

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

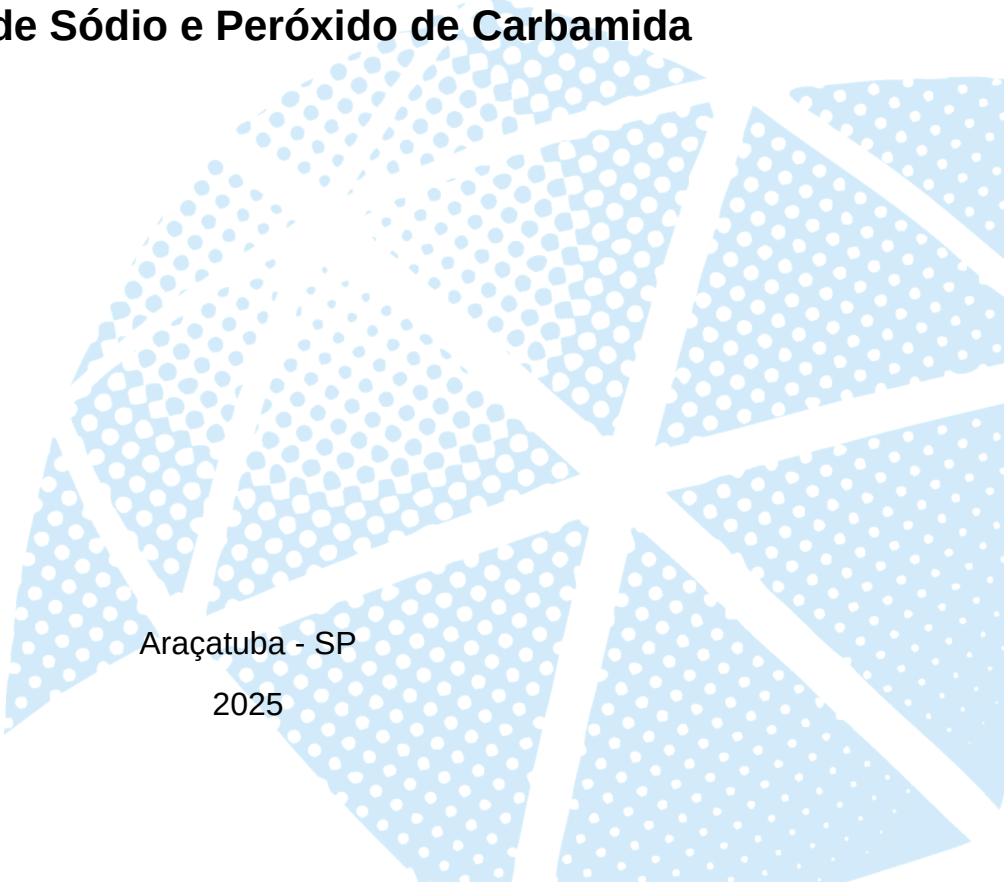
Faculdade de Odontologia - Campus de Araçatuba

ISADORA LARINI DE SOUZA

**Análise histológica do tecido pulpar de ratos submetidos à
clareação dentária com fitas clareadoras à base de
Ditionito de Sódio e Peróxido de Carbamida**

Araçatuba - SP

2025



ISADORA LARINI DE SOUZA

**Análise histológica do tecido pulpar de ratos submetidos à
clareação dentária com fitas clareadoras à base de
Ditionito de Sódio e Peróxido de Carbamida**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Faculdade de Odontologia
de Araçatuba da Universidade Paulista
(UNESP) para obtenção do título de
Bacharel em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Luciano Tavares
Angelo Cintra

Araçatuba - SP

2025

Dedico este trabalho à Luiz Carlos de Souza.

AGRADECIMENTOS

Sempre digo a todos que ter entrado na UNESP foi um presente de Deus para mim — quando eu já nem mais acreditava, veio a surpresa Dele. Não poderia começar meus agradecimentos de outra forma que não fosse agradecendo a Deus, por sempre me abençoar, me dar forças e ser a luz que guia meus passos.

Obrigada à FOA, que foi minha segunda casa por todos esses anos, que me abriu portas, proporcionou oportunidades e foi palco do maior amadurecimento da minha vida. Foram muitos desafios, mas também muitos momentos inesquecíveis. Tenho muito orgulho em ser formada por essa instituição.

A todos os funcionários da FOA, que facilitaram tanto a minha trajetória na universidade, deixo minha profunda gratidão. Este trabalho e toda a minha formação só foram possíveis graças à colaboração de diversas pessoas atenciosas, dispostas a ajudar e a oferecer todo o suporte necessário. Muitas vezes, o trabalho de vocês acontece nos bastidores e passa despercebido, mas é justamente graças a vocês que o funcionamento da instituição é possível. Muito obrigada a todos que, mesmo sem serem vistos, fazem a diferença em nossas vidas.

Aos professores que compartilharam seus conhecimentos e exerceram, com dom e paciência, a arte de ensinar: cada um, à sua maneira, contribuiu de forma única para a minha formação. Foram anos de aprendizado, desafios e crescimento, nos quais tive o privilégio de contar com mestres que não apenas transmitiram conteúdos, mas também valores. Muito obrigada a todos os professores que fizeram parte desta jornada.

Minha gratidão especial ao meu orientador, professor Luciano Cintra, que confiou no meu trabalho e me proporcionou uma das experiências mais enriquecedoras da graduação: a iniciação científica. Professor, o senhor é um exemplo de resiliência e idoneidade; mesmo com inúmeros compromissos, nunca me desamparou. Obrigada por sempre trazer serenidade para esta caminhada. Sou profundamente grata e orgulhosa por ter sido sua orientanda.

Ao professor Dr. André Briso, minha gratidão por aceitar o convite para compor a banca do meu Trabalho de Conclusão de Curso. Mesmo com a agenda tão apertada, encontrou tempo para estar presente. É muito gratificante apresentar um trabalho sobre clareamento ao senhor, pois foi com suas aulas que tive os primeiros contatos com a área e despertei meu interesse pelo tema. Obrigada pelas aulas inspiradoras e pelos ensinamentos na clínica.

À Juliana Goto, que se tornou uma mãe para mim nessa trajetória da iniciação científica. Com ela, aprendi um infinito de coisas; além do aprendizado, ganhei a companhia de uma pessoa extraordinária, que cuidou de mim, segurou minha mão quando precisei e encontrou disposição onde não havia para me ajudar a fazer tudo dar certo. Sem ela, nada disso seria possível; este trabalho é tanto dela quanto meu. Muito obrigada, Ju! Você é uma inspiração para mim.

Ao grupo de pesquisa do professor Luciano, que sempre se manteve unido e disposto a ajudar. Aqui, ninguém solta a mão de ninguém e ninguém está sozinho. É extremamente gratificante saber que pude contar com vocês nos momentos mais desafiadores. Sem dúvida, este trabalho também é fruto de vocês. Muito obrigada, pessoal.

À doutora Maria Fernanda Soares, que me deu a oportunidade de aprender sobre a rotina clínica antes mesmo do contato formal com a clínica. Uma pessoa ímpar, de caráter inigualável, que, com sua paciência e dedicação, conquista todos os pacientes e pessoas ao seu redor. Com ela, aprendi o lado da odontologia que quero seguir: uma odontologia correta, embasada, feita com competência e voltada ao benefício do paciente. Os oito meses que convivi com ela foram extremamente valiosos, contribuíram muito para a minha jornada, além de me proporcionarem o convívio com uma profissional e pessoa excepcional que levarei para sempre comigo.

Aos amigos que estiveram comigo ao longo desta jornada, dividindo surtos e pequenas conquistas: obrigada! À República Mamonas, que me acolheu e se tornou meu outro lar em Araçatuba, e à República Socafoto, que me apresentou pessoas tão especiais. Tudo o que vivemos juntos será para sempre inesquecível. Desejo que nossa união continue firme.

Em especial, às minhas companheiras de apartamento, Tatiane e Sara, que dividiram todas as experiências e desafios comigo e, desde o começo, foram um porto seguro. À Sara, obrigada por me ensinar tanto, por me fazer enxergar que sou capaz e me encorajar a expor meus sentimentos. Com certeza cresci e amadureci muito com você. À Tati, minha companheira e melhor amiga para todas as horas, que viveu intensamente a faculdade ao meu lado e ajudou a construir memórias inesquecíveis. Obrigada pela lealdade e cumplicidade. Que bom que o destino nos uniu, irmã!

Ao meu namorado Caio, a maior e melhor surpresa que a faculdade me trouxe, que chegou trazendo a calma e a leveza que eu precisava. Meu parceiro de todas as horas, que sempre me incentivou e me apoiou em tudo (mesmo quando não era sua responsabilidade). É reconfortante saber que posso contar de verdade com você. Vivemos momentos incríveis, que ficarão para sempre guardados na memória e lembrados com saudade. Eu te amo.

Às minhas avós, Francisca e Fátima, as pessoas mais especiais da minha vida, que me adotaram por quase um ano e fizeram da sua casa a minha. O tempo que passei com elas foi muito especial; cada conversa, cada momento juntas, foram aprendizados únicos que todos os netos mereciam ter com suas avós. Elas são exemplos de índole e bondade, e não é à toa que são tão queridas por todos. Espero que saibam que são inspirações para a minha vida. Se eu pudesse, moraria com vocês para sempre.

À minha mãe Kelen, minha melhor amiga e meu refúgio. Ser sua filha é reconfortante; é um misto de acolhimento e força. Você sempre foi minha maior motivadora; toda vez que duvidei de mim, lá estava você, me encorajando e vibrando para que desse certo. Sem você, nada disso seria possível. Obrigada por ser meu porto seguro e por cada gesto de amor. Hoje eu me tornei quem sou graças a você. Espero te dar muito orgulho e poder retribuir, pelo menos um pouquinho, tudo o que você já fez por mim. Eu te amo.

Ao meu pai Alan, minha fortaleza e inspiração. Ser sua filha é um privilégio, é ter a certeza de que sempre terei apoio e orientação. Obrigada por cada conselho; cada passo que dei na minha jornada foi guiado por você. Você é meu exemplo na profissão e na vida. Tenho muito orgulho de ser sua filha. Você me incentiva a correr

atrás dos meus sonhos e a nunca permanecer na inércia. Sou muito grata por tudo o que você fez por mim e espero um dia poder retribuir. Eu te amo.

À minha irmã Isabella, minha companheira de vida. Tê-la ao meu lado na jornada da vida foi um presente de Deus. Ela é a pessoa em quem mais confio no mundo: minha parceira e meu tesouro. Ter você é saber que nunca estarei sozinha. Isa, tenho muito orgulho de você e do seu jeito doce que conquista todos ao redor; tenho certeza de que você conquistará o mundo. Eu te amo incondicionalmente e, independentemente de tudo, obrigada por viver a vida ao meu lado.

A toda a minha família, tanto materna quanto paterna, que sempre me apoiou, incentivou e ajudou em todas as fases da minha vida. Ter uma família unida é a base de tudo o que sou. Meus familiares são meus exemplos de vida, e tenho certeza de que tenho a melhor família do mundo.

Por fim, à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro concedido por meio do Processo nº 2024/02325-9, que possibilitou a realização da minha iniciação científica e, mais do que isso, pelo importante papel de incentivo à pesquisa e à ciência no Brasil.

“Conheça todas as teorias, domine todas as técnicas, mas ao tocar uma alma humana, seja apenas outra alma humana.”

(Carl Jung).

RESUMO

Souza, LI. Análise histológica do tecido pulpar de ratos submetidos à clareação dentária com fitas clareadoras à base de Ditionito de Sódio e Peróxido de Carbamida. [Trabalho de Conclusão de Curso]. Araçatuba: Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia; 2025.

O emprego da técnica caseira de clareação tem sido utilizado frequentemente devido ao conforto e a menor concentração de ativos na composição dos géis à base de peróxido de hidrogênio ou à base de peróxido de carbamida (PC). Além disso, novos produtos clareadores foram desenvolvidos, como a fita clareadora à base de Ditionito de sódio (Dit). No entanto, estudos anteriores demonstraram que a clareação dentária pode induzir processo inflamatório no tecido pulpar, sendo necessária a melhor avaliação dos agentes clareadores junto a polpa dentária. O objetivo desse estudo foi avaliar *in vivo* a influência de fitas clareadoras à base de diferentes agentes sobre o processo inflamatório e maturação de fibras colágenas do tecido pulpar de molares de ratos Wistar. Foram utilizadas 72 hemimaxilas de 48 ratos divididas aleatoriamente em 3 grupos: C - controle (sem tratamento); FPC - fita de PC; FDit - fita de Dit. O procedimento clareador foi realizado por 1h durante 5 dias consecutivos. Imediatamente após a clareação, após 2 dias e 7 dias (n=8), os animais foram eutanasiados e as maxilas removidas e processadas para análise histológica em colorações de Hematoxilina-Eosina e Picrosirius Red. Os dados foram submetidos ao teste estatístico One-Way ANOVA após aplicação do teste de normalidade ($p < 0,05$). No tempo imediato, apenas 2 espécimes do grupo FDit apresentaram um infiltrado inflamatório discreto e apenas 1 espécime do grupo FPC apresentou o mesmo escore. No período de 2 dias, apenas 1 espécime do grupo FDit apresentou infiltrado inflamatório discreto. Aos 7 dias não houve diferença estatística entre os grupos. Aos 2 dias e 7 dias os grupos clareados apresentaram uma expressão discretamente maior de fibras colágenas imaturas. Concluiu-se que as fitas clareadoras à base de Peróxido de Carbamida e Ditionito de sódio influenciaram discretamente no processo inflamatório do tecido pulpar e na expressão de fibras colágenas imaturas.

Palavras-chave: clareação dentária; peróxido de carbamida; ditionito de sódio; resposta pulpar.

ABSTRACT

Souza, LI. Histological analysis of pulp tissue of rats subjected to tooth whitening with bleaching strips based on Sodium Dithionite and Carbamide Peroxide. [Course Conclusion Work]. Araçatuba: Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculty of Dentistry; 2025.

Home whitening techniques have been used frequently due to the comfort and lower concentration of active ingredients in hydrogen peroxide or carbamide peroxide (CP)-based gels. In addition, new whitening products have been developed, such as sodium dithionite (Dit)-based whitening tape. However, previous studies have shown that tooth whitening can induce an inflammatory process in the pulp tissue, making it necessary to better evaluate whitening agents in the dental pulp. The aim of this study was to assess in vivo the influence of whitening strips based on different agents on the inflammatory process and the maturation of collagen fibres in the pulp tissue of Wistar rat molars. The study used 72 hemimaxillae from 48 rats randomly divided into 3 groups: C - control (no treatment); FPC - PC tape; FDit - Dit tape. The bleaching procedure was carried out for 1 hour over 5 consecutive days. Immediately after bleaching, after 2 days and 7 days (n=8), the animals were euthanised and the jaws removed and processed for histological analysis in Hematoxylin-Eosin and Picrosirius Red stains. The data was submitted to the One-Way ANOVA statistical test after applying the normality test ($p < 0.05$). In the immediate period, only 2 specimens from the FDit group showed a slight inflammatory infiltrate and only 1 specimen from the FPC group showed the same score. At 2 days, only 1 specimen from the FDit group showed a slight inflammatory infiltrate. At 7 days there was no statistical difference between the groups. At 2 days and 7 days, the bleached groups showed a slightly higher expression of immature collagen fibres. It was concluded that bleaching strips based on Carbamide Peroxide and Sodium Dithionite had a slight influence on the inflammatory process in pulp tissue and on the expression of immature collagen fibres.

Keywords: tooth whitening; carbamide peroxide; sodium dithionite; pulp response.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Imagens representativas da sessão clareadora em aumento microscópico 25x: (A) Aspecto inicial dos molares superiores com fita clareadora em posição; (B) Acomodação da fita clareadora nos molares superiores; (C) Aplicação da barreira gengival; (D) Aspecto da fita clareadora sobre os molares dos ratos sem o aumento microscópico. 19
- Figura 2 – Imagens representativas da análise de coloração HE. Grupos: Controle (C), Fita de Ditionito (FDit), Fita de Peróxido de Carbamida (FPC). Tempos: 0h, 2 dias e 7 dias. (HE, 100x) 24
- Figura 3 – Imagens representativas da análise de coloração Picrosírius-Red. Grupos: Controle (C), Fita de Ditionito (FDit), Fita de Peróxido de Carbamida (FPC). Tempos: 0h, 2 dias e 7 dias. (PSR, 400x). 27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Distribuição dos grupos experimentais de acordo com o tratamento realizado.	18
Tabela 2 – Escores, mediana e valores de p para atribuídos ao processo inflamatório nos diferentes grupos e tempos experimentais.	23
Tabela 3 – Percentual de fibras colágenas maduras e imaturas, desvio padrão e valores de p para atribuídos ao processo inflamatório nos diferentes grupos e tempos experimentais.	26

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CEUA	Comissão de Ético no Uso de Animais
C	Controle
Dit	Ditionito de Sódio
EDTA	Ácido Etilenodiaminotetraacético
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
FDit	Fita à base de Ditionito
FPC	Fita à base de Peróxido de Carbamida
H.E.	Hematoxilina Eosina
PC	Peróxido de Carbamida
PSR	Picrosirius Red
PH	Peróxido de Hidrogênio

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. OBJETIVO.....	16
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	16
3.1. Animais.....	16
3.2. Comissão de Ética no Uso de Animais.....	17
3.3. Drogas Empregadas.....	17
3.4. Agente Clareador.....	17
3.5. Sessão Clareadora.....	18
3.6. Eutanásia e Processamento Laboratorial.....	19
4. FORMA DE ANÁLISE DOS RESULTADOS.....	20
4.1. Análise Histológica.....	20
4.2. Análise Descritiva.....	20
4.3. Análise Qualitativa.....	21
4.4. Análise das Fibras Colágenas.....	21
4.5. Análise Estatística.....	21
5. RESULTADOS.....	22
5.1. Infiltrado Inflamatório.....	22
5.2. Fibras Colágenas.....	25
6. DISCUSSÃO.....	25
7. CONCLUSÃO.....	30
REFERÊNCIAS.....	31
ANEXO A.....	37

1 INTRODUÇÃO

A busca pela estética dentária, considerada satisfatória dentro dos padrões de beleza da sociedade moderna, tornou a clareação dentária um dos métodos mais utilizados na clínica odontológica, sendo uma solução para pacientes que apresentam dentes pigmentados (Calderini et al., 2016; Agostinho et al., 2003; de Almeida et al., 2015). A insatisfação dos pacientes, relacionada principalmente com a coloração escurecida dos dentes (Tin-Oo et al., 2011), bem como a manipulação acessível dos produtos, favorece a utilização de agentes clareadores (Agostinho et al., 2003).

A clareação dentária pode ser realizada pela técnica caseira, com o auxílio de moldeiras de acetato personalizadas e supervisão do cirurgião-dentista (Hasson et al., 2006), em que o paciente realiza o procedimento em sua casa durante maior período de tempo, quando comparada à técnica de consultório, que demanda um menor intervalo de aplicação do produto devido à maior concentração de peróxido de hidrogênio (PH) dos agentes clareadores (Vaz et al., 2016). Pode-se também realizar a combinação de ambas as técnicas de clareação, resultando na técnica mista (Reis et al., 2013). No entanto, estudos já demonstraram que resultados semelhantes de eficácia clareadora foram obtidos com a clareação caseira sozinha, quando comparada à combinação de clareação caseira e de consultório simultaneamente (Machado et al., 2016).

O peróxido de carbamida (PC) é um agente clareador comumente utilizado para as técnicas de clareação dentária caseira (Amengal et al., 2002). Trata-se do precursor do peróxido de hidrogênio (PH), o agente ativo final responsável pela ação clareadora (Buchalla et al., 2007). Um dos primeiros estudos realizados acerca dos efeitos dos géis no tecido dentário observou a menor penetração do peróxido de carbamida na polpa, quando comparada à do PH (Cooper et al., 1992). Todavia, o uso do PC também afeta esses tecidos, mesmo que de forma menos intensa, e resulta em hipersensibilidade dentária após o tratamento (Reis et al., 2013). Ainda, é relacionado a danos ao tecido gengival (Luque-Martinez et al., 2016), em decorrência da exposição direta a este tecido durante o uso das moldeiras de acetato (de Almeida et al., 2015).

A dissociação do PH proveniente do PC em espécies reativas de oxigênio (EROs) capacita tais espécies a se difundirem tanto pelo esmalte quanto pela dentina, de modo a reagirem com componentes responsáveis pela pigmentação dos dentes, o que resulta na clareação dentária (Benetti et al., 2004; Camps et al., 2007, 2010; Hannig et al., 2011; Cintra et al., 2016a; Carrasco-Guerisoli et al., 2009). Essas EROs são potentes agentes oxidantes (Camps et al., 2007; Carrasco-Guerisoli et al., 2009; Camps et al., 2010; Hannig et al., 2011), capazes de induzir um estresse oxidativo (Cintra et al., 2016a; Matsui et al., 2009), atingindo também a polpa dentária (Nathanson, 1997; Schulte et al., 1994; Hanks et al., 1993).

Em um estudo anterior (Processo FAPESP nº 2013/25429-0, Cintra et al., 2013), verificamos que, após sessão clareadora com alta concentração de PH, áreas pulpare necróticas com severo infiltrado inflamatório subjacente estavam presentes no tecido pulpar. Os danos eram maiores com o aumento do número de sessões clareadoras (Cintra et al., 2013). Em um segundo estudo (Processo FAPESP nº 2011/13709-2/renovação da bolsa, Cintra et al., 2016b), observamos que esses danos pulpare estavam reparados após 30 dias, apresentando tecido pulpar organizado e ausência de inflamação. Contudo, parte significativa da câmara pulpar foi ocupada por dentina terciária, e sua presença foi proporcional à concentração e ao tempo de atuação do PH (Cintra et al., 2016b).

Estudos acerca da distribuição do colágeno no tecido pulpar encontraram predominantemente fibras de colágeno tipo I e III, ou fibras maduras e imaturas, respectivamente (Garcia et al. 2003, Pereira et al. 2014). Os agentes clareadores caseiros e de consultório são capazes de induzir a degradação do colágeno nos tecidos duros dos dentes (Toledano et al. 2011), porém a polpa dentária é um tecido conjuntivo bem vascularizado que possui a capacidade de cicatrizar após uma lesão (Garber et al. 2009). No tecido pulpar normal, ocorre o processo de fibrose e a deposição reacional de dentina, considerado um processo de reparo, intimamente associado à cicatrização (Kim et al. 2010). Ademais, na ausência de contaminação bacteriana, como no procedimento de clareação, uma polpa saudável tem uma alta capacidade de reparo, um processo claramente demonstrado pela formação de uma ponte de dentina (Cintra et al. 2013).

Com relação à clareação com PC, efeitos negativos como a redução na dureza dos dentes clareados (de Carvalho et al., 2020), hipersensibilidade após o

procedimento (Reis et al., 2013) e danos ao tecido gengival (Luque-Martinez et al., 2016) já foram observados. Estes achados reforçam a necessidade de estudos in vivo para avaliação dos efeitos no tecido pulpar causados por géis utilizados na clareação. Considerando esses efeitos colaterais, a clareação dentária é um procedimento que necessita do monitoramento de um profissional, como já mencionado. Todavia, observa-se atualmente a crescente procura por produtos over the counter (OTC), nos quais o princípio ativo responsável pelo efeito clareador pode estar incorporado a várias formas de utilização, como dentifrícios, enxaguantes bucais e fitas que se adaptam à superfície do esmalte dentário (Naidu et al., 2020; Demarco et al., 2016), com o objetivo de facilitar a utilização pelos clientes (Naidu et al., 2020). Disponíveis em supermercados, drogarias e lojas online (Demarco et al., 2009), os produtos geralmente possuem valor acessível, aplicação facilitada com tempo reduzido e utilização com baixas concentrações do princípio ativo (Gerlach et al., 2001; Demarco et al., 2009; Cua et al., 2022). Essas características se tornaram atrativas aos pacientes, porém ainda impedem um diagnóstico eficaz a respeito das causas da descoloração dentária (Basheer et al., 2023), uma vez que não são acompanhadas pelo cirurgião-dentista.

Na literatura, alguns estudos já buscaram avaliar os efeitos das fitas clareadoras após a sua popularização, visando elucidar os resultados de sua utilização na eficácia da alteração cromática (da Rosa et al., 2020; Naidu et al., 2020; Sulieman et al., 2006), bem como seu potencial de provocar prejuízos como a sensibilidade, irritação gengival (da Rosa et al., 2020) e efeitos colaterais no esmalte dentário (Cua et al., 2022). Gerlach (2009) envolveu em sua metanálise sete ensaios clínicos randomizados que avaliaram, durante alguns anos, a eficácia e segurança no emprego das fitas clareadoras em quatro diferentes pacientes, obtendo um resultado positivo. Em contrapartida, o estudo desenvolvido por Sulieman (2006) observou um menor efeito clareador das fitas quando comparadas aos géis de peróxido de carbamida.

Recentemente, uma nova fita clareadora contendo Ditionito de sódio foi produzida, sendo esse ativo responsável por uma ação redutora que promove a clareação, e que tradicionalmente é utilizado na fabricação de papel e na indústria têxtil (Lyndsie et al., 2008; de Carvalho et al., 2005; Yu et al., 2021). Diferente do processo de oxidação que ocorre com os peróxidos, os íons do Ditionito dissociam-se

em bissulfito de sódio por meio do processo de redução, alterando a estrutura dos grupos cromóforos pela hidrólise, rompendo as ligações covalentes e tornando as moléculas cromóforas incolores, o que resulta no efeito clareador (Babot-Marquillas et al., 2022; de Carvalho et al., 2005; Yu et al., 2021; Maistro, 2000; Marquillas et al., 2020; Babot-Marquillas et al., 2020).

Apesar do desenvolvimento de muitos estudos acerca dos géis e fitas clareadoras, pouco foi pesquisado a respeito dos seus efeitos no tecido pulpar. O mecanismo de ação do Ditionito de sódio e sua permeação nos tecidos dentários também não foi compreendido totalmente, sendo fundamentais novas investigações. Estudos *in vivo* permitem a análise de reações simultâneas em um tecido organizado, com diferentes tipos de células atuando em conjunto na resposta desse tecido ao agente agressor (Cintra et al., 2016b). Assim, propomos avaliar, *in vivo*, a resposta do tecido pulpar de molares de ratos Wistar ao longo do tempo, frente à clareação dentária utilizando a fita-teste clareadora Dithionite White, à base de Dithionite de sódio, e a fita clareadora Lumist, à base de PC 20%.

2 OBJETIVO

Avaliar *in vivo* o processo inflamatório do tecido pulpar após procedimento clareador em molares de ratos Wistar por meio da análise histológica em Hematoxilina-Eosina. e análise de fibras colágenas por meio da coloração de Picrosírius Red.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Animais

Foram utilizados 48 ratos machos (*Rattus albinus*, Wistar), pesando aproximadamente 280-300g, provenientes do biotério da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP. Os animais foram mantidos em ambiente com temperatura entre 22 e 24°C com ciclo de luz controlada (12 horas claro e 12 horas escuro) e em

gaiolas coletivas (quatro ratos por gaiola), alimentados durante todo o período experimental com dieta sólida e água “ad libitum”, exceto nas primeiras 24 horas após a intervenção. Os procedimentos experimentais foram submetidos a Comissão de Ética no Uso de Animais.

3.2 Comissão de Ética no Uso de Animais

A Comissão de Ética o Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual Paulista, São Paulo, Brasil (nº 498-2023), aprovou o protocolo experimental, que foi conduzido de acordo com suas diretrizes.

3.3 Drogas empregadas

Para anestesia dos animais foi utilizado via intramuscular um sedativo à base de Cloridrato de Xilazina 2% (Xilazin, Syntec do Brail LTDA, Cotia, São Paulo, Brasil) e um anestésico à base de Cloridrato de Cetamina a 10% (Cetamin, Syntec – Barueri, Brasil – 25mg/Kg). Para eutanásia, foi utilizado um anestésico via peritoneal à base de tiopental sódico (Thiopentax, Cristália – Produtos Químicos Farmacêuticos LTDA, Itapira, Brasil).

3.4 Agente Clareador

Foram utilizados como produtos clareadores, a fita à base de PC a 20% (Lumist, lote 190612, Utah, EUA) e fita clareadora à base de Ditionito de sódio (Dithionite White, lote 230626, grupo CAO INC, Utah, EUA). - Divisão em grupos. Os grupos experimentais foram divididos de acordo com o tratamento realizado e podem ser visualizados na Tabela 1.

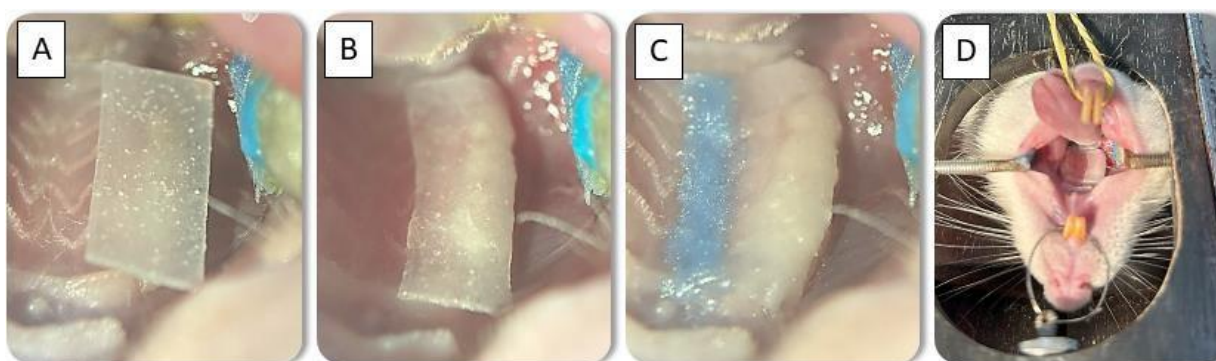
Tabela 1. Distribuição dos grupos experimentais de acordo com o tratamento realizado.

Controle (C)	Aplicação de 1 h do espessante por 5 dias
Fita de PC (FPC)	Aplicação de 1 h da fita clareadora por 5 dias
Fita de Dit (FDit)	Aplicação de 1 h da fita clareadora por 5 dias

3.5 Sessão clareadora

Por se tratar de um modelo desenvolvido pelo nosso grupo, foi realizado o treinamento prévio para análise de viabilidade de execução dos procedimentos, especialmente em relação à clareação com fitas. Todos os procedimentos foram treinados com auxílio do microscópio óptico em aumento de 25x. Inicialmente os animais foram anestesiados conforme protocolo descrito anteriormente. De forma aleatória, as hemimaxilas foram distribuídas nos diferentes grupos. No grupo C foi primeiramente realizada a aplicação e fotoativação da barreira gengival resinosa (Top Dam – FGM Produtos Odontológicos, Joinville, SC, Brasil). E, em seguida, foi aplicado o espessante do gel clareador por 1 hora (controle). O grupo FPC recebeu a fita clareadora à base de PC por 1 hora. O grupo FDiT recebeu a fita teste à base de Ditionito de sódio por 1 hora. Os grupos FPC e FDiT receberam a aplicação da barreira gengival após acomodação da fita com o propósito de manter a fita em posição. Todos os produtos clareadores permaneceram em contato com o esmalte por 1 hora e foram realizados durante 5 dias consecutivos. Após todos os procedimentos clareadores, a barreira gengival foi retirada com auxílio de uma pinça e a superfície do dente foi limpa com algodão e papel absorvente e lavada abundantemente com água.

Figura 1. Imagens representativas da sessão clareadora em aumento microscópico 25x: (A) Aspecto inicial dos molares superiores com fita clareadora em posição; (B) Acomodação da fita clareadora nos molares superiores; (C) Aplicação da barreira gengival; (D) Aspecto da fita clareadora sobre os molares dos ratos sem o aumento microscópico.



3.6 Eutanásia e processamento laboratorial

Decorridos os períodos pré-determinados de 0 horas (imediatamente após a última sessão clareadora) e 2 dias ($n=8$ hemimaxilas/tempo/grupo) após o procedimento clareador, os animais foram eutanasiados com dose excessiva de Tiopental (150mg/Kg). Após a morte, foi removida toda a pele correspondente à face do animal e com dois cortes realizados com tesoura no ângulo da boca, foi realizada a separação da mandíbula e maxila. Empregando uma lâmina intercambiável nº 15, montada em cabo de bisturi, foi realizada uma incisão em profundidade no palato do animal ao nível do plano sagital mediano acompanhando a sutura intermaxilar, separando a maxila direita da esquerda.

Em seguida, utilizando outra lâmina intercambiável nº 15, e de forma cuidadosa, foi realizado um corte do tecido gengival tangenciando a face mesial do primeiro molar superior, e abrindo uma relaxante na face vestibular. O mesmo foi realizado tangenciando a face distal do terceiro molar superior. Após, com a mesma lâmina, foi contornado o sulco gengival na vestibular dos molares, e com instrumento adaptado, a gengiva da face vestibular foi descolada, e separada na porção inferior. Cada hemimaxila foi armazenada imediatamente em frascos individuais devidamente

identificados, contendo solução de formalina a 4% tamponada com pH neutro, durante as primeiras 18 horas e depois lavados em água corrente por um período de 12 horas para a remoção de toda solução de fixação. Após a fixação, as hemimaxilas foram desmineralizadas em solução de ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA) neutro a 10%, por aproximadamente 3 meses. Posteriormente, foram lavadas em água corrente, desidratadas em álcool, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina. A orientação no momento da inclusão permitiu a realização de cortes teciduais dos primeiros molares superiores e estruturas de suporte em seu sentido longitudinal. Para fins de padronização, foi selecionada a raiz mesial do primeiro molar superior em corte que proporcionou a visualização desta raiz em seu sentido longitudinal pleno. Esta raiz serviu de orientação durante a realização dos cortes, e foram selecionados os cortes centrais da câmara pulpar. Os cortes teciduais semi-seriados foram realizados com 5 µm de espessura, em micrótomo (Leica - RM 2045) (Cintra et al. 2017). Para cada espécime, 2 lâminas com 3 cortes teciduais cada foram preparadas e coradas com Hematoxilina e Eosina (H.E.) (Lillie 1954) e Picrosirius Red.

4 FORMA DE ANÁLISE DOS RESULTADOS

4.1 Análise histológica

A avaliação microscópica foi efetuada por um observador cego calibrado que determinou os escores para cada espécime empregando microscópio óptico (DM 4000 B, Leica®, Germany). Os resultados da análise histológica foram expostos por meio de duas análises, sendo uma descritiva e outra qualitativa, referentes a cada grupo experimental.

4.2 Análise descritiva

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

4.3 Análise qualitativa

A análise qualitativa consistiu na avaliação do infiltrado inflamatório, atribuindo magnitudes registradas sob a forma de escores de 1 a 5, gerando dados para análise estatística. Assim, o processo inflamatório foi analisado quanto à sua intensidade, considerando o número médio de células inflamatórias presentes no terço coronário do tecido pulpar, examinados em aumento de 400X. Os escores atribuídos em cada terço foram (Benetti et al. 2017):

- 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);
- 5– Necrose.

4.4 Análise das fibras colágenas

A análise das fibras colágenas foi feita por meio dos cortes corados com Picrosírius Red que foram analisados sob microscopia com luz polarizada com objetivo de identificar a maturação das fibras colágenas maduras e imaturas (Terayama et al. 2020, Cintra et al. 2017). Foi feita a seleção de cor para cada tipo de fibra colágena da região selecionada da câmara pulpar, após a seleção das cores o software Leica LAS 4.12 (Leica Microsystems, Nussloch – Germany) foi utilizado para o cálculo da área demarcada com cada tipo de fibra colágena, sendo fibras maduras e espessas as vermelho-amareladas, e as fibras imaturas e finas verde-amareladas (Junqueira et al. 1982, Cintra et al. 2017).

4.5 Análise estatística

"A análise estatística foi realizada por meio do programa SigmaPlot 12.0™ (Chicago, IL, USA). A verificação da distribuição normal das variáveis contínuas quantitativas foi feita pelos testes t de Student e Shapiro-Wilk. Em seguida os dados

que passaram no teste de normalidade foram submetidos ao teste One-Way ANOVA. O nível de significância para todos os testes foi de 5% ($P < 0,05$).

5 RESULTADOS

5.1 Infiltrado Inflamatório

Os escores atribuídos ao infiltrado inflamatório de cada grupo nos diferentes tempos podem ser observados na tabela 2. Os cortes representativos de cada grupo podem ser visualizados na figura 2.

No tempo de imediato de 0h, 2 espécimes do grupo clareado com a fita à base de ditionito (FDit) apresentaram escore 2 para o infiltrado inflamatório e apenas 1 espécime do grupo clareado com a fita à base de peróxido de carbamida (FPC) apresentou escore 2. No período de 2 dias, apenas 1 espécime do grupo Fdit apresentou escore 2 para o infiltrado inflamatório. Aos 7 dias, os grupos clareados não apresentaram diferença estatística quando comparados ao grupo controle.

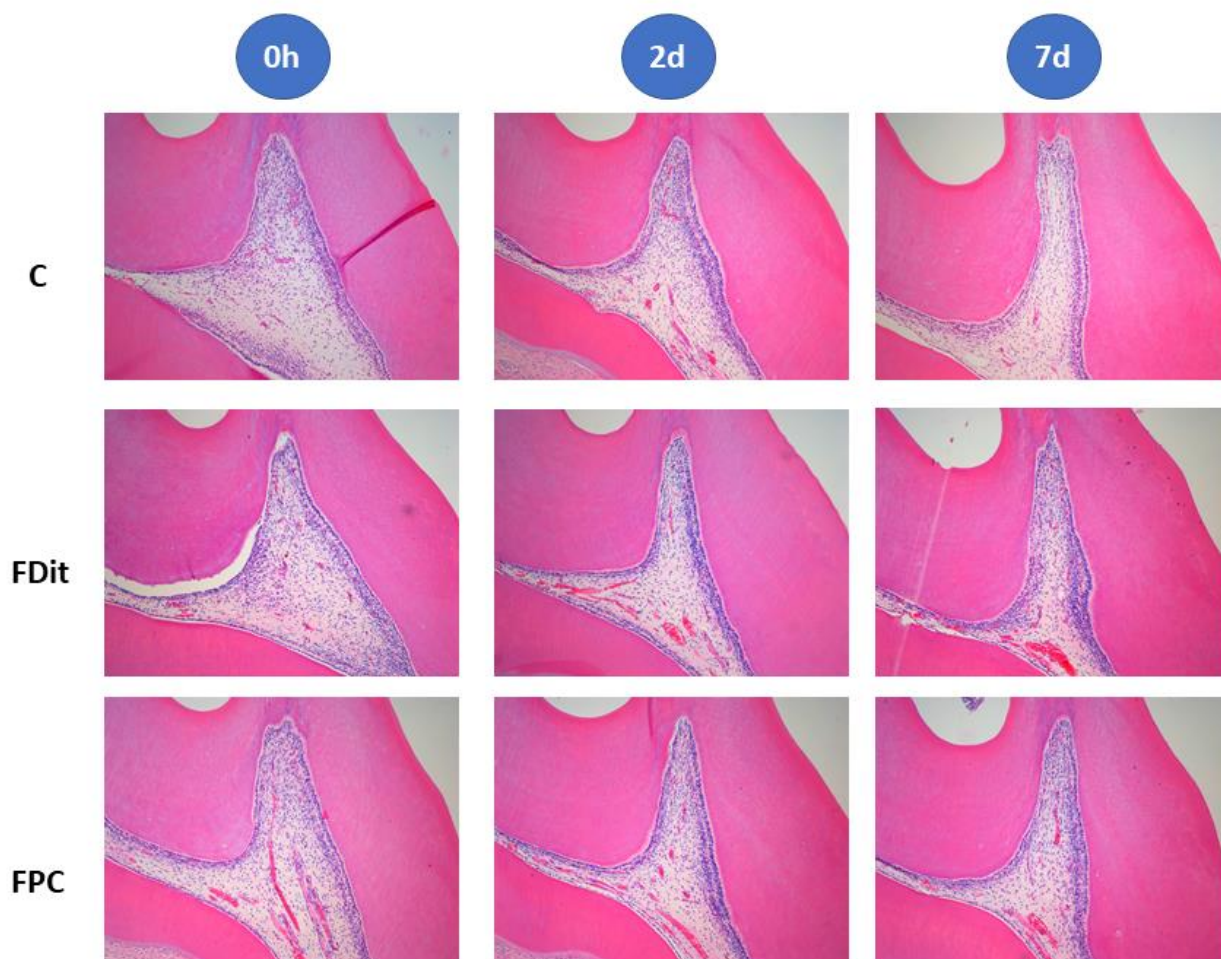
Em todos os tempos experimentais, os grupos apresentaram sinais de normalidade do tecido pulpar. Os tecidos permaneceram organizados, com a camada de odontoblastos íntegra ao redor da polpa, vasos sanguíneos normais e matriz extracelular estruturada.

Tabela 2. Escores, mediana e valores de p para atribuídos ao processo inflamatório nos diferentes grupos e tempos experimentais.

Infiltrado Inflamatório		Grupos			<i>Análise Estatística e Valor de p</i>
Tempo	Escores	C	FPC	FDit	
0h	1	8/8	7/8	6/8	$p = 0.334$
	2	0/8	1/8	2/8	
	3	0/8	0/8	0/8	
	4	0/8	0/8	0/8	
	5	0/8	0/8	0/8	
	Mediana*	1 ^a	1 ^a	1 ^a	
2d	1	8/8	8/8	7/8	$p = 0.368$
	2	0/8	0/8	1/8	
	3	0/8	0/8	0/8	
	4	0/8	0/8	0/8	
	5	0/8	0/8	0/8	
	Mediana*	1 ^a	1 ^a	1 ^a	
7d	1	8/8	8/8	8/8	$p = 1.000$
	2	0/8	0/8	0/8	
	3	0/8	0/8	0/8	
	4	0/8	0/8	0/8	
	5	0/8	0/8	0/8	
	Mediana*	1 ^a	1 ^a	1 ^a	

*Letras diferentes representam diferença estatisticamente significante entre os grupos em cada tempo experimental ($p < 0,05$)

Figura 2. Imagens representativas da análise de coloração HE. Grupos: Controle (C), Fita de Ditionito (FDit), Fita de Peróxido de Carbamida (FPC). Tempos: 0h, 2 dias e 7 dias. (HE, 100x).



5.2 Fibras Colágenas

A análise do percentual de fibras colágenas maduras e imaturas pode ser observada na tabela 3 e os cortes representativos de cada grupo podem ser visualizados na figura 3.

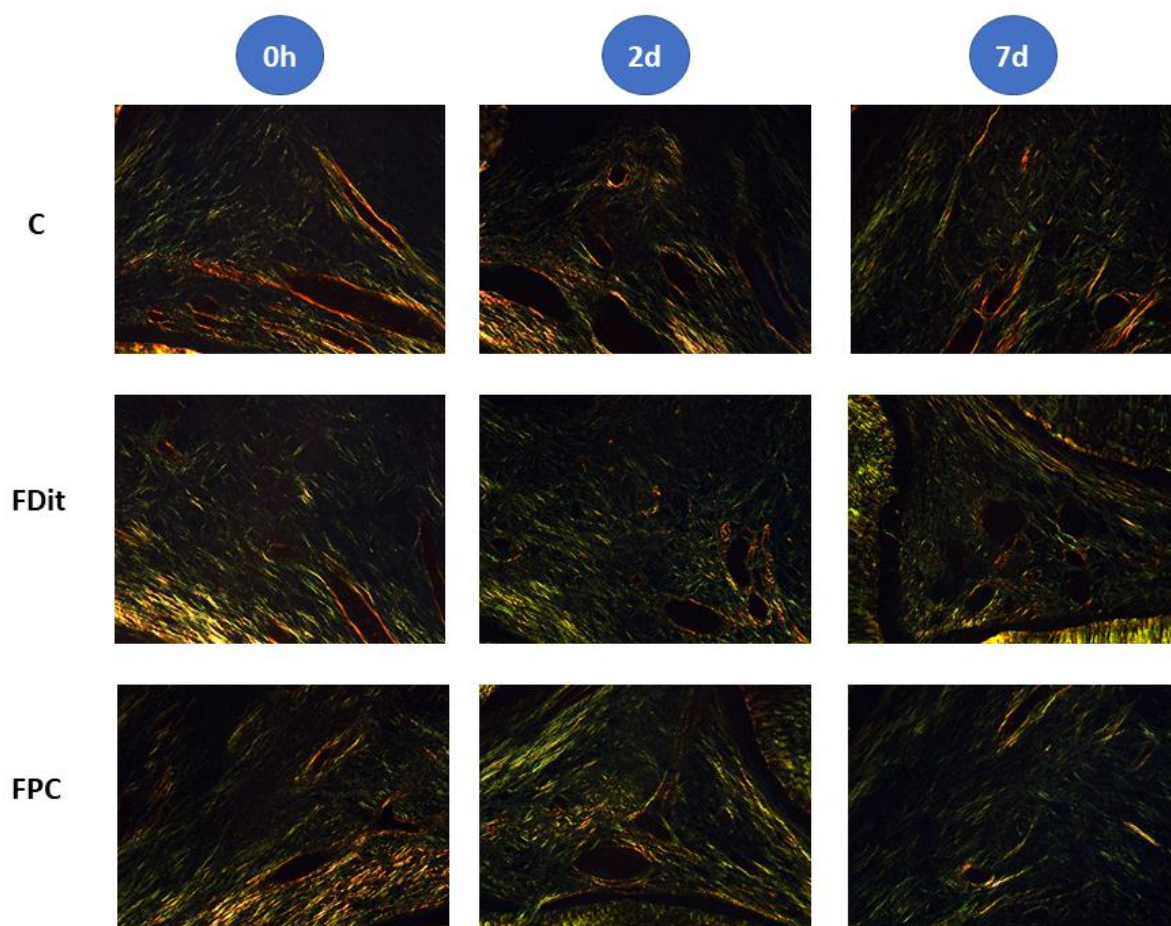
No tempo imediato de 0h, os grupos clareados não apresentaram diferença estatística para fibras colágenas quando comparados ao grupo controle. No período de 2 dias, os grupos clareados apresentaram um percentual de fibras imaturas discretamente maior que o grupo controle e aos 7 dias os grupos clareados também apresentaram discreto aumento nas fibras imaturas. Em nenhum dos tempos experimentais, houve diferença estatística significativa entre os grupos analisados ($p>0,05$).

Tabela 3. Percentual de fibras colágenas maduras e imaturas, desvio padrão e valores de p para atribuídos ao processo inflamatório nos diferentes grupos e tempos experimentais.

Tempo	Grupos						Análise Estatística e Valor de <i>p</i>
	C		FPC		FDit		
	Maturas	Imaturas	Maturas	Imaturas	Maturas	Imaturas	
0h	43.63 ± 6.93	56.36 ± 6.93	45.02 ± 6.49	54.98 ± 6.49	41.15 ± 7.92	58.84 ± 7.92	p = 0.557
2d	42.52 ± 8.88	57.47 ± 8.88	32.12 ± 8.74	67.87 ± 8.74	33.94 ± 9.63	66.00 ± 9.63	p = 0.073
7d	43.29 ± 12.32	56.70 ± 12.32	29.88 ± 10.06	70.11 ± 10.06	34.42 ± 10.80	65.57 ± 10.80	p = 0.070

*Letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa entre os grupos em cada tempo experimental ($p < 0,05$)

Figura 3. Imagens representativas da análise de coloração Picrosírius-Red. Grupos: Controle (C), Fita de Ditionito (FDit), Fita de Peróxido de Carbamida (FPC). Tempos: 0h, 2 dias e 7 dias. (PSR, 400x).



6 DISCUSSÃO

O procedimento clareador é um dos mais procurados nos consultórios odontológicos. A técnica caseira na qual o paciente utiliza moldeiras de acetato personalizadas com a supervisão do cirurgião-dentista (Hasson et al. 2006) é uma das mais aderidas. Todavia, apesar da praticidade, tem sido observada a grande procura por produtos clareadores apresentados de diferentes formas, como as fitas, que possuem o intuito de facilitar a aplicação pelos clientes (Naidu et al. 2020). Apesar de serem alternativas atrativas aos pacientes, a ausência do acompanhamento pelo cirurgião dentista não permite o diagnóstico a respeito das causas do clareamento (Basheer et al. 2023), o que pode gerar prejuízos e efeitos colaterais desnecessários.

Para que haja sucesso no processo de clareação, alguns fatores estão associados como a concentração do agente clareador empregado, a frequência de aplicação, a capacidade do agente de reagir com as moléculas cromóforas e a duração do tratamento (da Rosa et al. 2020, Demarco et al. 2009). Em estudo realizado anteriormente, foi observado que espécimes submetidos ao procedimento clareador possuíam alterações significativas na polpa dentária, sendo que a extensão e a intensidade dessas alterações aumentavam conforme o número de sessões de clareação (Cintra et al. 2013). Em outro estudo, foi possível observar que a severidade do dano causado ao tecido pulpar foi proporcional ao aumento da concentração e do tempo de aplicação do gel clareador (Cintra et al. 2016b).

No presente estudo, o grupo clareado pela fita à base de ditionito (FDit) apresentou infiltrado inflamatório discreto em 2 dos espécimes analisados no período imediato (0h). Já o grupo clareado pela fita à base de peróxido de carbamida (FPC) apresentou apenas 1 espécime com o mesmo escore inflamatório para o mesmo período. No período de 2 dias, a inflamação foi ainda menor, contando com apenas 1 espécime com infiltrado inflamatório discreto no grupo FPC. Esses resultados contrastam com um estudo anterior, que demonstrou um infiltrado inflamatório severo com presença de áreas necróticas para os mesmos períodos quando realizada a clareação com o gel de peróxido de hidrogênio (PH) à 17,5% (Goto, 2023). Tal contraste pode sugerir que a utilização das fitas causou uma inflamação mais branda

e de forma menos agressiva a polpa dentária dos animais, quando comparada à utilização do gel de PH. Ainda, um estudo recente demonstrou que as fitas clareadoras de PC e Ditionito obtiveram maiores alterações cromáticas no período de 5 dias de tratamento quando comparadas a outras fitas (Aidar et al. 2025), o que corrobora com a eficácia clareadora do protocolo utilizado neste estudo.

Estudos já evidenciaram que os agentes clareadores podem induzir a degradação do colágeno nos tecidos duros dos dentes (Toledano et al. 2011), o que acarreta alterações em sua estrutura e bioquímica (Sato et al. 2013). A distribuição do colágeno no tecido pulpar ocorre por meio de fibras colágenas do tipo I e do tipo II, ou maduras e imaturas, respectivamente (Garcia et al. 2003, Pereira et al. 2014), sendo a coloração de Picrosírius-Red responsável por permitir a identificação e diferenciação das mesmas. A cor amarelo-esverdeado é designada para as fibras imaturas, enquanto a cor amarelo-avermelhado para as maduras (Junqueira et al. 1982). Sabe-se que o tecido pulpar é formado por aproximadamente 34% de fibras colágenas (Abrahão et al. 2006), dessa forma, a análise de como essas proteínas reagem ao serem submetidas ao procedimento clareador se torna relevante, considerando que as espécies reativas de oxigênio do gel clareador podem causar danos significativos ao tecido pulpar (Cintra et al. 2016a, 2017, Benetti et al. 2018).

No presente estudo, foi observada a maior presença de fibras colágenas imaturas nos períodos de 2 e 7 dias nos grupos clareados, o que pode sugerir um pequeno processo de reparo ativo, devido ao infiltrado inflamatório discreto observado na análise de HE. Na polpa dentária considerada normal, a presença de fibrose e deposição de dentina reacional ocorrem como parte de um processo de reparação, estritamente relacionado com a cicatrização (Kim et al. 2010). A menor expressão de fibras colágenas maduras também pode sugerir que não houve a maturação acelerada do tecido pulpar após a clareação, processo que poderia indicar um infiltrado inflamatório exacerbado (Terayama et al. 2020), mas que não ocorreu neste estudo.

Dessa forma, é possível considerar que a utilização das fitas de PC e Ditionito nas concentrações do protocolo apresentado neste estudo, apresentaram resultados importantes quanto ao infiltrado inflamatório e reparo. Todavia, é fundamental que mais estudos in vivo sejam realizados, a fim de se confirmar e assegurar esses achados. Ainda, é necessário ressaltar que no presente estudo foram utilizados

animais saudáveis e sem comprometimento sistêmico, fatores que poderiam influenciar nos processos inflamatório e de reparo, como demonstrado anteriormente (Cintra et al. 2017, 2021).

7 CONCLUSÃO

A utilização de fitas clareadoras à base de Peróxido de Carbamida e Ditionito de sódio influenciou no processo inflamatório do tecido pulpar de forma discreta, assim como na expressão de fibras colágenas imaturas.

REFERÊNCIAS

Abrahão IJ, Martins MD, Katayama E, Antoniazzi JH, Segmentilli A, Marques MM (2006) Collagen analysis in human tooth germ papillae. *Brazilian Dental Journal* 17, 208-12.

Agostinho FLF, Guimarães RP, Silva CHV. Alterations in microstructure in enamel after bleaching. *Int J Dent* 2003 2(2):273-8.

Aidar KMS, Cintra LTA, Ferreira MCB, Fagundes TC, Esteves LMB, Goto J, Catelan A, Briso ALF. Comparative Analysis Between Strip and Gels Indicated for at Home Bleaching: Analysis of Color Alteration, Roughness and Microhardness of Dental Enamel. *J Esthet Restor Dent*. 2025 Jan 17. doi: 10.1111/jerd.13412. Epub ahead of print. PMID: 39822083.

Almeida LC, Soares DG, Gallinari MO, de Souza Costa CA, Dos Santos PH, Briso AL. Color alteration, hydrogen peroxide diffusion, and cytotoxicity caused by in-office bleaching protocols. *Clin Oral Investig* 2015; 19:673-80

Babot-Marquillas C, Sánchez-Martín MJ, Amigo JM, Yousef I, H Valido I, Boada R, Valiente M. (2022) Tooth whitening effects on dental enamel, oxidation or reduction? Comparison of physicochemical alterations in bovine enamel using Synchrotron-based Micro-FTIR. *Dental Materials*. 38(4):670-679

Babot-Marquillas C, Sánchez-Martín MJ, Rodríguez-Martínez J, Estelrich J, Busquets MA, Valiente M.(2020) Flash tooth whitening: A friendly formulation based on a nanoencapsulated reductant. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 195:111241.

Basheer RR, Abouelmagd DM, Alnefaie A, Baamer R. (2023) Effect of At-Home Versus Over-the-Counter Bleaching Agents on Enamel Color, Roughness, and Color Stability. *Cureus*. 15(5):e39036

Benetti AR, Valera MC, Mancini MN, Miranda CB, Balducci I. *In vitro* penetration of bleaching agents into the pulp chamber. *Int Endod J*. 2004;37:120-4.

Benetti F, Gomes-Filho JE, Ferreira LL, Ervolino E, Briso AL, Sivieri-Araújo G, Cintra LTA. Hydrogen peroxide induces cell proliferation and apoptosis in pulp of rats after dental bleaching in vivo. *Arch Oral Biol*, 2017 Sep;81:103-109.

Benetti F, Briso ALF, Ferreira LL, Carminatti M, Álamo L, Ervolino E, Dezan-Júnior E, Cintra LTA (2018) In vivo study of the action of a topical anti-inflammatory drug in rat teeth submitted to dental bleaching. *Braz Dent J* 29:555–561

Buchalla W, Attin T. External bleaching therapy with activation by heat, light or laser-a systematic review. *Dental Materials*. 2007; 23, 586–96

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;33:455–9

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.

Carrasco-Guerisoli LD, Schiavoni RJ, Barroso JM, Guerisoli DM, Pécora JD, FrönerlC. Effect of different bleaching systems on the ultrastructure of bovine dentin. *Dent Traumatol*. 2009;25(2):176-80.

Cintra LTA, Benetti F, Facundo ACS, Ferreira LL, Gomes-Filho JE, Ervolino E, Rahal V, Briso ALF. The number of bleaching sessions influences pulp tissue damage in rat teeth. *J Endod* 2013; 39(12):1576-80.

Cintra LT, Benetti F, Ferreira LL, Gomes-Filho JE, Ervolino E, Gallinari Mde O, Rahal V, Briso AL. Penetration Capacity, Color Alteration and Biological Response of Two In-office Bleaching Protocols. *Braz Dent J*. 2016a Apr;27(2):169-75.

Cintra LT, Benetti F, Ferreira LL, Rahal V, Ervolino E, Jacinto Rde C, Gomes Filho JE, Briso AL. Evaluation of an experimental rat model for comparative studies of bleaching agents. *J Appl Oral Sci*. 2016b Jan-Feb;24(1):95-104

Cintra LT, Ferreira LL, Benetti F, et al. The effect of dental bleaching on pulpal tissue response in a diabetic animal model. *Int Endod J* 2017;50:790-8.

Cintra LTA, Gomes MS, da Silva CC, Faria FD, Benetti F, Cosme-Silva L, Samuel RO, Pinheiro TN, Estrela C, González AC, Segura-Egea JJ. Evolution of endodontic

medicine: a critical narrative review of the interrelationship between endodontics and systemic pathological conditions. *Odontology*. 2021 Oct;109(4):741-769.

Cua J, Crespo E, Phelps S, Ramirez R, Roque-Torres G, Oyoyo U & Kwon SR (2022). Tooth Color Change and Erosion: Hydrogen Peroxide Versus Non-peroxide Whitening Strips. *Operative Dentistry*, 47(3), 301–308.

da Rosa G, Maran BM, Schmitt VL, Loguercio AD, Reis A & Naufel FS (2020). Effectiveness of Whitening Strips Use Compared With Supervised Dental Bleaching: A Systematic Review and Meta-analysis. *Operative Dentistry*, 45(6), E289–E307.

de Almeida LC, Soares DG, Azevedo FA, Gallinari Mde O, Costa CA, dos Santos PH, Briso AL. At-Home Bleaching: Color Alteration, Hydrogen Peroxide Diffusion and Cytotoxicity. *Braz Dent J*. 2015 Jul-Aug;26(4):378-83.

de Carvalho AC, de Souza TF, Liporoni PC, Pizi EC, Matuda LA, Catelan A. Effect of bleaching agents on hardness, surface roughness and color parameters of dental enamel. *J Clin Exp Dent*. 2020 Jul 1;12(7):e670-e675.

de Carvalho LM, & Schwedt G.(2005). Sulfur speciation by capillary zone electrophoresis. Determination of dithionite and its decomposition products sulfite, sulfate and thiosulfate in commercial bleaching agents. *Journal of Chromatography*. 1099(1-2), 185–190.

Demarco, F. F., Gluszevicz, A. C., Marins Mendes, M. L., Nascimento, M. M. C. do, Cabreira, N. S., & Barbieri, V. C. (2016). Produtos de autocuidado para clareamento dental. *Revista Da Faculdade De Odontologia - UPF*, 21(1).

Demarco FF, Meireles SS, Masotti AS. (2009) Over-the-counter whitening agents: A concise review. *Brazilian Oral Research*. 23(1):64-70.

Ferreira LL, Gomes-Filho JE, Benetti F, Carminatti M, Ervolino E, Briso ALF, Cintra The effect of dental bleaching on pulpal tissue response in a diabetic animal model: Immunoregulatory cytokines study. *Int Endod J*. 2018 Mar;51(3):347-356.

Garcia JMQ, Martins MD, Jaeger RG, Marques MM (2003) Immunolocalization of bone extracellular matrix proteins (type I collagen, osteonectin and bone sialoprotein) in human dental pulp and cultured pulp cells. *International Endodontic Journal* 36, 404-10.

Gerlach RW & Zhou X. (2001) Vital bleaching with whitening strips: summary of clinical research on effectiveness and tolerability. *J Contemp Dent Pract.* 2(3):1-16

Gerlach RW, Barker ML, Karpinia K, et al. Single site meta-analysis of 6% hydrogen peroxide whitening strip effectiveness and safety over 2 weeks. *J. Dent.* 2009; 37 (5): 360-5.

Goto, J. Influência da diabetes mellitus no processo inflamatório, regenerativo e na degradação de matriz extracelular do tecido pulpar de ratos submetidos a clareação. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". São Paulo, p. 26. 2023.

Hanks CT, Fat JC, Wataha JC, Corcoran JF. Cytotoxicity and dentin permeability of carbamide peroxide and hydrogen peroxide vital bleaching materials, in vitro. *J Dent Res.* 1993;72:931–938

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 Investig* 2011 Dec;15(6):863-8.

Hasson H, Ismail AI, Neiva G. Home-based chemically-induced whitening of teeth in adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 2006 Oct 18;(4):CD006202

Junqueira LC, Montes GS, Sanchez EM (1982) The influence of tissue section thickness on the study of collagen by the picosirius-polarization method. *Histochemistry* 74, 153-6.

Kim YS, Min KS, Jeong DH, Jang JH, Kim HW, Kim EC (2010) Effects of fibroblast growth factor-2 on the expression and regulation of chemokines in human dental pulp cells. *Journal of Endodontics* 36, 1824-30.

Linde A. Session II: cells and extracellular matrices of dental pulp. The extracellular matrix of dental pulp and dentin. *J Dent Res.* 1985;64(3):523-9.

Luque-Martinez I, Reis A, Schroeder M, Muñoz MA, Loguercio AD, Masterson D, Maia LC. Comparison of efficacy of tray-delivered carbamide and hydrogen peroxide for at-home bleaching: a systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Investig.* 2016 Sep;20(7):1419-33.

Lyndsie Selwyn & Season Tse (2008) A química do ditionito de sódio e seu uso na conservação, *Studies in Conservation*, 53:sup2, 61-73.

Machado L, Anchieta R, dos Santos P, Briso A, Tovar N, Janal M, Sundfeld R. Clinical Comparison of At-Home and In-Office Dental Bleaching Procedures: A Randomized Trial of a Split-Mouth Design. *Int J Period Restor Dent* 2016;36(2):251–260.

Maistro, MC. Comportamento e aplicação do redutor, hidrossulfito ou ditionito de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$) em branqueamento de pasta kraft de madeira de eucalipto. Dissertação de mestrado. UNICAMP. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba. 108p.2000

Marquillas CB, Procaccini R, Malmagro MV et al. (2020) Breaking the rules: tooth whitening by means of a reducing agent. *Clin Oral Invest* 24, 2773–2779

Matsui S, Takahashi C, Tsujimoto Y, Matsushima K. Stimulatory effects of low-concentration reactive oxygen species on calcification ability of human dental pulp cells. *J Endod* 2009;35:67-72.

Naidu AS, Bennani V, Brunton JMAP & Brunton P. (2020). Over-the-Counter Tooth Whitening Agents: A Review of Literature. *Brazilian Dental Journal*, 31(3), 221–235.

Nathanson D. Vital tooth bleaching: sensitivity and pulpal considerations. *JADA*. 1997;128:41S–44

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;38:386–393.

Pereira T, Dodal S, Tamgadge A (2014) Analysis of collagen fibers in human dental pulp using picrosirius red stain and polarized microscopy. *Journal of Pierre Fauchard Academy (India Section)* 28, 73-7.

Sato C, Rodrigues FA, Garcia DM et al. Tooth bleaching increases dentinal protease activity. *J Dent Res* 2013;92:187–92.

Schulte, JR, Morrisette, DB, Gasior, EJ, and Czajewski, MV. The effects of bleaching application time on the dental pulp. *JADA*. 1994; 125: 1330–1335.

Segura-Egea JJ, Cabanillas-Balsera D, Martín-González J, Cintra LTA. Impact of systemic health on treatment outcomes in endodontics. *Int Endod J*. 2022 Jun 26. doi: 10.1111/iej.13789. Epub ahead of print. PMID: 35752972.

Silva RR, De Carli JP, Collares K, Vanini J, Presotto JS, Vargas JE, Loguercio AD, Benetti P. Influence of smoking on oral cells genotoxicity after at-home bleaching using 22% carbamide peroxide: a cohort study. *Clin Oral Investig*. 2022 Feb;26(2):1409-1416.

Sulieman M, MacDonald E, Rees JS, Newcombe RG, Addy M. (2006) Tooth bleaching by different concentrations of carbamide peroxide and hydrogen peroxide whitening strips: an in vitro study. *J Esthet Restor Dent*. 18(2):93-100.

Tin-Oo MM, Saddki N, Hassan N. Factors influencing patient satisfaction with dental appearance and treatments they desire to improve aesthetics. *BMC Oral Health* 2011.

Toledano M, Yamauti M, Osorio E, Osorio R. Bleaching agents increase metalloproteinases-mediated collagen degradation in dentin. *J Endod* 2011;37:1668–72.

Vaz MM, Lopes LG, Cardoso PC, Souza JB, Batista AC, Costa NL, Torres ÉM, Estrela C. Inflammatory response of human dental pulp to at-home and in-office tooth bleaching. *J Appl Oral Sci*. 2016 Sep-Oct;24(5):509-517.

Yu X, Xiang L, Yang S, Qu S, Zeng X, Zhou Y & Yang R. (2021). A near-infrared fluorogenic probe with fast response for detecting sodium dithionite in living cells. *Spectrochimica acta. Part A, Molecular and biomolecular spectroscopy*, 245, 118887.

ANEXO A



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"



CAMPUS ARAÇATUBA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais
CEUA - Ethics Committee on the Use of Animals

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto de Pesquisa intitulado **"Resposta do tecido pulpar a novos agentes clareadores: estudo em ratos Wistar"**, Processo FOA nº 498-2023, sob responsabilidade de Luciano Tavares Ângelo Cintra apresenta um protocolo experimental de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal e sua execução foi aprovada pela CEUA em 23 de Maio de 2023.

VALIDADE DESTE CERTIFICADO: 30 de Junho de 2025.

DATA DA SUBMISSÃO DO RELATÓRIO FINAL: até 30 de Julho de 2025.

CERTIFICATE

We certify that the study entitled **"Pulp tissue response to new bleaching agents: study in Wistar rats"**, Protocol FOA nº 498-2023, under the supervision of Luciano Tavares Ângelo Cintra presents an experimental protocol in accordance with the Ethical Principles of Animal Experimentation and its implementation was approved by CEUA on May 23, 2023.

VALIDITY OF THIS CERTIFICATE: June 30, 2025.

DATE OF SUBMISSION OF THE FINAL REPORT: July 30, 2025.

Prof. Dr. Fellippo Ramos Verri
Coordenador da CEUA
CEUA Coordinator

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Odontologia de Araçatuba

Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba

Rua José Bonifácio, 1193 – Vila Mendonça - CEP: 16015-050 – ARAÇATUBA – SP

Fone (18) 3636-3234

Email CEUA: ceua.foa@unesp.br

