



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Araçatuba

ARIANE SANTANA DE PROENÇA

**Estudo *in vivo* do potencial anti-inflamatório do Ibuprofeno
empregado em dentes de ratos submetidos à clareação dentária**

**Araçatuba – SP
2014**

ARIANE SANTANA DE PROENÇA

**Estudo *in vivo* do potencial anti-inflamatório do Ibuprofeno
empregado em dentes de ratos submetidos à clareação dentária**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Faculdade de Odontologia de Araçatuba, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Graduação em Odontologia.

Orientador: Luciano Tavares Angelo
Cintra

**Araçatuba – SP
2014**

Dedico esse trabalho a todos que contribuíram direta ou indiretamente na minha formação acadêmica e formação como pessoa.

Especialmente aos meus pais pelo amor, carinho e por possibilitar-me chegar a onde estou e pela confiança que colocaram sobre mim.

Aos meus avós que faleceram e não puderam participa desse momento tão especial.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a deus, pela minha inteligência, sabedoria, amor e tudo que colocastes na minha vida, pela família, amigos e todas as oportunidades.

A minha família e parentes que acreditou em mim e sempre me incentivou.

Ao meu Pai Ary Ferreira de Proença e minha mãe Amélia Souza de Santana , agradeço pela educação, amor e por confiarem em mim, eu os amo muito.

Agradeço meu padrasto Moacir Magri, que sempre foi como meu segundo pai, me apoiando e incentivando ao estudo, sem ele o caminho seria mais difícil.

Agradeço também ao meu Orientador Prof. Luciano Cintra que me mostrou o caminho da pesquisa, agradeço pela oportunidade.

A Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Araçatuba por toda dedicação e gentileza para conosco.

Aos meus amigos agradeço pelo apoio nos momentos difíceis, pela confiança e todo companheirismo em especial à Tamyres, Henrico, Camila, Nathália, Laisy, Mariani e Giovanna e tantos outros que fizeram parte da minha vida.

Aos pós-graduandos Francine Benetti e Luciana Louzada por toda dedicação e ajuda com os trabalhos.

*E ainda que tivesse o dom de profecia,
e conhecesse todos os mistérios e toda a ciência,
e ainda que tivesse toda fé, de maneira
tal que transportasse os montes,
e não tivesse amor, nada seria.*

(I Coríntios 13:2)

Proença, A.S. **Estudo *in vivo* do potencial anti-inflamatório do Ibuprofeno empregado em dentes de ratos submetidos à clareação dentária.**

RESUMO

O Ibuprofeno é um anti-inflamatório não esteroideal que também possui ação analgésica e antipirética. É indicado para o alívio de dor aguda ou crônica associada à reação inflamatória, dores de cabeça, dores de origem dentária, dores musculares, febre e dor pós-cirúrgica. Apesar de amplamente utilizado pela área médica e odontológica, suas propriedades anti-inflamatórias ainda não foram estudadas como agente pós-clareação dentária. Assim, o objetivo deste estudo foi verificar o potencial anti-inflamatório local da administração de Ibuprofeno em ratos cujos dentes foram submetidos à clareação dentária. Foram utilizados 20 ratos divididos em 4 grupos de 10 hemi-maxilas cada. Os animais foram anestesiados e foi realizada a clareação dentária nos 3 molares superiores direito adotando os seguintes protocolos: G1 - Agente clareador; G2- Agente clareador seguido da administração do Ibuprofeno; Os 3 molares do lado esquerdo foram utilizados como grupo controle e receberam o veículo do agente clareador, formando os grupos C – G1: veículo do agente clareador; sem a administração do Ibuprofeno e C – G2: veículo do agente clareador seguido da administração do Ibuprofeno. Após os procedimentos de clareação dentária o Ibuprofeno foi administrado por gavagem em intervalos de 12/12 horas por 2 dias em metade dos animais do grupo G2 e C – G2, e por 6 dias na outra metade. Aos 2 e 30 dias pós-clareação, todos animais foram eutanasiados as maxilas removidas e processadas laboratorialmente para avaliação em microscopia óptica. Os cortes teciduais foram corados em H.E. e avaliados por critérios pré-estabelecidos atribuindo-se escores aos eventos microscópicos. ($p < 0,05$). Os grupos que receberam o agente clareador apresentaram infiltrado inflamatório severo no terço oclusal da polpa coronária, e o Ibuprofeno não foi capaz de minimizar os danos causados pelo agente clareador.

Palavras-chave: Clareação dentária, Ibuprofeno, Inflamação pulpar

ABSTRACT

Proença, A.S. **In vivo study of the anti-inflammatory potencial of Ibuprofen on rat's teeth submitted to dental bleaching.**

Abstract

Ibuprofen is a non-steroidal anti-inflammatory and also has an analgesic and antipyretic action. It is indicated to acute and chronic pain relieve associated with inflammatory reaction, head-ache pain, dental pain, muscle pain, fever and surgery pain. Although usually used by doctors and dentists, its anti-inflammatory properties were not studied as an agent for post-dental bleaching. The main of this study was verify the local anti-inflammatory potencial of Ibuprofen in rat's teeth submitted to dental bleaching. Twenty rats were divided into four groups of 10 hemi-maxillae each. The animals were anesthetized and the dental bleaching was performed in the three upper right molars following the protocol: G1- bleaching agent without Ibuprofen administration; G2- bleaching agent followed by Ibuprofen administration. The three upper left molars were used as control group and received the vehicle of bleaching agent also divided in groups C-G1: vehicle of bleaching agent without Ibuprofen administration, C-G2: vehicle of bleaching agent followed by Ibuprofen administration. After bleaching procedures the Ibuprofen was administrated by gavage in intervals of 12/12 hours for two days in half of G2 and C-G2 animals, and for six days to the other half. At two and 30 days post-bleaching, all animals were killed and the maxillae removed and processed for analysis on light microscopy. The tissue sections were stained with hematoxylin and eosin (H&E) and evaluated by scores according to the microscopic events ($p < 0.05$). The groups treated with dental bleaching agent presented a severe inflammatory infiltrate on occlusal third of coronal pulp, and the Ibuprofen was not able to reduce the damages caused by dental bleaching.

Key-words: Dental Bleaching, Ibuprofen, Pulpal inflammation

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Cobaia anestesiada e posicionada e aplicação da barreira gengival e do agente clareador nos molares superiores direito.	16
Figura 2 -	Visão aproximada dos molares superiores direito com aplicação da barreira gengival (a) e do agente clareador na fase inicial (b) e fase final (c) do procedimento.	16
Figura 3 -	Divisão em terços da câmara pulpar	18
Figura 4 -	Imagem representativa do grupo G1 [100x – H.E.].	19
Figura 5 -	Imagem representativa do grupo C-G1 [100x – HE].	20
Figura 6 -	Imagem representativa do grupo G2 [100x – H.E.].	21
Figura 7 -	Imagem representativa do grupo C-G2 [100x – H.E.].	22
Figura 8 -	Imagens representativas dos grupos aos 30 dias [100x – H.E.].	23

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 -	Escores atribuídos ao grupo clareado sem Ibuprofeno, de 2 dias, de acordo com os terços da polpa coronária	19
Quadro 2 -	Escores atribuídos ao grupo Veículo do agente clareador sem Ibuprofeno, de 2 dias, de acordo com os terços da coroa	20
Quadro 3 -	Escores atribuídos ao grupo Clareado com Ibuprofeno, de 2 dias, de acordo com os terços da coroa	21
Quadro 4 -	Escores atribuídos ao grupo Veículo do agente clareador com Ibuprofeno, de 2 dias, de acordo com os terços da coroa	22

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Distribuição dos grupos experimentais de acordo com os tratamentos empregados.	15
Tabela 2 -	Cruzamento entre os grupos de 2 dias para o terço oclusal da coroa dentária	24
Tabela 3 -	Cruzamento entre os grupos de 2 dias para o terço médio da coroa dentária	24

LISTA DE ABREVIATURAS

Kg =	Quilograma
mg =	Miligrama
H ₂ O ₂ =	Peróxido de hidrogênio
HO ₂ ⁻ =	Ânion peridroxila
g =	Gramas
H.E. =	Hematoxilina e eosina
Fig =	Figura
n =	Número
µm =	Micrometro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS	13
3	MATERIAIS E MÉTODOS	14
4	RESULTADOS	19
4.1	Grupos com sacrifício em 2 dias	19
4.2	Grupos com sacrifício em 30 dias	23
4.3	Análise estatística	24
5	DISCUSSÃO	25
6	CONCLUSÃO	28
	REFERÊNCIAS	29
	ANEXOS	32

1. INTRODUÇÃO

A clareação dentária é uma técnica que se tornou muito popular nos últimos anos devido ao apelo estético por dentes mais brancos, constituindo uma solução para pacientes que apresentam pigmentações dentárias (TEN BOSCH; COOPS, 1995).

Embora tenhamos um grande número de métodos para realizar a clareação dentária em dentes vitais, todos têm como base o uso de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) ou seu precursor, o peróxido de carbamida (BARGHI, 1998). O H_2O_2 sofre dissociação nas condições de uso clínico dando origem ao ânion peridroxila (HO_2^-), provável espécie ativa responsável pelo processo de clareação (KORYTOWSKI; SARNA, 1990). Uma reação em cadeia leva à formação de radicais livres como o radical peridróxido e o ânion superóxido, sendo estes potentes agentes oxidantes.

Estudos tem relatado a ocorrência de difusão do H_2O_2 pelo esmalte e dentina (BENETTI *et al.*, 2004; CAMPS *et al.*, 2007, 2010; CARRASCO-GUERISOLI *et al.*, 2009; HANNIG *et al.*, 2011) e sua capacidade em atingir o complexo dentino-pulpar (COSTA *et al.*, 2010). Aproximadamente 54% dos pacientes que se submetem a este tipo de tratamento estético relatam sensibilidade dentária pós-operatória (JORGENSEN; CARROLL, 2002). Este quadro inflamatório pode estar diretamente ligado à esta difusão do H_2O_2 no tecido pulpar.

Histologicamente podem ser observados eventos inflamatórios de diversos graus no tecido pulpar de dentes submetidos a este procedimento estético (SEALE *et al.*, 1981; CINTRA *et al.*, 2013; CINTRA *et al.*, 2014). Em certos casos, pode induzir danos pulpares severos em dentes humanos (COSTA *et al.*, 2010). Sendo assim, o emprego de substâncias anti-inflamatórias pode ser uma medida promissora para minimizar os prejuízos que este procedimento estético pode causar.

O Ibuprofeno atua inibindo as ciclooxigenases evitando assim a consequente formação de mediadores pró-inflamatórios pela cascata do ácido araquidônico (SCHAFERS *et al.*, 2004). É um medicamento muito utilizado na endodontia, principalmente em casos de pulpite irreversível para alívio de dores moderadas e intensas, no caso de dor pós-pulpotomia ou pós-pulpectomia (TAMIETTI *et al.*, 2012). Sua associação com paracetamol tem sido muito utilizada no tratamento de abscessos intraorais, sendo mais frequentemente indicado para processos inflamatórios associados à sintomatologia dolorosa (VALENÇA *et al.*, 2009).

Acredita-se que o emprego do Ibuprofeno possa reduzir a sensibilidade dentária durante os procedimentos clareadores (CHARAKORN *et al.*, 2009), entretanto não existem ainda estudos que investigaram o papel anti-inflamatório local desta droga após tais procedimentos.

Assim, a hipótese deste estudo é que o Ibuprofeno possa atuar localmente, junto ao tecido pulpar, minimizando o processo inflamatório induzido pela clareação dentária.

2. OBJETIVOS

Investigar o potencial anti-inflamatório local do ibuprofeno administrado por via oral em ratos submetidos à clareação dentária.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Material

Animais

Foram utilizados 20 ratos machos (*Rattus albinus*, Wistar), pesando aproximadamente 200g, provenientes do biotério da Universidade Estadual Paulista (UNESP) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba. Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas, em ambiente com temperatura entre 22 e 24°C e ciclo de luz controlada (12 horas claro e 12 horas escuro). Cada gaiola abrigou quatro ratos, que foram alimentados durante todo o experimento com dieta sólida e água “ad libitum”, com exceção das primeiras 24 horas antes das intervenções. Antes do início da fase experimental, o projeto foi submetido ao Comitê de Ética do local, tendo sido aprovado (CEUA nº 00582-2013).

Drogas empregadas

Para anestesia dos animais foram utilizados, via intramuscular, um sedativo à base de Xilazina (Dopaser, Calier S.A. - Barcelona, Espanha – 10mg/Kg) e um anestésico à base de Cloridrato de Ketamina a 5% (Vetanarcol, König S. A. – Avellaneda, Argentina – 25mg/Kg).

Após procedimento clareador foi utilizado o medicamento anti-inflamatório Ibuprofeno.

Agentes Clareadores

Para clareação dentária foi empregado o agente clareador Whiteness HP Maxx (FGM Produtos Odontológicos) à base de PH a 35%. Este produto apresenta-se comercialmente em dois frascos, um contendo o peróxido e o outro, o agente espessante, sendo estas substâncias misturadas na proporção de 3:1

Métodos

Divisão em grupos

Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais de acordo os tratamentos empregados, e podem ser visualizados na tabela 1.

Tabela 1 – Distribuição dos grupos experimentais de acordo com os tratamentos empregados.

	Sem Ibuprofeno	Com Ibuprofeno
Agente clareador	G1 (n=10)	G2 (n=10)
Veículo do agente clareador	C - G1 (n=10)	C – G2 (n=10)

Procedimentos clareadores

O tecido gengival ao redor dentes que foram clareados foi protegido com barreira gengival (FGM Produtos Odontológicos, Joinvile, SC, Brasil) e em seguida, o agente clareador Whiteness HP Maxx (FGM Produtos Odontológicos, Joinvile, SC, Brasil) foi preparado na proporção de 3:1 (peróxido de hidrogênio:espessante) e aproximadamente 0,01 mL do agente foi aplicado nos três molares superiores do lado direito de todos os animais. Os molares superiores do lado esquerdo foram tratados com o veículo do agente clareador (água destilada e espessante na proporção 3:1). Os dentes receberam o tratamento com agente clareador ou seu veículo por meio de uma aplicação direta de 30 min. Ao final, os dentes foram lavados com água destilada para a remoção das soluções, e por fim, a barreira gengival foi retirada.

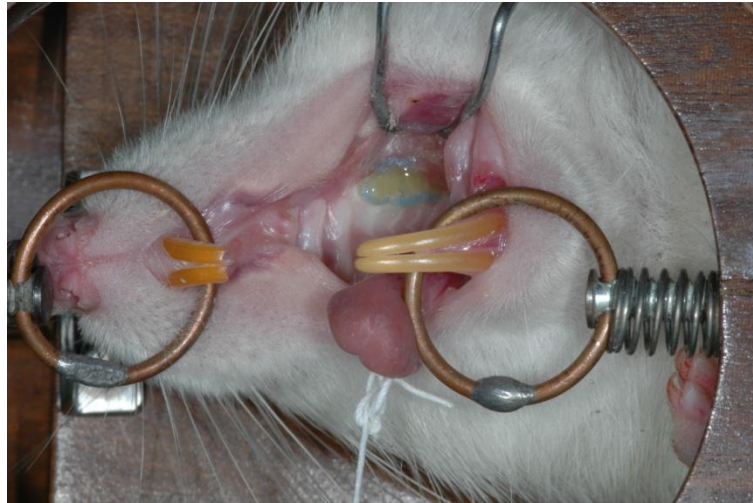


Figura 1 – Cobaia anestesiada e posicionada e aplicação da barreira gengival e do agente clareador nos molares superiores direito.



Figura 2 – Visão aproximada dos molares superiores direito com aplicação da barreira gengival e do agente clareador na fase inicial e fase final do procedimento.

Procedimentos pós-clareação

Após o procedimento clareador descrito acima, os animais do grupo G2 e C-G2 receberam a cada 12 horas uma dose de Ibuprofeno na concentração de 40 mg/kg de peso corporal (SCHAFERS *et al.*, 2004). A droga foi administrada por gavagem e por um período de 2 dias em metade dos animais (sacrifício aos 2 dias) e por 6 dias na outra metade (sacrifício aos 30 dias).

Eutanásia e processamento laboratorial

Dois e trinta dias após a intervenção (KINA *et al.*, 2010), os animais foram eutanasiados com uma sobredose de pentobarbital (100mg/kg) por via intraperitoneal. A separação das hemimaxilas foi feita com a ajuda de tesoura e bisturi. As hemimaxilas foram colocadas em frascos contendo solução de formalina a 10% tamponada. Em seguida os espécimes foram lavados em água corrente por 5h e imersos em solução de EDTA a 18% para desmineralização. Posteriormente, as hemimaxilas foram lavadas em água corrente, desidratadas em álcool, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina. Após inclusão, as peças foram cortadas longitudinalmente com cortes semi-seriados, com 6 µm de espessura, realizados em micrótomo (RM 2045, Leica Microsystems, Wetzlar, Alemanha). Para cada espécime, 10 lâminas com 3 cortes teciduais foram preparadas e coradas com Hematoxilina e Eosina. A análise microscópica foi realizada em microscópio óptico (DM 4000 B, Leica). Os resultados foram expostos por meio de duas análises, sendo uma descritiva e outra qualitativa, referentes a cada grupo experimental.

As lâminas contendo os cortes mais representativos de cada espécime foram avaliadas sob a microscopia óptica e utilizadas na análise descritiva.

- ANÁLISE DESCRITIVA

A análise microscópica descritiva da reação do tecido pulpar frente ao processo de clareação dentária consistiu na descrição dos fenômenos histopatológicos, procurando caracterizá-los globalmente em função das variáveis experimentais.

- ANÁLISE QUALITATIVA

A análise qualitativa consistiu da avaliação do infiltrado inflamatório, atribuindo magnitudes registradas sob a forma de escores de 1 a 4, gerando dados para análise estatística por meio do Software Pacotico (Microsoft Visual FoxPro, Direitos: Eymar Sampaio Lopes).

O processo inflamatório foi analisado considerando sua intensidade e distribuição no tecido pulpar, em conformidade com o número médio aproximado de células inflamatórias presentes nos diferentes terços da polpa coronária, de um mesmo espécime, examinados em aumento de 400X. Os escores atribuídos em cada terço foram:

- 1 – Células inflamatórias ausentes ou em número desprezível;
- 2 – Infiltrado inflamatório discreto (menos de 25 células por campo);
- 3 – Infiltrado inflamatório moderado (entre 25 e 125 células por campo);
- 4 – Infiltrado inflamatório severo (mais que 125 células por campo) ou necrose.

A avaliação microscópica foi efetuada por 3 observadores sem que soubessem quais grupos estariam avaliando e, depois de um consenso, determinaram os escores para cada espécime.

Com a finalidade de facilitar a atribuição dos escores e tornar esse ato menos subjetivo, a câmara pulpar foi subdividida em terços (Oclusal, Médio e Cervical). Desta forma, foi possível uma análise comparativa entre os grupos, considerando a intensidade e extensão do processo inflamatório.

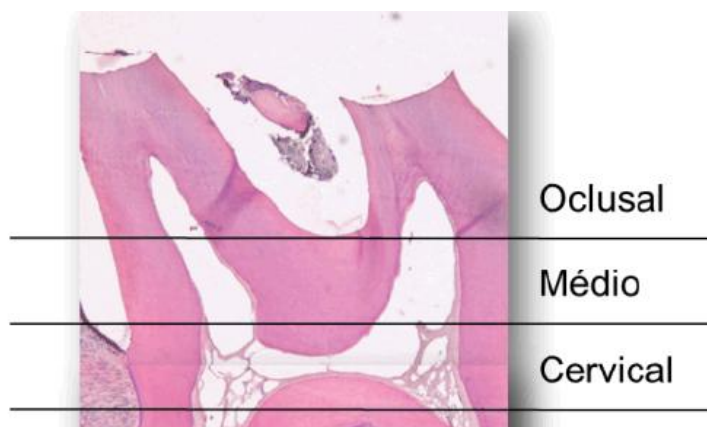


Figura 3 – em Divisão terços da câmara pulpar.

Análise estatística

Os resultados obtidos foram submetidos à análise estatística, pelos testes de Kruskal Wallis e Dunn com nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

4. RESULTADOS

4.1 Grupos com sacrifício em 2 dias

Grupo 1 – Agente clareador sem Ibuprofeno

A maior parte dos espécimes deste grupo apresentaram escore 3 e 4 no terço oclusal da polpa coronária, correspondentes à infiltrado inflamatório moderado e severo ou necrose, com grande desorganização da camada odontoblástica, bem como das demais camadas celulares. Apenas um espécime deste grupo apresentou infiltrado inflamatório discreto no terço oclusal. No terço médio, a maior parte dos espécimes apresentou infiltrado inflamatório moderado, que passou para infiltrado inflamatório discreto no terço cervical (Quadro 1 e Figura 4).

Quadro 1 – Escores atribuídos ao grupo clareado sem Ibuprofeno, de 2 dias, de acordo com os terços da polpa coronária.

G1: Agente clareador sem Ibuprofeno	n	Terços da Coroa											
		Oclusal				Médio				Cervical			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
2d 35% - 30'	1				X			X			X		
	2			X				X			X		
	3			X			X			X			
	4				X			X			X		
	5		X				X			X			

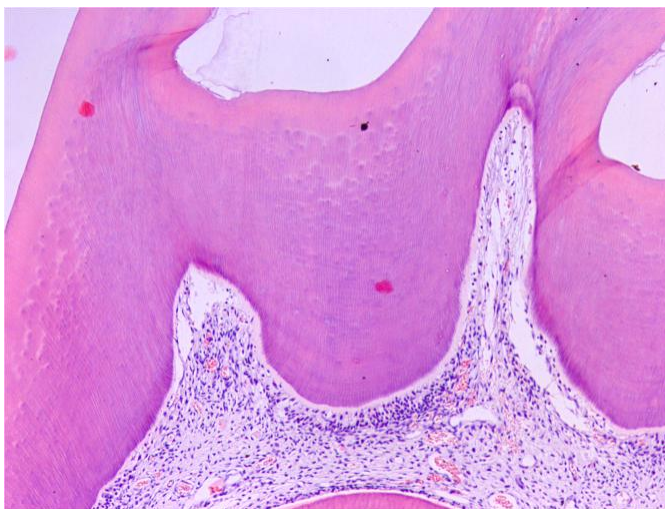


Fig. 4 - Imagem representativa do grupo G1. Região de polpa coronária evidenciando áreas de necrose no terço oclusal e infiltrado inflamatório moderado no terço médio [100x – H.E.].

Controle grupo 1 – Veículo do agente clareador sem Ibuprofeno

Observou-se tecido pulpar com aspecto de normalidade e ausência de células inflamatórias em todos os espécimes, denotando homeostasia pulpar. A camada de odontoblastos apresentou-se organizada, e em continuidade com as estruturas pré-dentinária e dentina, que apresentaram-se íntegras. Os vasos sanguíneos apresentaram-se congestionados e a densidade do fibrosamento caracterizou polpa jovem com potencial de reparo (Quadro 2 e Figura 5).

Quadro 2 – Escores atribuídos ao grupo Veículo do agente clareador sem Ibuprofeno, de 2 dias, de acordo com os terços da coroa.

C-G1: Veículo ag clareador sem Ibuprofeno	n	Terços da Coroa											
		Oclusal				Médio				Cervical			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
2d 35% - 30'	1	X				X				X			
	2	X				X				X			
	3	X				X				X			
	4	X				X				X			
	5	X				X				X			

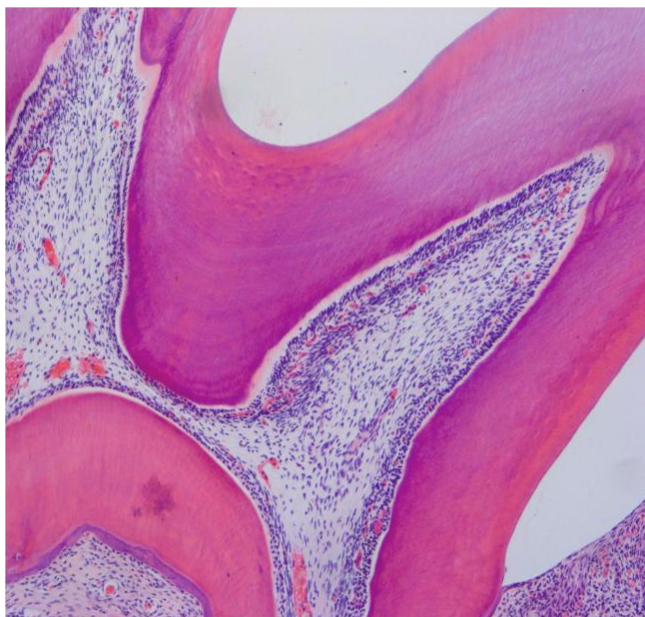


Fig. 5 - Imagem representativa do grupo C-G1. Região de polpa coronária evidenciando homeostasia pulpar e ausência de infiltrado inflamatório [100x – HE].

Grupo 2 – Agente clareador com Ibuprofeno

Dois espécimes deste grupo apresentaram infiltrado inflamatório moderado no terço oclusal da polpa coronária, e os demais espécimes apresentaram infiltrado inflamatório severo ou necrose nesta região. No terço médio, a maior parte dos espécimes apresentou infiltrado inflamatório discreto, e no terço cervical foram encontradas células inflamatórias em número desprezível (Quadro 3 e Figura 6).

Quadro 3 – Escores atribuídos ao grupo Clareado com Ibuprofeno, de 2 dias, de acordo com os terços da coroa.

G2: Agente clareador com Ibuprofeno	n	Terços da Coroa											
		Oclusal				Médio				Cervical			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
2d 35% - 30'	1				X		X			X			
	2				X			X		X			
	3			X			X			X			
	4			X			X			X			
	5				X			X			X		

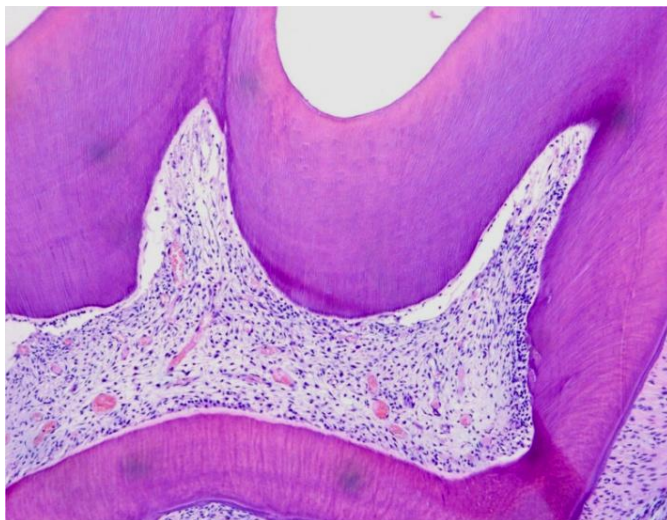


Fig. 6 - Imagem representativa do grupo G2. Região de polpa coronária evidenciando áreas de necrose no terço oclusal e infiltrado inflamatório moderado no terço médio [100x – H.E.].

Controle grupo 2 – Veículo do agente clareador com Ibuprofeno

Este grupo não apresentou presença de infiltrado inflamatório em nenhum de seus espécimes. A polpa coronária encontrara-se intacta, com camada de odontoblastos e demais camadas organizadas, vasos sanguíneos e densidade do fibrosamento com aspecto de normalidade (Quadro 4 e Figura 7).

Quadro 4 – Escores atribuídos ao grupo Veículo do agente clareador com Ibuprofeno, de 2 dias, de acordo com os terços da coroa.

C-G2: Veículo ag clareador com Ibuprofeno	n	Terços da Coroa											
		Oclusal				Médio				Cervical			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
2d 35% - 30'	1	X				X				X			
	2	X				X				X			
	3	X				X				X			
	4	X				X				X			
	5	X				X				X			



Fig. 7 - Imagem representativa do grupo C-G2. Região de polpa coronária evidenciando homeostasia pulpar e ausência de infiltrado inflamatório [100x – HE].

4.2 Grupos com sacrifício em 30 dias

Os espécimes dos grupos com sacrifício em 30 dias não apresentaram infiltrado inflamatório do tecido pulpar. Todos os espécimes apresentaram escore 1 em todos os terços da polpa coronária, tendo camada de odontoblastos organizada ao redor de toda a polpa, demais camadas e vasos sanguíneos e fibrosamento com aspecto de normalidade.

Porém, os espécimes que receberam o agente clareador apresentaram um grande aumento na quantidade de dentina reacionária, diminuindo o volume da câmara pulpar.

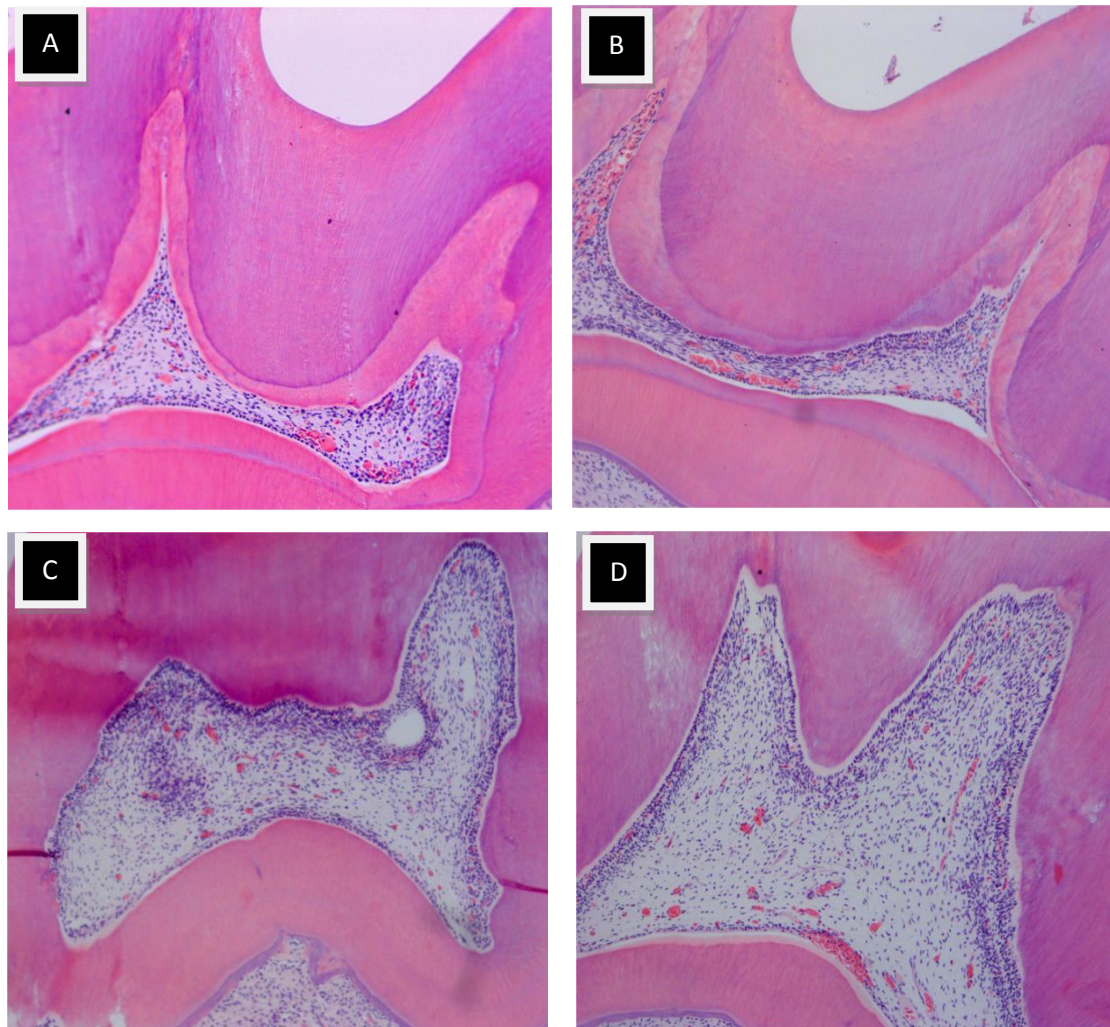


Fig. 8 – Imagens representativas dos grupos aos 30 dias. A,B – Grupos clareados G1 e G2, respectivamente, evidenciando camada espessa de dentina reacionária e polpa organizada, com ausência de infiltrado inflamatório. C,D- Grupos controles G1 e G2, respectivamente, evidenciando homeostasia pulpar, ausência de infiltrado inflamatório e de dentina reacionária [100x – HE].

4.3 Análise estatística

Após a atribuição dos escores, os dados foram submetidos à análise estatística por meio do teste de Kruskal Wallis, seguido do teste e de Dunn. Para todas as análises a significância adotada foi de 5% ($p < 0,05$). Os testes estatísticos foram realizados considerando cada terço coronário, objetivando tornar a avaliação menos subjetiva em função dos resultados observados.

Com relação ao terço oclusal:

A análise estatística do terço oclusal demonstrou diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$). A diferença foi observada na comparação entre o grupo G1 com os grupos C-G1 e C-G2, e entre o grupo G2 com os grupos C-G1 e C-G2 (Tabela 02).

Tabela 02 – Cruzamentos entre os grupos de 2 dias para o terço oclusal da coroa dentária.

	G1	C-G1	G2	C-G2
G1				
C-G1	X		X	
G2				
C-G2	X		X	

(x) Significante para $p < 0,05$

Com relação ao terço médio:

A análise estatística do terço médio demonstrou diferença significativa ($p < 0,05$) entre o grupo G1 com os grupos C-G1 e C-G2 (Tabela 03).

Tabela 03 – Cruzamentos entre os grupos de 2 dias para o terço médio da coroa dentária.

	G1	C-G1	G2	C-G2
G1				
C-G1	X			
G2				
C-G2	X			

(x) Significante para $p < 0,05$

Com relação ao terço cervical:

A análise estatística não demonstrou diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos no terço cervical da polpa coronária.

Este aspecto denota que os terços oclusal e médio dos grupos que foram clareados possuem alterações estatisticamente significativas apenas com os grupos controles, e que ao se comparar ambos os grupos clareados, com e sem Ibuprofeno, as alterações não são significativas.

5. DISCUSSÃO**Da metodologia**

Poucos estudos “in vivo” têm avaliado microscopicamente a resposta pulpar ocorrida em decorrência da clareação dentária (SEALE *et al.*, 1981; FRIGO *et al.*, 2009; COSTA *et al.*, 2010; KINA *et al.*, 2010; CINTRA *et al.*, 2013; CINTRA *et al.*, 2014). Dentre estes, encontra-se os estudos de CINTRA *et al.*, 2013 e CINTRA *et al.*, 2014, que avaliaram a influência do número de sessões de clareação sobre a polpa dentária de ratos Wistar, bem como a influência da concentração e do tempo de aplicação do gel clareador sobre as estruturas dentárias.

Dentes com polpas vitais possuem componentes que podem impedir ou dificultar a penetração de agentes clareadores através dos túbulos dentinários, como as extensões citoplasmáticas dos odontoblastos, o fluido dentinário (HANKS *et al.*, 1993), e agentes antioxidantes endógenos, como a catalase e superóxido dismutase, enzimas que promovem a degradação do peróxido de hidrogênio (ESPOSITO *et al.*, 2003). Portanto, é possível afirmar que os níveis de peróxido de hidrogênio ou seus subprodutos que atingem o tecido pulpar in vivo podem realmente ser menores do que os observados em experiências in vitro.

Cintra *et al.* (2013) ao avaliarem a influência da concentração do gel clareador sobre a polpa, puderam comprovar a semelhança de seus resultados com os achados do estudo de (COSTA *et al.*, 2010). Que avaliaram a influência do gel clareador sobre a polpa de forma semelhante, porém em dentes incisivos humanos. Considerando tais semelhanças, os autores sugerem que estudos realizados em molares de ratos Wistar podem ser direcionados e aprimorados para prever resultados de procedimentos realizados em dentes humanos.

A utilização de ratos para um trabalho de pesquisa apresenta várias vantagens, como a facilidade de manipulação e de reprodução, o tempo de vida, tamanho, peso, custo, armazenagem, alimentação, controle e previsibilidade (PENNA; RODE, 2000).

Os molares dos ratos apresentam morfologia semelhante à de dentes humanos, no que diz respeito à proporção de esmalte e dentina, enquanto que nos incisivos de ratos, a proporção de esmalte é bem maior quando comparada a de dentes humanos (cerca de 30% em incisivos centrais humanos e 64% em incisivos de ratos), e a proporção de dentina, menor (cerca de 70% em incisivos centrais humanos e 36% em incisivos de ratos) (LIMA 2003; SULIEMAN *et al.*, 2005).

O sacrifício dos ratos foi feito em dois tempos diferentes, sendo o primeiro em 48 horas após o procedimento clareador, e o segundo, 30 dias após. Assim podemos avaliar o estado do tecido pulpar em sua maior inflamação no primeiro tempo, e se houve recuperação de possíveis danos causados à polpa, no segundo tempo.

Dos resultados

Ao avaliarem a influência da concentração do gel clareador sobre a polpa, CINTRA *et al.* 2013, verificaram que com apenas uma sessão de clareação dentária, o terço oclusal da polpa coronária apresentou infiltrado inflamatório severo à necrose. Cintra *et al.* (2014), com o mesmo modelo experimental, pode comprar que tanto a concentração como o tempo de aplicação do gel clareador sobre as estruturas dentárias, influenciam os danos causados ao tecido pulpar, aumentando esses danos a medida que se aumentava a concentração e o tempo de aplicação.

Assim, buscamos encontrar soluções, através de medicamentos anti-inflamatórios, para minimizar os danos que o agente clareador causa sobre a polpa dentária. Neste estudo, trabalhamos com o Ibuprofeno, onde sabe-se que este medicamento é capaz de inibir as ciclooxigenases evitando a formação de mediadores pró-inflamatórios (SCHAFERS *et al.*, 2004)

Acredita-se que este antiinflamatório, que possui ação não-esteroidal (AINE), funcione através da inibição da ciclooxigenase (COX), inibindo assim a síntese de prostaglandina. Existem, pelo menos, duas variantes da ciclooxigenase (COX-1 e COX-2), e Ibuprofeno tem capacidade de inibir ambas COX-1 e COX-2. Parece que

sua ação analgésica, antipirética e anti-inflamatória são atingidas principalmente através da inibição da COX-2. Este AINE é amplamente utilizado como pré-medicação para tratamento clareador de consultório, aqueles realizados em maiores concentrações, como o caso de nosso trabalho (CHARAKORN *et al.*, 2009).

No entanto, a literatura mostra poucos estudos do efeito deste inflamatório em relação à clareação dentária, como o estudo de Charakorn *et al.*, 2009, que mostrou que uma dose única de Ibuprofeno (600 mg) 30 minutos antes do procedimento clareador, foi capaz de diminuir a sensibilidade dentária apenas durante o tempo de tratamento.

Em nosso estudo, os animais dos grupos G2 e C-G2 receberam a cada 12 horas uma dose de Ibuprofeno até o tempo do sacrifício, de 2 e 30 dias. Utilizamos da maneira que seria a prescrição do Ibuprofeno em um período pós-clareação em humanos, no intuito de mantermos a medicação por um maior tempo do que quando utilizada previamente ao procedimento.

Podemos observar que quando aplicado sistemicamente, o Ibuprofeno não foi capaz de reduzir o processo inflamatório do tecido pulpar 2 dias após procedimento clareador com peróxido de hidrogênio a 35% em uma sessão de 30 minutos. Isso pode ser observado ao comparar-se o grupo clareado que recebeu o medicamento com o grupo que não recebeu. Ambos apresentaram um processo inflamatório bastante acentuado, com desorganização e morte celular, alcançando escore 4 no terço oclusal da polpa coronária (Quadros 1 e 3; Fig. 4 e 6). Talvez pelo fato da intensa e rápida penetração do peróxido de hidrogênio nos tecidos dentários, que pode causar alterações no metabolismo das células, e o Ibuprofeno aplicado sistemicamente não seja capaz de agir diretamente sobre estas.

Já os grupos controles, que receberam o veículo do agente clareador, com ou sem a aplicação sistêmica do Ibuprofeno, apresentaram tecido pulpar íntegro, com todas suas camadas organizadas e ausência de infiltrado inflamatório, caracterizando estado de homeostasia pulpar (Quadros 2 e 4; Fig. 5 e 7).

Após 30 dias, não foi observado infiltrado inflamatório do tecido pulpar. Os espécimes apresentaram escore 1 em todos os terços da polpa coronária e radicular, tendo a camada de odontoblastos organizada ao redor de toda a polpa, as demais camadas e vasos sanguíneos com aspecto de normalidade, assim como

todo o tecido de sustentação. Porém, houve uma grande deposição de dentina reacionária, diminuindo o volume da câmara pulpar em todos os espécimes.

Podemos sugerir que os danos causados à polpa, devido o contato com o agente clareador, destroem e/ou desorganizam as células odontoblásticas, e então, novas células, semelhantes à estas, se desenvolvem e depositam dentina terciária como forma de defesa. Acredita-se que se o tempo de contato do agente clareador com o tecido dentário fosse aumentado, a polpa poderia responder com maior quantidade de deposição dentinária, podendo levar a total obliteração da câmara pulpar e possivelmente, posterior necrose.

6. CONCLUSÃO

Considerando as limitações do modelo experimental, pode-se concluir que o Ibuprofeno, quando aplicado sistemicamente após procedimento clareador utilizando peróxido de hidrogênio a 35%, não foi capaz de minimizar os efeitos deste procedimento sobre o tecido pulpar.

REFERÊNCIAS

1. Barghi N. Making a clinical decision for vital tooth bleaching: at-home or in-office? **Compend Contin Educ Dent**. 1998; 19:831-8; quiz 840.
2. Benetti AR, Valera MC, Mancini MNG, Miranda CB & Balducci L. In vitro penetration of bleaching agents into the pulp chamber. **Int Endod J**. 2004;37(2) 120-4.
3. Camps J, de Franceschi H, Idir F, Roland C, About I: Time-course diffusion of hydrogen peroxide through human dentin: clinical significance for young tooth internal bleaching. **J Endod**. 2007;33: 455–459.
4. Camps J, Pommel L, Aubut V, About I. Influence of acid etching on hydrogen peroxide diffusion through human dentin. **Am J Dent**. 2010 Jun;23(3):168-70.
5. Carrasco-Guerisoli LD, Schiavoni RJ, Barroso JM, Guerisoli DM, Pécora JD, Fröner LC. Effect of different bleaching systems on the ultrastructure of bovine dentin. **Dent Traumatol**. 2009 Apr;25(2):176-80.
6. Charakorn P, Cabanilla LL, Wagner WC, Foong WC, Shaheen J, Pregitzer R, Schneider D. The effect of preoperative ibuprofen on tooth sensitivity caused by in-office bleaching. **Oper Dent**. 2009 Mar-Apr;34(2):131-5.
7. Cintra LT, Benetti F, da Silva Facundo AC, Ferreira LL, Gomes-Filho JE, Ervolino E, Rahal V, Briso AL. The number of bleaching sessions influences pulp tissue damage in rat teeth. **J Endod** 2013 Dec;39(12):1576-80.
8. Cintra LTA, Benetti F, Ferreira LL, Ervolino E, Briso ALF. Dental bleaching concentration and the time influences pulp tissue damage and repair in rat teeth. In press. 2014.
9. Costa CAS, Riehl H, Kina JF, Sacono NT, Hebling J. Human pulp responses to the in-office tooth bleaching treatment. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**. 2010;109:e59-64.
10. Esposito P, Varvara G, Murmura G, Terlizzi A, Caputi S. Ability of

- healthy and inflamed human dental pulp to reduce hydrogen peroxide. **Eur J Oral Sci.** 2003;111:454–6.
11. Frigo L, Pallota RC, Meneguzzo D, Marcos RL, Penna SC, Lopes-Martins RAB. Avaliação do efeito da clareação dentária fotoativada sobre a polpa dentária em modelo experimental de ratos. **Rev Dental Press Estét** 2009; 6(1):102-14.
 12. Hanks CT, Fat JC, Wataha JC, Corcoran JF. Cytotoxicity and dentin permeability of carbamide peroxide and hydrogen-peroxide vital bleaching materials, in vitro. **J Dent Res.** 1993;72:931–8.
 13. Hannig C, Weinhold HC, Becker K, Attin T. Diffusion of peroxides through dentine in vitro with and without prior use of a desensitizing varnish. **Clin Oral Inv.** 2011 Dec;15(6):863-8.
 14. Jorgensen MG, Carroll WB. Incidence of tooth sensitivity after home whitening treatment. **J Am Dent Assoc.** 2002 Sep;133(9):1174.
 15. Kina JF, Huck C, Riehl H, Martinez TC, Sacono NT, Ribeiro AP, Costa CA. Response of human pulps after professionally applied vital tooth bleaching. **Int Endod J.** 2010 Jul;43(7):572-80.
 16. Korytowski W, Sarna T. Bleaching of melain pigments. Role of copper ions and hydrogen peroxide in autooxidation and photooxidation of synthetic dopa-melanin. **J Biol Chem.** 1990;265:12410-6.
 17. Lima HCSM. Efeitos da dieta hipoproteica na formação e composição de estruturas dentárias. Estudo experimental em ratos wistar. 2003. 65f. Tese 60(mestrado em biquímica) – Universidade federal do Rio Grande do Norte, 2003.
 18. Penna LAP, Rode SM. Estudo morfológico da polpa de molares de ratos wistar frente a uma oclusão traumatic experimental. **Pesq Odont Bras.** 2000 abr-jun;14(2):159-64.
 19. Schafers M, Marziniak M, Sorkin LS, Yaksh TL, Sommer C. Cyclooxygenase inhibition in nerve-injury- and TNF-induced hyperalgesia in the rat. **Exp Neur** 185. 2004;160–8.
 20. Seale NS, McIntosh JE, Taylor AN. Pulpal reaction to bleaching of teeth in dogs. **J Dent Res.** 1981;80:948-53.
 21. Sulieman M, Addy M, Rees JS. Surface and intra-pulpal temperature

- risers during tooth bleaching: an in vitro study. **Br Dent J** 2005;199(1):37-40.
22. Tamietti MB, Martins MAP, Abreu MHNG, Castilho LS. Fatores Associados à automedicação em um serviço brasileiro de emergência odontológica. **Pesq Bras Odont Clín Int.** 2012;12(1).
23. ten Bosch JJ, Coops JC. Tooth color and reflectance as related to light scattering and enamel hardness. **J Dent Res.** 1995;74:374-80.
24. Valença AMG, Medeiros AL, Sousa SA. Terapêutica medicamentosa adotada por cirurgiões dentistas para pacientes pediátricos na atenção básica. **Rev Bras Ciênc Saúde.** 2009;13(1):53-65.

ANEXO

Certificado da Aprovação da Comissão de Ética na Experimentação Animal



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Araçatuba

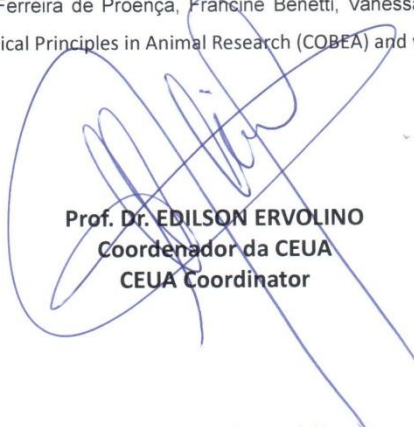
Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA)
Committee for Ethical Use of Animals (CEUA)

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto **"Estudo in vivo do potencial anti-inflamatório do ibuprofeno em ratos submetidos à clareação dentária"** sob responsabilidade do Pesquisador **LUCIANO TAVARES ANGELO CINTRA** e colaboração de Aguinaldo Candido da Silva, Luciana Louzada Ferreira, Ariane Santana Ferreira de Proença, Francine Benetti, Vanessa Rahal e André Luis de Fraga Briso está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pelo CEUA, de acordo com o processo **FOA-00582-2013**.

CERTIFICATE

We certify that the research **"In vivo anti-inflammatory potential of ibuprofen in rats submitted to dental bleaching"**, process number **FOA-00582-2013**, under responsibility of **LUCIANO TAVARES ANGELO CINTRA** and with collaboration of Aguinaldo Candido da Silva, Luciana Louzada Ferreira, Ariane Santana Ferreira de Proença, Francine Benetti, Vanessa Rahal and André Luis de Fraga Briso agree with Ethical Principles in Animal Research (COBEA) and was approved by CEUA.



Prof. Dr. EDILSON ERVOLINO
Coordenador da CEUA
CEUA Coordinator

Faculdade de Odontologia e Faculdade de Medicina Veterinária
Rua José Bonifácio, 1193 CEP 16015-050 – Vila Mendonça
Tel (18) 3636-3234 Fax (18) 3636-3333 E-mail: eervolino@foa.unesp.br