. 3).

Z wielu prac wynika, podobnie jak z badania własnego, zmniejszenie mikrotwardości szkliwa w następstwie działania środków wybielających. Nie brakuje jednak publikacji donoszących o braku oddziaływania wybielania na fizyczne właściwości szkliwa. Uzyskiwanie odmiennych danych może wynikać ze schematu przeprowadzanej oceny oraz ze sposobu przeprowadzania pomiaru mikrotwardości. Istotnymi parametrami tego badania jest nacisk węgelnika diamentowego (w gramach) oraz czas jego działania (w sekundach) na badaną powierzchnię. W badaniach przeprowadzanych przez różnych autorów parametry te różnią się znacząco. Zastosowany w nich nacisk wynosił 25 g [13–15], 50 g [6, 10, 11], a nawet 300 g [5], a czas – 5 [10, 11, 14, 16], 10 [6] i 20 s [17]. W badaniu własnym użycie obciążenia 300 g spowodowało zniszczenie próby, co nasuwa przypuszczenie, że taki nacisk może być zastosowany w innej orientacji w stosunku do długiej osi zęba. Brak standaryzacji parametrów pomiaru jest zatem prawdopodobnie głów-

nym powodem odmienności uzyskiwanych wyników przez różnych autorów.

Zmniejszenie mikrotwardości szkliwa wykazano zarówno po zastosowaniu preparatów wybielających z dużą, jak i mniejszą zawartością nadtlenu wodoru i nadtlenu karbamidu. Jiang et al. [18] wykazali zmniejszenie mikrotwardości szkliwa po zastosowaniu 30% nadtlenu wodoru i wnioskowali, że może on wpływać ujemnie zarówno na substancje nieorganiczne (mineralne), jak i organiczne szkliwa. Podobne wyniki uzyskali Pinto et al. [15], którzy w badaniu *in vitro* zastosowali, zgodnie z zaleceniami producenta, handlowo dostępne preparaty wybielające zawierające nadtlenek mocznika w stężeniach 10, 25 i 37% oraz nadtlenek wodoru w koncentracjach 7,5 i 35%. Zaobserwowali istotne zmniejszenie mikrotwardości po wybielaniu, ok. 3-krotne dla 10% nadtlenu karbamidu i 7,5% nadtlenu wodoru, ok. 4-krotne dla 37% nadtlenu mocznika i ok. 5-krotne dla 35% nadtlenu wodoru w odniesieniu do wartości wyjściowej. Lopes et al. [19] wykazali znamienne zmniejszenie mikrotwardości szkliwa po zastosowaniu 3% nadtlenu wodoru w żelu i brak zmiany po zastosowaniu 10% nadtlenu karbamidu. Niewielkie zmniejszenie mikrotwardości stwierdzili Rodriguez et al. [11], stosując w warunkach *in vitro* kombinacje klinicznego wybielania w gabinecie i w domu z użyciem odpowiednio 37 i 10% nadtlenu karbamidu. Zauważyli również pewne negatywne działanie nośnika (Carbopol 934P) stosowanego w wielu preparatach wybielających. Basting et al. [13], oceniając wpływ różnych stężeń nadtlenu karbamidu (10, 15, 16, 20 i 22%), zanotowali zróżnicowane zmniejszenie mikrotwardości szkliwa. Wykazali także, iż zanurzenie wybielonych próbek szkliwa w roztworze sztucznej śliny powodowało wzrost mikrotwardości, który jednak nie osiągał wartości wyjściowych. W kilku pracach oceniano wpływ obecności fluorków na mikrotwardość zębów poddanych procesowi wybielania. Oliveira et al. [14] zastosowali 10% nadtlenek karbamidu bez i z dodatkami wapnia (0,05% i 0,1%) oraz fluoru (0,2 i 0,5%). Zaobserwowali obniżenie mikrotwardości powierzchniowego szkliwa niezależnie od obecności wapnia i fluoru w preparatach wybielających. Wiegand et al. [20] po stosowaniu 10% nadtlenu karbamidu w żelu przez 8 godz. dziennie w ciągu 14 dni również zanotowali obniżenie mikrotwardości szkliwa. Wykazali również, iż zastosowanie past fluorkowych zapobiega zmniejszeniu mikrotwardości po wybielaniu w warunkach *in vitro*. W innej pracy zastosowano preparaty wybielające oparte na 10% nadtlenu karbamidu, które zawierały dodatkowo 0,11% fluoru i/lub 3% azotanu potasu [21]. Zaobserwowano istotne zmniejs-



Ryc. 3. Mikrotwardość szkliwa przed i po wybielaniu

Fig. 3. Microhardness of enamel before and after bleaching

szenie mikrotwierdości po zastosowaniu wszystkich środków wybielających, ale próby dodatkowo zanurzone w 1,23% roztworze fluoru wykazały zwiększenie mikrotwierdości.

Z wielu badań wynika brak istotnego ograniczenia mikrotwierdości szkliwa po użyciu preparatów z różną zawartością środka wybielającego. Taką obserwację przeprowadzono dla nadtlenku mocznika w stężeniach 10% [16], 10 i 15% [17], oraz 12 i 13% [22]. Podobne spostrzeżenia poczyniono dla preparatów zawierających 35% nadtlenek wodoru [5] i dla stężeń 28, 30 i 35% nadtlenku wodoru [23].

Według Fejerskova et al. [24] test mikrotwierdości wykazuje wyraźną i bezpośrednią zależność z zawartością substancji mineralnych w szkliwie. Pomiar mikrotwierdości jest zatem nie tylko informacją o zmianach twardości, ale także pośrednim pomiarem utraty lub zysku substancji mineralnej i przypuszczalnie demineralizacji. Z kilku badań wynika możliwość redepozycji substancji mineralnej utraconej w wyniku wybielania [25–27]. Danych uzyskanych w badaniach *in vitro* nie można zatem w pełni ekstrapolować do warunków klinicznych ze względu na zdolności remineralizacyjne śliny zwiększane jeszcze dostarczaniem fluoroków do środowiska jamy ustnej. Takie wyjaśnienie jest zgodne z wynikami badań ten Cate [28],

który wykazał, że szkliwo zdeminalizowane jest bardziej podatne na remineralizację niż zdrowe. Kiedy środek wybielający powoduje demineralizację szkliwa, są indukowane zmiany jonowe i zwiększa się wchłanianie minerałów, które zastępują uprzednio utracone substancje. W warunkach spoczynkowego pH ślina jest nasyconym roztworem jonów wapnia i fosforanowych w odniesieniu do szkliwa. Gdy pH obniża się, wówczas ślina staje się roztworem nienasyconym i następuje uwalnianie jonów wapnia i fosforanowych ze szkliwa do chwili ustalenia nowej równowagi chemicznej – nowego stanu nasycenia. Chroni to apatyty szkliwa przed dalszym rozpuszczaniem i zwiększa w ślinie rezerwuar jonów, które mogą być redeponowane przy zmianie pH w kierunku obojętnego [29]. Za takim wyjaśnieniem przemawiają wyniki badań *in situ* wykazujące brak zmian w mikrotwierdości szkliwa po wybielaniu zębów [16, 30, 31].

W warunkach *in vitro* wybielanie zębów za pomocą systemu LaserSmile Teeth Whitening powoduje istotne zmniejszenie mikrotwierdości szkliwa. Ponieważ danych tych, ze względu na zdolności remineralizujące śliny, nie można bezpośrednio odnosić do sytuacji klinicznej, należałoby przeprowadzić kolejne badania w warunkach *in situ*.

Piśmiennictwo

- [1] KIELBASSA A., ZANTNER C.: Znaczenie zabiegów wybielania zębów. *Quintessence* 2002, 10, 135–142.
- [2] DAHL J.E., PALLESEN U.: Tooth bleaching. A critical review of the biological aspects. *Int. Am. Assoc. Dent. Res.* 2003, 14, 292–304.
- [3] JOINER A.: The bleaching of teeth: A review of literature. *J. Dent.* 2006, 34, 412–419.
- [4] LUK K., TAM L., HUBERT M.: Effect of light energy on peroxide tooth bleaching. *J. Am. Dent. Assoc.* 2004, 135, 194–201.
- [5] SULIEMAN M., ADDY M., MACDONALD E., REES J.S.: A safety study *in vitro* for the effects of an in-office bleaching system on the integrity of enamel and dentine. *J. Dent.* 2004, 32, 581–590.
- [6] CESAR I.C.R., REDIGOLO M.L., LIPORONI P.C.S., MUNIN E.: Analyses by photoreflectance spectroscopy and Vicker's hardness of conventional and laser-assisted tooth bleaching. *Am. J. Dent.* 2005, 18, 219–222.
- [7] KASHIMA-TANAKA M., TSUJIMOTO Y., KAWAMOTO K., SENDA N., ITO K., YAMAZAKI M.: Generation of free radicals and/or active oxygen by light or laser irradiation of hydrogen peroxide or sodium hypochlorite. *J. Endod.* 2003, 29, 141–143.
- [8] GOLDSTEIN R.E., GARBER D.A.: Complete dental bleaching. Quintessence Publishing C., Chicago 1995.
- [9] COLLINS L.Z., MAGGIO B., LIEBMAN J., BLANCK M., LEFORT S., WATERFIELD P., LITTLEWOOD D., NAEENI M., SCHÄFFER F.: Clinical evaluation of a novel whitening gel, containing 6% hydrogen peroxide and standard fluoride toothpaste. *J. Dent.* 2004, 32, 13–17.
- [10] RODRIGUES J.A., ERHARDT M.C.G., MARCHI G.M., PIMENTA L. A.F., AMBROSANO G.M.B.: Association effect of in-office bleaching and nightguard vital bleaching on dental enamel microhardness. *Braz. J. Oral Sci.* 2003, 2, 365–369.
- [11] RODRIGUES J.A., MARCHI G.M., AMBROSANO G.M.B., HEYMANN H.O., PIMENTA L.A.: Microhardness evaluation of *in situ* vital bleaching on human dental enamel using a novel study design. *Dent. Mater.* 2005, 21, 1059–1067.
- [12] PRETTY I.A., EDGAR W.M., HIGHAM S.M.: The effect of bleaching on enamel susceptibility to acid erosion and demineralization. *Br. Dent. J.* 2005, 198, 285–290.
- [13] BASTING R.T., RODRIGUES A.L. JR., SERRA M.C.: The effects of seven carbamide peroxide bleaching agents on enamel microhardness over time. *J. Am. Dent. Assoc.* 2003, 134, 1335–1342.
- [14] OLIVEIRA R., PAES LEME A.F., GIANNINI M.: Effect of carbamide peroxide bleaching gel containing calcium or fluoride on human enamel surface microhardness. *Braz. Dent. J.* 2005, 16, 103–106.

- [15] PINTO C.F., OLIVEIRA R., CAVALLI V., GIANNINI M.: Peroxide bleaching agent effects on enamel surface microhardness, roughness and morphology. *Braz. Oral Res.* 2004, 18, 306–311.
- [16] ARAUJO E.M., BARATIERI L.N., VIEIRA L.C., RITTER A.V.: *In Situ* Effect of 10% carbamide peroxide on microhardness of human enamel: function of time. *J. Esthet. Restor. Dent.* 2003, 15, 166–174.
- [17] ÜNLÜ N., ÇOBANKARA F.K., ALITNÖZ C., ÖZER F.: Effect of home bleaching agents on the microhardness of human enamel and dentin. *J. Oral Rehabil.* 2004, 31, 57–61.
- [18] JIANG T., MA X., WANG Y., TONG H., SHEN X., HU Y., HU J.: Investigation of the effects of 30% hydrogen peroxide on human tooth enamel by Raman scattering and laser-induced fluorescence. *J. Biomed. Opt.* 2008, 13, 14–19.
- [19] LOPES G.C., BONISSONI L., BRATIERI L.N., VIEIRA L.C.C., MONTEIRO JR S.: Effects of bleaching agents on the hardness and morphology of enamel. *J. Esthet. Restor. Dent.* 2002, 14, 24–30.
- [20] WIEGAND A., SCHREIER M., ATTIN T.: Effect of different fluoridation regimes on the microhardness of bleached enamel. *Oper. Dent.* 2007, 32, 610–615.
- [21] DA COSTA J.B., MAZUR R.F.: Effects of new formulas of bleaching gel and fluoride application on enamel microhardness: an *in vitro* study. *Oper. Dent.* 2007, 32, 589–594.
- [22] GÖTZ H., DUSCHNER H., WHITE D.J., KLUKOWSKA M.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.
- [23] POLYDOROU O., HELLWIG E., HAHN P.: The efficacy of three different in-office bleaching systems and their effect on enamel microhardness. *Oper. Dent.* 2008, 33, 579–586.
- [24] FEJERSKOV O., THYLSTRUP A., LARSEN M.J.: Rational use of fluorides in caries prevention. A concept based on possible cariostatic mechanisms. *Acta Odontol. Scand.* 1981, 39, 241–249.
- [25] SHANNON H., SPENCER P., GROSS K., TIRA D.: Characterization of enamel exposed to 10% carbamide peroxide bleaching agents. *Quintess Int.* 1993, 24, 39–44.
- [26] FLAITZ C.M., HICKS M.J.: Effects of carbamide peroxide whitening agents on enamel surfaces and caries-like lesion formation: an SEM and polarized light microscopic *in vitro* study. *J. Dent. Child.* 1996, 63, 249–266.
- [27] ATTIN T., KIELBASSA A.M., SCHWANENBERG M., HELLWIG E.: Effect of fluoride treatment on remineralization of bleached enamel. *J. Oral Rehabil.* 1997, 24, 282–286.
- [28] TEN CATE J.M.: *In vitro* studies on the effects of fluoride on de- and remineralization. *J. Dent. Res.* 1990, 69, Spec. Issue, 614–619.
- [29] LARSEN M.J., BRUNN C.: Caries chemistry and fluoride – mechanism action. In: *Textbook of clinical cariology*, Copenhagen, Munksgaard 1998, 231–244.
- [30] JUSTINO L.M., TAMES D.R., DEMARCO F.F.: *In situ* and *in vitro* effects of bleaching with carbamide peroxide on human enamel. *Oper. Dent.* 2004, 29, 219–225.
- [31] MAIA E., BARATIERI L.N., CALDEIRA DE ANDRADA M.A., MONTEIRO S. JR., VIEIRA L.C.: The influence of two home-applied bleaching agents on enamel microhardness: an *in situ* study. *J. Dent.* 2008, 36, 2–7.

Adres do korespondencji:

Katedra i Zakład Stomatologii Zachowawczej i Dziecięcej AM
ul. Krakowska 26
50-425 Wrocław
tel/fax: 071 784 03 62
e-mail: ukaczm@stom.am.wroc.pl

Praca wpłynęła do Redakcji: 24.10.2008 r.

Po recenzji: 11.03.2009 r.

Zaakceptowano do druku: 17.03.2009 r.

Received: 24.10.2008

Revised: 11.03.2009

Accepted: 17.03.2009