

## RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 18/11/2024.



**UNESP - Universidade Estadual Paulista**  
**“Júlio de Mesquita Filho”**  
**Faculdade de Odontologia de Araraquara**



**Beatriz Voss Martins**

**Influência da associação entre biomateriais poliméricos e LED violeta sobre  
a eficácia estética, cinética de degradação e citotoxicidade de géis  
clareadores**

**Araraquara**

**2022**



**UNESP - Universidade Estadual Paulista**  
**“Júlio de Mesquita Filho”**  
**Faculdade de Odontologia de Araraquara**



**Beatriz Voss Martins**

**Influência da associação entre biomateriais poliméricos e LED violeta sobre  
a eficácia estética, cinética de degradação e citotoxicidade de géis  
clareadores**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia de Araraquara para obtenção do título de Mestre em Odontologia; Área de Reabilitação Oral.

**Orientador:** Dr. Carlos Alberto de Souza Costa

**Araraquara**

**2022**

M386i Martins, Beatriz Voss  
Influência da associação entre biomateriais poliméricos e LED  
violeta sobre a eficácia estética, cinética de degradação e  
citotoxicidade de géis clareadores / Beatriz Voss Martins. --  
Araraquara, 2022  
89 f.  
  
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),  
Faculdade de Odontologia, Araraquara  
Orientador: Carlos Alberto de Souza Costa  
  
1. Clareamento dental. 2. Toxicidade. 3. Odontoblastos. 4. Técnica  
de cultura de células. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de  
Odontologia, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

**Beatriz Voss Martins**

**Influência da associação entre biomateriais poliméricos e LED violeta sobre a eficácia estética, cinética de degradação e citotoxicidade de géis clareadores**

**Comissão julgadora**

**Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Odontologia – Área de Reabilitação Oral**

**Presidente e Orientador:** Dr. Carlos Alberto de Souza Costa

2º Examinador: Gelson Luis Adabo

3º Examinador: Débora Alves Nunes Leite Lima

Araraquara, 1 de abril de 2022.

## **DADOS CURRICULARES**

### **Beatriz Voss Martins**

|            |                                                                                                              |
|------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| NASCIMENTO | 30/03/1998 – Sapucaia do Sul – Rio Grande do Sul                                                             |
| FILIAÇÃO   | Isaac Amador Martins<br>Kelly Christina Voss Martins                                                         |
| 2015-2019  | Graduação em Odontologia pela Universidade Federal do Pará – UFPA                                            |
| 2021       | Estágio Docência em Patologia Bucal pela Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP                      |
| 2020-2022  | Pós-graduação em Odontologia – Área de Reabilitação Oral pela Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP |

Dedico este trabalho aos meus pais, **Isaac Amador Martins e Kelly Christina Voss Martins**, aqueles que representam meu alicerce na terra e são os maiores responsáveis por esta conquista.

## AGREDECIMENTOS ESPECIAIS

Primeiramente à **Deus**, por me fazer sentir Sua presença em cada etapa da minha vida, me trazendo paz e força diante das dificuldades e esperanças para o futuro. Soli Deo Gloria!

À minha família, meus pais **Isaac** e **Kelly**, por acreditarem em mim mais que eu mesma, por me darem o incentivo e investirem e apoiarem todos os meus sonhos. Aos meus irmãos **Brenda** e **Gabriel**, por compartilharem a felicidade nas nossas vitórias, pela torcida e parceria de sempre. Ao **Rayann**, por toda ajuda e incentivo durante esses dois anos. Amo muito vocês!

Ao meu orientador, **Dr. Carlos Alberto de Souza Costa**, por acreditar em mim, pela oportunidade de ser sua orientada e abrir as portas do Laboratório de Patologia Experimental de Biomateriais (LPEB). Sua orientação foi muito importante para meu crescimento pessoal e profissional por sempre nos estimular a buscar a excelência. Serei sempre grata por ter feito parte do seu grupo de pesquisa.

À Profa. Dra. **Josimeri Hebling**, pelo seu apoio e carinho de sempre, pelas contribuições no trabalho e pelas palavras de incentivo a cada etapa a ser executada.

Aos amigos de laboratório, **Igor, Carol, Uxua, Malu, Taísa, Laís, Isa, Vitória, Lídia e Rafa**, por todo aprendizado e suporte no decorrer destes 2 anos, cada trabalho ali executado tem um pouco do esforço de cada um, dessa forma, meu muito obrigada!

Ao grupo de clareamento, **Rafael** pelos ensinamentos das metodologias e pelo apoio estatístico crucial. **Marlon**, meu parceiro de pesquisa, obrigada por segurar minha mão nesses 2 anos, sei que fomos o equilíbrio um do outro para desenvolvermos estes trabalhos. Tenho muito orgulho disso.

Aos amigos de percurso, **Fernanda Ali, Amanda Ferro, Hamile Viotto, Nathália Fusco** e **Beatriz Ribas**, sou muito grata por ter tido a oportunidade de conhecer pessoas tão especiais. Obrigada por todos os momentos, desabafos e consolos, espero mantê-los em minha vida daqui para frente! Torço pelo sucesso de vocês!

Aos amigos que estavam distantes, mas sempre se fizeram presentes, **Larissa, Carol, Pamela, Ana, Aline, Thaianna, Geovanni, Paula e Darling**, amizade verdadeira não é fácil de se encontrar, que bom que tenho vocês!

## **AGRADECIMENTOS GERAIS**

À **Faculdade de Odontologia de Araraquara** (FOAr-UNESP), representada pelo Diretor Prof. Dr. Edson Alves de Campos e pela Vice-Diretora Profa. Dra. Patrícia Petromilli Nordi Sasso Garcia, que através de todos seus funcionários e professores, possibilitaram a conclusão desta etapa em minha vida.

Ao **Laboratório de Patologia Experimental e Biomateriais** da FOAr-UNESP) do Departamento de Fisiologia e Patologia, representado pelo seu coordenador Dr. Carlos Alberto de Souza Costa, local de realização da presente pesquisa.

Ao **Programa de Pós-Graduação em Odontologia**, representado pelo coordenador Prof. Dr. Paulo Sergio Cerri e pela Vice-coordenadora Dra. Morgana Rodrigues Guimarães-Stabili e a todos os funcionários e professores que contribuíram para minha formação nesta etapa da pós-graduação.

À **CAPES**: O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001.

À **FAPESP** – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processo nº 2020/08950-1) pelo apoio financeiro para a realização desta pesquisa.

*“Observar os detalhes da realidade para deduzir deles aquilo que não vemos diretamente, mas cujos indícios podemos seguir. Conscientes de que podemos sempre nos enganar e, portanto, dispostos a cada instante a mudar de ideia se aparecer um novo indício, mas sabendo também que, se formos competentes, compreenderemos corretamente, e descobriremos. A ciência é isso.”*

Carlo Rovelli\*

---

\* Rovelli C. Sete breves lições de física. São Paulo: Objetiva; 2015.

Martins BV. Influência da associação entre biomateriais poliméricos e LED violeta sobre a eficácia estética, cinética de degradação e citotoxicidade de géis clareadores [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2022.

## RESUMO

A catálise do peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) presente nos géis clareadores pode favorecer o resultado estético e reduzir a citotoxicidade causada pelo clareamento dental de consultório. Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar a influência da aplicação em esmalte, de um scaffold nanofibrilar (SN) e um primer polimérico contendo 10 mg/mL da enzima peroxidase hêmica (PPC), sobre a eficácia estética, cinética de degradação e citotoxicidade trans-amelodentinária de géis clareadores com 10%, 20% e 35% de  $H_2O_2$ , irradiados ou não com LED violeta (LED). Para isso, os seguintes grupos foram estabelecidos: **G1**- Nenhum tratamento (controle negativo); **G2**- SN+PPC; **G3**- LED; **G4**- SN+PPC+LED; **G5**- 35% $H_2O_{2comercial}$  (controle positivo); **G6**- SN+PPC+35% $H_2O_{2comercial}$ ; **G7**- SN+PPC+35% $H_2O_{2comercial}$ +LED; **G8**- 35% $H_2O_2$ ; **G9**- SN+PPC+35% $H_2O_2$ ; **G10**- SN+PPC+35% $H_2O_2$ +LED; **G11**- 20% $H_2O_2$ ; **G12**- SN+PPC+20% $H_2O_2$ ; **G13**- SN+PPC+20% $H_2O_2$ +LED; **G14**- 10% $H_2O_2$ ; **G15**- SN+PPC+10% $H_2O_2$ ; **G16**- SN+PPC+10% $H_2O_2$ +LED. Discos de esmalte/dentina (n=8) foram manchados e então submetidos ou não a aplicação dos protocolos de clareamento por 45 min. Para determinar a eficácia estética, os discos foram analisados em espectrofotômetro de reflexão-UV (sistema CIE  $L^*a^*b^*$ ,  $\Delta E_{00}$  e  $\Delta WI$ ). A geração de radicais hidroxila ( $OH^\bullet$ ) a partir da decomposição do  $H_2O_2$  também foi determinada (sonda fluorescente HORAC). Para avaliar a citotoxicidade trans-amelodentinária, os mesmos procedimentos descritos anteriormente foram realizados sobre discos de esmalte/dentina adaptados em câmaras pulpares artificiais. Os extratos (meio de cultura + componentes dos géis que se difundiram pelos discos) foram recolhidos e imediatamente aplicados sobre células odontoblastóides MDPC-23, as quais foram analisadas quanto a viabilidade (alamarBlue), estresse oxidativo (sonda carboxy- $H_2DCFDA$ ) e morfologia (microscopia eletrônica de varredura, MEV). A quantidade de  $H_2O_2$  presente nos extratos também foi determinada (violeta leucocrystal/peroxidase). Os dados coletados foram submetidos aos testes Three-Way ANOVA e Tukey ( $p < 0,05$ ), sendo a Análise de Variância para medidas repetidas usada para avaliar a geração de  $OH^\bullet$ . Aumento nos valores de  $\Delta E_{00}$  e  $\Delta WI$ , bem como da geração de  $OH^\bullet$  ocorreu nos grupos G6, G7, G9, G10, G12, G13, G15 e G16 em comparação a G1 e G2 ( $p < 0,05$ ). G16 (SN+PPC+10% $H_2O_2$ +LED) apresentou eficácia estética semelhante ao clareamento de consultório (G5;  $p > 0,05$ ). A citotoxicidade foi reduzida em todos os grupos onde SN+PPC foram aplicados sobre o esmalte antes do gel clareador (G6, G9, G12 e G15). Porém, os menores valores de citotoxicidade ocorreram nos grupos onde foi usado SN+PPC+LED (G7, G10, G13 e G16), nos quais também foi observado o menor estresse oxidativo celular em comparação aos grupos que receberam apenas o gel clareador ( $p < 0,05$ ). Assim, foi possível concluir que a fotocatálise do gel clareador com 10% de  $H_2O_2$ , aplicado sobre esmalte previamente recoberto com SN e tratado com PPC, aumenta a eficácia estética e reduz a citotoxicidade em comparação ao clareamento convencional de consultório.

**Palavras-Chave:** Clareamento dental. Toxicidade. Odontoblastos. Técnicas de cultura de células.

Martins BV. Influence of the association between polymeric biomaterials and violet LED on the aesthetic effectiveness, degradation kinetics and cytotoxicity of bleaching gels [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2022.

## ABSTRACT

The catalysis of hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) present in bleaching gels may improve the aesthetic result and reduce the cytotoxicity caused by in-office dental bleaching. Thus, the aim of the present study was to assess the influence of covering the enamel with a nanofibril scaffold (NS) and a polymeric primer containing 10 mg/mL of hemic peroxidase (PPC) on the aesthetic efficacy, degradation kinetics and trans-amelodentinal cytotoxicity of bleaching gels with 10%, 20% and 35%  $H_2O_2$ , irradiated or not with violet LED (LED). Using commercial or laboratory-made bleaching gels, which were associated or not to SN, PPC and violet LED, the following groups were established: **G1**- No treatment (negative control); **G2**- SN+PPC; **G3**- LED; **G4**- SN+PPC+LED; **G5**- 35% $H_2O_{2commercial}$  (positive control); **G6**- SN+PPC+35% $H_2O_{2commercial}$ ; **G7**- SN+PPC+35% $H_2O_{2commercial}$ +LED; **G8**- 35% $H_2O_2$ ; **G9**- SN+PPC+35% $H_2O_2$ ; **G10**- SN+PPC+35% $H_2O_2$ +LED; **G11**- 20% $H_2O_2$ ; **G12**- SN+PPC+20% $H_2O_2$ ; **G13**- SN+PPC+20% $H_2O_2$ +LED; **G14**- 10% $H_2O_2$ ; **G15**- SN+PPC+10% $H_2O_2$ ; **G16**-SN+PPC+ 10% $H_2O_2$ +LED. Enamel/dentin discs (n=8) were stained and then submitted or not to the experimental bleaching protocols for 45 min. To determine the esthetic efficacy, the discs were analyzed under a UV-reflection spectrophotometer (CIE  $L^*a^*b^*$ ,  $\Delta E_{00}$  and  $\Delta WI$  system). To evaluate the amount of hydroxyl radicals ( $OH^\bullet$ ) generated by  $H_2O_2$  degradation, a fluorescent probe (HORAC) was used. The in vitro model of artificial pulp chamber was used to assess the trans-amelodentinal cytotoxic effects caused by the treatments to the odontoblast-like MDPC-23 cells. For this purpose, the extracts (culture medium + gel components that diffused through the discs) were collected and immediately applied to the cultured cells, which were assessed concerning their viability (alarmarBlue), oxidative stress (carboxy- $H_2DCFDA$  probe) and morphology (scanning electron microscopy, SEM). The amount of  $H_2O_2$  present in the extracts was also determined (leuko-crystal violet/peroxidase). Data were submitted to the Three-Way ANOVA test complemented by Tukey post-test ( $p<0.05$ ). Analysis of variance for repeated measures was used to analyze the  $OH^\bullet$  generation. Significant increase in  $\Delta E_{00}$  and  $\Delta WI$  values, as well as in  $OH^\bullet$  generation occurred in groups G6, G7, G9, G10, G12, G13, G15 and G16 in comparison with G1 and G2 ( $p<0.05$ ). G16 group (SN+PPC+10% $H_2O_2$ +LED) presented similar aesthetic efficacy to conventional in-office dental bleaching protocol (G5) ( $p>0.05$ ). Reduced trans-amelodentinal cytotoxicity was observed in all groups in which SN+PPC were used to cover the enamel before the bleaching gel application (G6, G9, G12 and G15). However, the lowest cytotoxicity occurred in G7, G10, G13 and G16, in which SN, PPC, and LED were used to perform the bleaching therapies. Cells of these groups exhibited lower oxidative stress when compared with groups in which bleaching gels were applied directly on enamel ( $p<0.05$ ). Thus, it was possible to conclude that the approach of photocatalyzing a bleaching gel with 10%  $H_2O_2$ , applied on enamel previously covered with SN and PPC, increases the degradation kinetics of  $H_2O_2$ , that, in turn, improves the aesthetic efficacy and reduces the cytotoxicity in comparison with the conventional in-office dental bleaching therapy.

**Keywords:** Tooth Bleaching. Toxicity. Odontoblasts. Cell Culture Techniques.

## SUMÁRIO

|                                                                                                         |           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO .....</b>                                                                               | <b>14</b> |
| <b>2 PROPOSIÇÃO .....</b>                                                                               | <b>17</b> |
| <b>2.1 Objetivos Específicos .....</b>                                                                  | <b>17</b> |
| <b>3 REVISÃO DA LITERATURA .....</b>                                                                    | <b>18</b> |
| <b>4 MATERIAL E MÉTODO .....</b>                                                                        | <b>23</b> |
| <b>4. 1 Estudo 1.....</b>                                                                               | <b>23</b> |
| <b>4.1.1 Formulação dos géis clareadores experimentais .....</b>                                        | <b>23</b> |
| <b>4.1.2 Formulação do scaffold nanofibrilar (SN) .....</b>                                             | <b>23</b> |
| <b>4.1.3 Formulação do primer polimérico catalisador (PPC) .....</b>                                    | <b>24</b> |
| <b>4.1.4 Obtenção dos discos de esmalte e dentina .....</b>                                             | <b>25</b> |
| <b>4.1.5 Padronização da cor inicial dos discos .....</b>                                               | <b>26</b> |
| <b>4.1.6 Avaliação da eficácia estética .....</b>                                                       | <b>27</b> |
| <b>4.1.7 Avaliação da geração de OH<sup>•</sup> nos géis clareadores .....</b>                          | <b>30</b> |
| <b>4.2 Estudo 2 .....</b>                                                                               | <b>31</b> |
| <b>4.2.1 Cultura de células odontoblastóides MDPC-23 .....</b>                                          | <b>31</b> |
| <b>4.2.2 Obtenção dos espécimes .....</b>                                                               | <b>31</b> |
| <b>4.2.3 Procedimento experimental .....</b>                                                            | <b>31</b> |
| <b>4.2.4 Quantificação de free-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> presente nos extratos .....</b>               | <b>33</b> |
| <b>4.2.5 Avaliação da citotoxicidade trans-amelodentinária (viabilidade celular - alamarBlue) .....</b> | <b>34</b> |
| <b>4.2.6 Análise do estresse oxidativo .....</b>                                                        | <b>34</b> |
| <b>4.2.7 Avaliação da morfologia celular (MEV) .....</b>                                                | <b>35</b> |
| <b>4.3 Análise Estatística .....</b>                                                                    | <b>35</b> |

|                                                                              |           |
|------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>5 RESULTADOS .....</b>                                                    | <b>36</b> |
| <b>5.1 Eficácia Estética .....</b>                                           | <b>36</b> |
| <b>5.2 Cinética de Degradação do Gel Clareador .....</b>                     | <b>38</b> |
| <b>5.3 Difusão Trans-amelodentinária de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> .....</b> | <b>39</b> |
| <b>5.4 Citotoxicidade Trans-amelodentinária .....</b>                        | <b>41</b> |
| <b>5.5 Estresse Oxidativo .....</b>                                          | <b>42</b> |
| <b>5.6 Morfologia Celular (MEV) .....</b>                                    | <b>43</b> |
| <b>6 DISCUSSÃO .....</b>                                                     | <b>47</b> |
| <b>7 CONCLUSÃO .....</b>                                                     | <b>55</b> |
| <b>REFERÊNCIAS .....</b>                                                     | <b>56</b> |
| <b>APÊNDICE A .....</b>                                                      | <b>65</b> |
| <b>ANEXO A.....</b>                                                          | <b>88</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

O peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) é uma espécie reativa derivada do oxigênio (ERO) capaz de penetrar o esmalte e dentina, onde consegue oxidar componentes orgânicos coloridos locais, os quais determinam a cor do elemento dental<sup>1</sup>. Dentre as diversas espécies reativas do oxigênio (EROs) conhecidas, o  $\text{H}_2\text{O}_2$  é aquele que apresenta o menor potencial de oxidação ( $E^0=+1,8\text{V}$ ), sendo essa propriedade definida pela tendência de uma espécie química em doar elétrons, levando à oxidação com sequente fragmentação de moléculas orgânicas longas<sup>2</sup>. Assim, para que a alteração cromática dos dentes seja efetiva e ocorra em um curto período de tempo, géis com elevada concentração de  $\text{H}_2\text{O}_2$  têm sido tradicionalmente empregados no clareamento dental de consultório<sup>3-7</sup>. No entanto, o baixo potencial de oxidação do  $\text{H}_2\text{O}_2$  faz com que a grande quantidade desta molécula não interagida com os cromóforos (free- $\text{H}_2\text{O}_2$ ), a qual permanece nos tecidos duros do dente, consiga alcançar o espaço pulpar<sup>8,9</sup> em concentrações elevadas o suficiente para ocasionar danos celulares irreversíveis<sup>10-14</sup>.

Tem sido demonstrado que os efeitos biológicos negativos do clareamento dental são diretamente proporcionais à concentração de free- $\text{H}_2\text{O}_2$  capaz de se difundir pela estrutura dental e interagir com as células pulpares<sup>10,11</sup>. A partir de diversos estudos prévios, foi demonstrado que o excesso de free- $\text{H}_2\text{O}_2$  na câmara pulpar pode causar estresse oxidativo nas células locais com consequente ruptura de membranas, aumento na expressão de mediadores pró-inflamatórios, bem como intensa morte celular por necrose<sup>15,18</sup>. Tem sido relatado que esses efeitos adversos, observados em pesquisas in vitro e in vivo, supostamente são responsáveis pela sensibilidade dentária pós-clareamento, sintoma comumente relatado pelos pacientes submetidos à terapia de consultório<sup>19,20,21</sup>.

Nos últimos anos, foi estabelecido que a toxicidade celular e a efetividade estética da técnica de clareamento de consultório estão diretamente relacionadas com a concentração de  $\text{H}_2\text{O}_2$  presente no gel clareador e do tempo de aplicação do produto sobre o esmalte<sup>11,12,18,23</sup>. Porém, o emprego de estratégias para diminuir a concentração de  $\text{H}_2\text{O}_2$  ou o tempo de aplicação a fim de prevenir os efeitos adversos do clareamento profissional, faz com que muitas sessões clínicas sejam realizadas, o que limitaria o emprego deste protocolo na prática clínica atual<sup>11,22</sup>. Assim, considerando esses dados e o fato de que as técnicas de clareamento de consultório usados atualmente podem causar sensibilidade e danos pulpares irreversíveis<sup>19,17,20</sup>. Diversos pesquisadores têm

investigado o comportamento cinético do  $H_2O_2$ , com o intuito de propor estratégias que possam: 1) reduzir o tempo para alcançar efetividade estética, e 2) prevenir, ou pelo menos reduzir, a citotoxicidade causada por este tipo de terapia<sup>24,14,25</sup>.

Catalisadores enzimáticos têm sido amplamente utilizados na indústria farmacêutica, química e no campo da engenharia tecidual para o desenvolvimento de biomateriais<sup>26,27</sup>. Isso ocorre porque as cascatas enzimáticas mimetizam os processos que ocorrem na natureza<sup>28</sup>. Dentre os diversos catalisadores químicos estudados, a enzima peroxidase hêmica (HRP) tem se destacado na Odontologia Estética por aumentar significativamente a eficácia estética e reduzir o efeito tóxico de géis clareadores usados em consultório, representando, assim, uma boa opção para acelerar a reação de oxidação do  $H_2O_2$ <sup>25</sup>. Além da utilização de agentes catalisadores para otimizar o clareamento dental, diversos polímeros também têm sido usados no desenvolvimento de biomateriais com potencial para atuar como coadjuvantes nos processos de catálise, como o hidroxipropil metilcelulose (HPMC). Já foi demonstrado que o HPMC, um polímero semi-sintético derivado da celulose, é biodegradável, biocompatível, atóxico e por conseguir formar um gel hidrófilo, tem sido amplamente empregado na indústria farmacêutica para liberação controlada de fármacos<sup>29,30</sup>. A policaprolactona (PCL), um polímero orgânico amplamente utilizado na engenharia tecidual<sup>31</sup>, além de ser biodegradável e atóxico<sup>32,33,34</sup> permite ser eletrofiada, o que faz com seja amplamente empregada para produzir scaffolds de nanofibras<sup>35,33</sup>. Apesar dos bioprodutos compostos por nanofibras possuírem alta porosidade, o reduzido diâmetro dos poros pode impedir a passagem de microrganismos, bactérias, vírus, e até mesmo partículas tóxicas, porém mantendo uma permeabilidade interessante de acordo com a função a ser exercida e local onde será aplicado<sup>36</sup>.

Outra opção introduzida na Odontologia Estética para favorecer a alteração cromática dos dentes, é a fotocatálise do  $H_2O_2$  presente nos géis clareadores. Essa fototerapia pode causar degradação homolítica do  $H_2O_2$  liberado do gel clareador, gerando dois mols de radical hidroxila ( $HO\cdot$ )<sup>37</sup>. A partir desse conhecimento e com objetivo de acelerar o resultado estético da terapia profissional, bem como minimizar o excesso de free- $H_2O_2$  e seus consequentes efeitos citotóxicos para células pulpares, foi proposto a fotocatálise do  $H_2O_2$  com LED violeta ( $\lambda$  405 – 410 nm). De acordo com os pesquisadores, o LED violeta pode produzir alterações cromáticas nos dentes quando usado ou não em associação com géis clareadores<sup>38-42</sup>.

Diante dos dados apresentados, este estudo teve como objetivo principal avaliar

a eficácia estética, cinética de decomposição do  $\text{H}_2\text{O}_2$  e citotoxicidade trans-amelodentinária de géis clareadores com 10%, 20% e 35% de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , quando aplicados sobre esmalte previamente recoberto com um scaffold nanofibrilar (SN) e tratado com um primer polimérico catalisador (PPC), seguido ou não de fotocatalise com LED Violeta.

## 7 CONCLUSÃO

A fotocatalise com LED violeta, bem como a catálise química/enzimática do  $\text{H}_2\text{O}_2$  presente em géis clareadores, favorece o resultado estético e reduz a difusão trans-amelodentinária desta molécula reativa, aumentando a geração de  $\text{OH}^\bullet$  e reduzindo a citotoxicidade indireta do clareamento dental realizado numa sessão de 45 minutos.

O revestimento do esmalte com um scaffold nanofibrilar de PCL e um primer polimérico de HPMC contendo 10mg/mL de HRP, seguido da aplicação de um gel clareador com 10% de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , o qual é submetido à irradiação com LED violeta, otimiza o resultado estético e reduz a citotoxicidade comumente causada pelo clareamento convencional de consultório.

## REFERÊNCIAS\*

1. Ubaldini AL, Baesso ML, Medina Neto A, Sato F, Bento AC, Pascotto RC. Hydrogen peroxide diffusion dynamics in dental tissues. *J Dent Res*. 2013; 92(7):661-5.
2. Suty H, De Traversay C, Cost M. Applications of advanced oxidation processes: present and future. *Water Sci Technol*. 2004;49:227-33.
3. Reis A, Dalanhil AP, Cunha TS, Kossatz S, Loguercio AD. Assessment of tooth sensitivity using a desensitizer before light-activated bleaching. *Oper Dent*. 2011; 36: 12-7.
4. He LB, Shao MY, Tan K, Xu X, Li JY. The effects of light on bleaching and tooth sensitivity during in-office vital bleaching: a systematic review and meta-analysis. *J Dent*. 2012; 40: 644-53.
5. Tay LY, Kose C, Herrera DR, Reis A, Loguercio AD. Long-term efficacy of in-office and at-home bleaching: a 2-year double-blind randomized clinical trial. *Am J Dent*. 2012;25:199-204.
6. Reis A, Kossatz S, Martins GC, Loguercio AD. Efficacy of and effect on tooth sensitivity of in-office bleaching gel concentrations: a randomized clinical trial. *Oper Dent*. 2013;38:386-93.
7. De Paula EA, Nava JA, Rosso C, Benazzi CM, Fernandes KT, Kossatz S, Loguercio AD, Reis A. In-office bleaching with a two- and seven-day intervals between clinical sessions: A randomized clinical trial on tooth sensitivity. *J Dent*. 2015; 43:424-9.
8. Camargo SEA, Valera MC, Camargo CHR, Mancini MNG, Menezes MM. Penetration of 38% hydrogen peroxide into the pulp chamber in bovine and human teeth submitted to office bleach technique. *J Endod*. 2007; 33:1074-7.
9. Marson FC, Gonçalves RS, Silva CO, Cintra LT, Pascotto RC, Santos PH, Briso ALF. Penetration of hydrogen peroxide and degradation rate of different bleaching products. *Oper Dent*. 2015; 40: 72-9.
10. Soares DG, Basso FG, Hebling J, de Souza Costa CA. Concentrations of and application protocols for hydrogen peroxide bleaching gels: effects on pulp cell viability and whitening efficacy. *J Dent*. 2014; 42:185-98.
11. Soares DG, Basso FG, Hebling J, de Souza Costa CA. Immediate and late analysis of dental pulp stem cells viability after indirect exposition to alternative in-office bleaching strategies. *Clin Oral Investig*. 2015;19:1013-

---

\* De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver. Disponível no site da Biblioteca: <http://www.foar.unesp.br/Home/Biblioteca/guia-de-normalizacao-atualizado.pdf>

12. Soares DG, Basso FG, Pontes EC, Garcia Lda F, Hebling J, de Souza Costa CA. Effective tooth-bleaching protocols capable of reducing H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> diffusion through enamel and dentine. *J. Dent.* 2014;42(3) 351-358.
13. Soares DG, Basso FG, Scheffel DS, Hebling J, de Souza Costa CA. Responses of human dental pulp cells after application of a low-concentration bleaching gel to enamel. *Arch Oral Biol.* 2015;60:1428-36.
14. Ortecho-Zuta U, De Oliveira Duque CC, Leite ML, Bordini E, Basso FG, Hebling J, de Souza Costa CA, Soares DG. Effects of enzymatic activation of bleaching gels on hydrogen peroxide degradation rates, bleaching effectiveness, and cytotoxicity. *Oper Dent.* 2019; 44(4): 414-23.
15. Bitter NC. A scanning electron microscope study of the long-term effect of bleaching agents on the enamel surface in vivo. *Gen Den.* 1998; 46(1): 84-8.
16. Cecarini V, Gee J, Fioretti E, Amici M, Angeletti M, Eleuteri AM, et al. Protein oxidation and cellular homeostasis: emphasis on metabolism. *Biochim Biophys Acta.* 2007; 1773(2): 93-104.
17. De Souza Costa CA, Riehl H, Kina JF, Sacono NT, Hebling J. Human pulp responses to in-office tooth bleaching. *Oral Surg Oral Med Pathol Oral Radiol Endod.* 2010; 109(4): 59-64.
18. Soares DG, Ribeiro AP, da Silveira Vargas F, Hebling J, & de Souza Costa CA. Efficacy and cytotoxicity of a bleaching gel after short application times on dental enamel. *Clin Oral Investig.* 2013;17(8):1901-1909.
19. Markowitz K. Pretty painful: why does tooth bleaching hurt? *Med Hypotheses.* 2010; 74(5): 835-40.
20. Roderjan DA, Stanislawczuk R, Hebling J, de Souza Costa CA, Reis A, Loguercio AD. Response of human pulps to different in-office bleaching techniques: preliminary findings. *Braz Dent J.* 2015; 26(3): 242-8.
21. Rezende M, Loguercio AD, Kossatz S, Reis A. Predictive factors on the efficacy and risk/intensity of tooth sensitivity of dental bleaching: a multi regression and logistic analysis. *J Dent.* 2016; 45 :1-6.
22. De Oliveira Duque CC, Soares DG, Basso FG, Hebling J, De Souza Costa CA. Influence of enamel/dentin thickness on the toxic and esthetic effects of experimental in-office bleaching protocols. *Clin Oral Investig.* 2017; 21(8): 2509-20.
23. Acuña ED, Parreiras SO, Favoreto MW, Cruz GP, Gomes A, Borges CPF et al. Loguercio AD, Reis A. In-office bleaching with a commercial 40% hydrogen peroxide gel modified to have different pHs: color change, surface morphology, and penetration of hydrogen peroxide into the pulp chamber. *J Esthet Restor Dent.* 2019; 34(2): 1-6.
24. De Oliveira Duque CC, Soares DG, Basso FG, Hebling J, de Souza Costa CA. Bleaching effectiveness, hydrogen peroxide diffusion, and cytotoxicity of

- a chemically activated bleaching gel. *Clin Oral Investig*. 2014; 18(6): 1631-7.
25. Soares DG, Marcomini N, Duque CCO, Bordini EAF, Ortecho-Zuta U, Basso F, Hebling J, de Souza Costa CA. Increased whitening efficacy and reduced cytotoxicity are achieved by the chemical activation of a highly concentrated hydrogen peroxide bleaching gel. *J Appl Oral Sci*. 2019;27:e20180453.
  26. Veitch NC. Horseradish peroxidase: a modern view of a classic enzyme. *Phytochemistry*. 2004;65(3):249-59.
  27. Lancaster L, Bulutoglu B, Banta S, Wheeldon I. Enzyme colocalization in protein-based hydrogels. *Methods Enzymol*. 2019;617:265-85.
  28. Sperl JM, Sieber V. Multi-enzyme cascade reactions – status and recent advances. *ACS Catal*. 2018;8:2385–96.
  29. Lee BJ, Ryu SG, Cui JH. Formulation and release characteristics of hydroxypropyl methylcellulose matrix tablet containing melatonin. *Drug Dev Ind Pharm*. 1999;25(4):493- 501.
  30. Sako K, Sawada T, Nakashima H, Yokohama S, Sonobe T. Influence of water-soluble fillers in hydroxypropylmethylcellulose matrices on in vitro and in vivo drug release. *J Control Release*. 2002; 81(1-2): 165-72.
  31. Kenar H, Ozdogan CY, Dumlu C, Doger E, Kose GT, Hasirci V. Microfibrous scaffolds from poly (l-lactide-co-ε-caprolactone) blended with xeno-free collagen/hyaluronic acid for improvement of vascularization in tissue engineering applications. *Mater. Sci. Eng. C*. 2019; 97: 31-44.
  32. Dash TK, Konkimalla VB. Poly(E-caprolactone) based formulation for drug delivery and tissue engineering: A review. *J Control Release*. 2012; 158:15-33.
  33. Dabouian A, Bakhshi H, Irani S, Pezeshki-Modaress M. β-Carotene: a natural osteogen to fabricate osteoinductive electrospun scaffolds. *RSC Adv*. 2018; 18: 9941-5.
  34. Atyabi SM, Sharifi F, Irani S, Zandi M, Mivehchi H, Nagheh Z. Cell attachment and viability study of PCL nano-fiber modified by cold atmospheric plasma. *Cell Biochem Biophys*. 2016; 74(2):181-90.
  35. Rabionet M, Yeste M, Puig T, Ciurana J. Electrospinning PCL scaffolds manufacture for three-dimensional breast cancer cell culture. *Polymers*. 2017;9:328.
  36. Jin HJ, Fridrikh SV, Rutledge GC, Kaplan DL. Electrospinning *Bombyx mori* silk with poly(ethylene oxide). *Biomacromolecules*. 2002; 3(6): 1233-9.
  37. Tavares M, Stultz J, Newman M, Smith V, Kent R, Carpino E, et al. Light

- augments tooth whitening with peroxide. *J Am Dent Assoc.* 2003;134(2):167-75.
38. Lago ADN, Ferreira WDR, Furtado GS. Dental bleaching with the use of violet light only: reality or future? *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2017; 17: 124-26.
  39. Gallinari MO, Cintra LTA, Souza MBA, Barboza ACS, Esteves LMB, Fagundes TC, Briso ALF. Clinical analysis of color change and tooth sensitivity to violet LED during bleaching treatment: A case series with split-mouth design. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2019; 27:59–65.
  40. Gallinari MO, Cintra LTA, Barboza ACS, da Silva LMAV, de Alcantara S, dos Santos PH, Fagundes TC, Briso, ALF. Evaluation of the color change and tooth sensitivity in treatments that associate violet LED with carbamide peroxide 10%: A randomized clinical trial of a split-mouth design. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2020; 30:101679.
  41. M. Kury, E.E. Wada, D.P. Silva, C.P.M. Tabchoury, M. Giannini, V. Cavalli, Effect of violet LED light on in-office bleaching protocols: a randomized controlled clinical trial, *J Appl Oral Sci.* (2020) 28:e20190720, <https://doi.org/10.1590/1678-7757-2019-0720>.
  42. Daltro TWS, Almeida SAG, Dias MF, Lins-Filho PC, Silva CHV, Guimarães RP. The influence of violet LED light on tooth bleaching protocols: In vitro study of bleaching effectiveness. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2020; 32: 102052.
  43. Sulieman, M. An overview of tooth discoloration: extrinsic, intrinsic and internalized stains. *Dent. Update.* 2005;32,463–464, 466–468, 471.
  44. Kury M, Resende BA, Silva DP, Wada EE, Antonialli FM, Giannini M, Cavalli V. Clinical Application of Violet LED In-office Bleaching with or without Traditional Systems: Case Series. *Oral Health and Dental Studies.* 2019; 2(1): 1.
  45. Kwon SR, Wertz PW, Li Y, Chan DC. Penetration pattern of rhodamine dyes into enamel and dentin: confocal laser microscopy observation. *Int J Cosmet Sci.* 2012; 34(1): 97-101.
  46. Alqahtani MQ. Tooth-bleaching procedures and their controversial effects: A literature review. *Saudi Dent J.* 2014; 26(2): 33-46.
  47. Maghaireh GA, Alzraikat H, Taha NA. Satisfaction with dental appearance and attitude toward improving dental esthetics among patients attending a dental teaching center. *J Contemp Dent Pract.* 2016;17:16–21.
  48. Briso ALF, Rahal V, Gallinari MO, Soares DG, De Souza Costa CA. Tooth whitening: complications from the use of peroxides. Switzerland: Springer. 2016; 45-79.

49. Carlos NR, Bridi EC, Amaral F, França F, Turssi CP, Basting RT. Efficacy of Home-use Bleaching Agents Delivered in Customized or Prefilled Disposable Trays: A Randomized Clinical Trial. *Oper Dent*. 2017; 42(1): 30-40.
50. Aka B, Celik EU. Evaluation of the efficacy and color stability of two different at-home bleaching systems on teeth of different shades: a randomized controlled clinical trial. *J Esthet Restor Dent*. 2017; 29(5): 325-38.
51. Chemin K, Rezende M, Costa MC, Salgado A, de Geus JL, Loguercio AD, Reis A, Kossatz S. Evaluation of At-home Bleaching Times on Effectiveness and Sensitivity with 10% Hydrogen Peroxide: A Randomized Controlled Double-blind Clinical Trial. *Oper Dent*. 2021; 46(4): 385-394.
52. Barghi N. Making a clinical decision for vital tooth bleaching: at-home or in-office? *Compend Contin Educ Dent*. 1998;19(8): 831-8.
53. Moghadam FV, Majidinia S, Chasteen J, Ghavamnasiri M. The degree of color change, rebound effect and sensitivity of bleached teeth associated with at-home and power bleaching techniques: a randomized clinical trial. *Eur J Dent*. 2013;7(4):405–411.
54. Kossatz S, Dalanhol AP, Cunha T, Loguercio A, Reis A. Effect of light activation on tooth sensitivity after in-office bleaching. *Oper Dent*. 2011; 36(3): 251-7.
55. De Almeida LC, De Souza Costa CA, Riehl H, dos Santos PH, Sundfeld RH, Briso ALF. Occurrence of sensitivity during at-home and in-office tooth bleaching therapies with or without use of light sources. *Acta Odontol Latinoam*. 2012; 25(1): 3-8.
56. Li Y. Stain removal and whitening by baking soda dentifrice: A review of literature. *J Am Dent Assoc*. 2017;148(11S):S20-S26.
57. Cooper JS, Bokmeyer TJ, Bowles WH. Penetration of the pulp chamber by carbamide peroxide bleaching agents. *J Endod*. 1992; 18(7): 315-7
58. Gökay O, Yilmaz F, Akin S, Tuncbilek M, Ertan R Penetration of the pulp chamber by bleaching agents in teeth restored with various restorative materials. *J Endod*. 2000; 26(2): 92–4.
59. Gökay O, Müjdecı A, Algn E. Peroxide penetration into the pulp from whitening strips. *J Endod*. 2004; 30(12): 887–9.
60. Gökay O, Müjdecı A, Algn E. In vitro peroxide penetration into the pulp chamber from newer bleaching products. *Int Endod J*. 2005; 38(8): 516–20.
61. Torres CR, Souza CS, Borges AB, Huhtala MF, Caneppele TM. Influence of concentration and activation on hydrogen peroxide diffusion through dental tissues *in vitro*. *Scientific World Journal*. 2013;193241.
62. Ortecho-Zuta U, De Oliveira Duque CC, Ribeiro RAO, Leite ML, Soares DG, Hebling J, Briso ALF, de Souza Costa CA. Polymeric biomaterials maintained

- the esthetic efficacy and reduced the citotoxicity of in-office dental bleaching. *J Esthet Restor Dent.* 2021;1-11.
63. Cintra LT, Benetti F, da Silva Facundo AC. The number of bleaching sessions influences pulp issue damage in rat teeth. *J Endod.* 2013; 39(12): 1576-80.
  64. Moncada G, Sepúlveda D, Elphick D, Contente M, Estay J, Bahamondes V, et al. Effects of light activation, agent concentration and tooth thickness on dental sensitivity after bleaching. *Oper Dent.* 2013;38(5):467-76.
  65. Pontes M, Gomes J, Lemos C, Leão RS, Moraes S, Vasconcelos B, Pellizzer EP. Effect of Bleaching Gel Concentration on Tooth Color and Sensitivity: A Systematic Review and Meta-analysis. *Oper Dent.* 2020;45(3):265-275.
  66. Estay J, Angel P, Bersezio C, Tonetto M, Jorguera G, Peña M, Fernández E. The change of teeth color, whiteness variations and its psychosocial and self-perception effects when using low vs. High concentration bleaching gels: a one-year follow up. *BMC Oral Health.* 2020; 20;255.
  67. Barboza ACS, Dos Santos PH, do Vale LR, De Oliveira Gallinari M, Assmann A, Vidal CMP, Fagundes TC, Briso ALF. Dental bleaching with violet LED: Effects on dentin color change, resin-dentin bond strength, hybrid layer nanohardness and dentinal collagen biostability. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2021;33:102141.
  68. De Souza BR, Lago ADN, Ferreira LS, Mayer-Santos E, de Freitas PM, Morimoto S, Ramalho KM. In-office bleaching protocols using violet LED: A split mouth case report. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2021; 36:102497.
  69. Kwon SR, Wertz PW. Review of the Mechanism of Tooth Whitening. *J Esthet Restor Dent.* 2015; 27(5): 240-57.
  70. Klaric E, Rakic M, Marcius M, Ristic M, Sever I, Tarle Z. Optical effects of experimental light-activated bleaching procedures. *Photomed Laser Surg.* 2014; 32(3): 160-7.
  71. Santos AECGD, Bussadori SK, Pinto MM, Pantano Junior DA, Brugnera AJr, Zanin FAA, Rodrigues MFSD, Motta LJ, Horliana ACRT. Evaluation of in-office tooth whitening treatment with violet LED: protocol for a randomized controlled clinical trial. *BMJ Open.* 2018;8(9):e021414.
  72. Sobral MFP, Cassoni A, Tenis CA, Steagall W, Brugnera Junior A, Bagnato VS, Botta SB. Longitudinal, Randomized, and Parallel Clinical Trial Comparing a Violet Light-Emitting Diodes System and In-Office Dental Bleaching: 6-Month Follow-Up. *Photobiomodul Photomed Laser Surg.* 2021 Jun;39(6):403-410.
  73. Goncalves RS, Costa CA, Soares DG, dos Santos PH, Cintra LT, Briso ALF. Effect of different light sources and enamel preconditioning on color change, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> penetration, and cytotoxicity in bleached teeth. *Oper Dent.* 2016; 41(1): 83-92.

74. Gallinari MO, Fagundes TC, da Silva LM, de Almeida Souza MB, Barboza A, Briso ALF. A New Approach for Dental Bleaching Using Violet Light with or without the Use of Whitening Gel: Study of Bleaching Effectiveness. *Oper Dent*. 2019; 44(5): 521-529.
75. Maran BM, Ziegelmann PK, Burey A, de Paris Matos T, Loguercio AD, Reis A. Different light-activation systems associated with dental bleaching: a systematic review and a network meta-analysis. *Clin Oral Investig*. 2019; 23(4):1499-1512.
76. Torres CR, Wiegand A, Sener B, Attin T. Influence of Chemical activation of a 35% hydrogen peroxide bleaching gel on its penetration and efficacy - *in vitro* study. *J Dent*. 2010;38(10):838-46.
77. Travassos AC, Torres CR, Borges AB, Barcellos DC. In vitro assessment of chemical activation efficiency during in office dental bleaching. *Oper Dent*. 2010;35:8.
78. Gopinath S, James V, Vidhya S, Karthikeyan K, Kavitha S, Mahalaxmi S. Effect of bleaching with two different concentrations of hydrogen peroxide containing sweet potato extract as an additive on human enamel: an in vitro spectrophotometric and scanning electron microscopy analysis. *J Conserv Dent*. 2013; 16(1): 45-9.
79. Mamani PL, Ruiz-Caro R, Veiga MD. Matrix tablets: the effect of hydroxypropyl methylcellulose/anhydrous dibasic calcium phosphateratio on the release rate of a water-soluble drug through the gastrointestinal tract I. in vitro tests. *AAPS Pharm Sci Tech*. 2012;13(4):1073-1083.
80. Santoro M, Sarita RS, Walker JL, Mikos AG. Poly(lactic acid) nanofibrous scaffolds for tissue engineering. *Adv Drug Deliv Rev*. 2016;107:206-212.
81. Carey CM. Tooth whitening: what we now know. *J Evid Based Dent Pr*. 2014;14:70-6.
82. Paravina RD, Pérez MM, Ghinea R. Acceptability and perceptibility thresholds in dentistry: A comprehensive review of clinical and research applications. *J Esthet Restor Dent*. 2019;31(2):103-112.
83. Paravina RD, Ghinea R, Herrera LJ, Bona AD, Iguel C, Linninger M et al. Color difference thresholds in dentistry. *J Esthet Restor Dent*. 2015;27Suppl 1:S1-9.
84. Pérez Mdel M, Ghinea R, Rivas MJ, Yebra A, Ionescu AM, Paravina RD et al. Development of a customized whiteness index for dentistry based on CIELAB color space. *Dent Mater*. 2016;32(3):461-7.
85. Leite MLAS, de Souza Costa CA, Duarte RM, Andrade AKM, Soares DG. Bond strength and cytotoxicity of a universal adhesive according to the hybridization strategies to dentin. *Braz Dent J*. 2018;29(1):68-75.

86. De Souza Costa CA, Hebling J, Scheffel DL, Soares DG, Basso FG, Ribeiro AP. Methods to evaluate and strategies to improve the biocompatibility of dental materials and operative techniques. *Dent Mater.* 2014; 30(7): 769-84.
87. Roderjan DA, Stanislawczuk R, Hebling J, de Souza Costa CA, Soares DG, Reis A, et al. Histopathological features of dental pulp tissue from bleached mandibular incisors. *J Mater Sci Eng B.* 2014;(4):178-85.
88. Schmalz G, Hiller KA, Nunez LJ, Stoll J, Weis K. Permeability characteristics of bovine and human dentin under different pretreatment conditions. *J Endod.* 2001;27(1):23-30.
89. Teruel Jde D, Alcolea A, Hernández A, Ruiz AJ. Comparison of chemical composition of enamel and dentine in human, bovine, porcine and ovine teeth. *Arch Oral Biol.* 2015;60(5):768-75.
90. Chen JH, Xu JW, Shing CX. Decomposition rate of hydrogen peroxide bleaching agents under various chemical and physical conditions. *J Prosthet Dent.* 1993; 69(1): 46-8.
91. Bveris A. Biochemistry of radicals: from electron to tissues. *Medicine.* 1998; 58(4): 350-6.
92. Caviedes-Bucheli J, Ariza-García G, Restrepo-Méndez S, Ríos-Osorio N, Lombana N, Muñoz HR. The effect of tooth bleaching on substance P expression in human dental pulp. *J Endod.* 2008; 34(12): 1462-5.
93. Dias Ribeiro AP, Sacono NT, Lessa FC, Nogueira I, Coldebella CR, Hebling J, et al. Cytotoxic effect of a 35% hydrogen peroxide bleaching gel on odontoblast-like MDPC-23 cells. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009; 108(3): 458-64.
94. Kury, M., Rueggeberg, F.A., Soto-Montero, J.R. et al. Characterization and effectiveness of a violet LED light for in-office whitening. *Clin Oral Invest.* 2022.
95. De Souza Costa CA. Biological Aspects of Dental Materials. *J Adhes Dent.* 2020; 22(5): 540-544.
96. Gronthos S, Mankani M, Brahimi J, Robey PG, Shi S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000; 97(25): 13625-30.
97. Goldberg M, Farges JC, Lacerda-Pinheiro S, Six N, Jegat N, Decup F, Septier D, Carrouel F, Durand S, Chaussain-Miller C, Denbesten P, Veis A, Poliard A. Inflammatory and immunological aspects of dental pulp repair. *Pharmacol Res.* 2008; 58(2): 137-47.
98. De Souza Costa CA, Figueiredo JAP, Hebling J, Estrela C. Pulpal biology. In: Estrela C, editor. *Endodontics Science.* Brasil: Artes Medicas. 2009; 1-22.

99. Fuks AB, Hebling J, de Souza Costa CA. The primary pulp: developmental and biomedical background. In: Fuks A, Peretz B, editors. Pediatric endodontics: current concepts in pulp therapy for primary and young permanent teeth. Switzerland: Springer;2016; 7-22.
100. Goldberg M, Kulkarni AB, Young M, Boskey A. Dentin: structure, composition and mineralization. *Front Biosci (Elite Ed)*. 2011; 3:711-35.
101. Da Fonseca Roberti Garcia L, Pontes EC, Basso FG, Hebling J, De Souza Costa CA, Soares DG. Transdental cytotoxicity of resin-based luting cements to pulp cells. *Clin Oral Investig*. 2016; 20(7): 1559-66.
102. D'Alpino PHP, Moura GEDD, Barbosa SCA, Marques LA, Eberlin MN, Nascimento FD, Tersariol ILDS. Differential cytotoxic effects on odontoblastic cells induced by self-adhesive resin cements as a function of the activation protocol. *Dent Mater*. 2017; 33(12): 1402-1415.
103. Reis A, Tay LY, Herrera DR, Kossatz S, Loguercio AD. Clinical effects of prolonged application time of an in-office bleaching gel. *Oper Dent*. 2011;36(6): 590-6.