

RESSALVA

Atendendo solicitação do autor, o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 19/08/2026.



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



Rafael Antonio de Oliveira Ribeiro

**Desenvolvimento de estratégias inovadoras para clareamento dental de consultório:
eficácia estética e biocompatibilidade associadas à redução do tempo clínico**

Araraquara

2024



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



Rafael Antonio de Oliveira Ribeiro

**Desenvolvimento de estratégias inovadoras para clareamento dental de consultório:
eficácia estética e biocompatibilidade associadas à redução do tempo clínico**

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia, Araraquara para obtenção do título de Doutor em Odontologia, na Área de Reabilitação Oral

Orientador: Dr. Carlos Alberto de Souza Costa

Araraquara

2024

R484d

Ribeiro, Rafael Antonio de Oliveira

Desenvolvimento de estratégias inovadoras para clareamento dental de consultório : eficácia estética e biocompatibilidade associadas à redução do tempo clínico / Rafael Antonio de Oliveira Ribeiro. -- , 2024

97 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia, Araraquara,

Orientador: Carlos Alberto de Souza Costa

1. Clareamento dental. 2. Estética. 3. Toxicidade. 4. Polpa dentária.
I. Título.

Rafael Antonio de Oliveira Ribeiro

**Desenvolvimento de estratégias inovadoras para clareamento dental de consultório:
eficácia estética e biocompatibilidade associadas à redução do tempo clínico**

Tese para obtenção do grau de Doutor em Odontologia

Comissão Julgadora

Presidente e Orientador: Dr. Carlos Alberto de Souza Costa

2o Examinadora: Profa. Dra. Vanessa Cavalli Gobbo

3o Examinador: Profa. Dra. Ester Alves Ferreira Bordini

4o Examinador: Prof Dr. Gelson Luis Adabo

Araraquara, 19 de agosto de 2024

DADOS CURRICULARES

Rafael Antonio De Oliveira Ribeiro

NASCIMENTO **03.11.1994**

FILIAÇÃO **Severino Antonio Sobrinho**
 Nelma Maria de Oliveira Ribeiro

2013-2017 **Graduação em Odontologia pela Universidade Federal de Pernambuco – UFPE**

2018-2020 **Pós-graduação – Mestrado pelo Programa de Reabilitação Oral da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP.**

2020-2024 **Pós-graduação – Doutorado pelo Programa de Odontologia da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP.**

Quantas mãos são necessárias para escrever uma tese?

Esta tese recebe meu nome, encerra mais um ciclo da minha jornada acadêmica e me dá o título de doutor. Contudo, este é mais um título individual que conta uma história coletiva. O que seria de mim sem o apoio de todos que me ajudaram até aqui? O que sou sem as histórias que me inspiraram e me fizeram chegar até aqui? O que sou eu, enquanto pedra bruta, sem as mãos que me lapidaram para chegar até este ponto?

Por isso, deixo aqui meus agradecimentos. Aos meus pais, Nelma Maria e Severino Antonio, que me ensinaram o significado de casa e são as raízes que sustentam minha árvore, mesmo diante da maior tempestade. Sem vocês, nada disso seria possível. Por vocês, meu amor eterno. À generosidade do meu irmão, Rodrigo César, e de sua esposa, Camylla Estevam, o amor de vocês é fonte de inspiração. Vocês me deram a possibilidade de ser tio; este trabalho também é dedicado a Maria Luiza Estevam Ribeiro. Ao inabalável e admirável Professor Carlos Alberto de Souza Costa, meu orientador, suas mãos moldaram este trabalho e me moldaram ao longo da pós-graduação. Ter sido seu orientado é um presente. Aos meus familiares e amigos, o apoio de vocês foi fundamental para que eu pudesse chegar até aqui. Aos meus guias e mestres, que sussurraram em meu ouvido que, das minhas mãos, tudo era capaz de brotar e florir, o fruto deste trabalho também é de vocês. Um agradecimento especial à Marina de Oliveira Ribeiro, minha avó e uma das maiores professoras que tive. Seus olhos não puderam enxergar minha trajetória até aqui, e o Alzheimer te fez perder as palavras. Todas as palavras que estão aqui são suas. Eu vivo na esperança de te reencontrar.

Este trabalho também é dedicado a todas as pessoas que precisaram adiar seus sonhos por falta de acesso à educação. Saibam que o esforço pode até contar, mas é a oportunidade que define. O que diferencia minha jornada acadêmica da delas é a oportunidade. Que este trabalho possa ser uma homenagem a essas vozes, na esperança de um futuro em que suas vidas possam ser transformadas através da educação.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À Professora **Josimeri Hebling**, a qual contribuiu de maneira muito significativa para a completa realização deste trabalho, através de seu conhecimento e suas ideias, as quais foram transmitidas com todo carisma e carinho. Muito obrigado!

Aos Professores **Hilcia Mezzalira** e **Alexandre Nascimento**, agradeço por despertarem o meu desejo pelo mundo acadêmico, por todos os conhecimentos passados e por todo apoio durante a fase de seleção. Vocês foram fundamentais para meu crescimento. Muito obrigado!

À família que eu construí em Araraquara, **Caroline Anselmi, Igor Soares, Juliana Rios, Victória Peruchi, Filipe Koon, Maria Luiza, Lúdia Fernandes, Vinicius Krieger, Luana Dias, Larissa Félix, Camila Cavaça, Letícia Melo** por todos os momentos vividos, pelas conversas e por toda ajuda ao longo do desenvolvimento deste trabalho. Obrigado pela convivência e por todo amor ao longo desse tempo.

Aos meus amigos de longa data **Aída Cecília, Rhyan Marques e Thamyres Alves**, mesmo que distante foram um ponto de apoio ao longo de todo tempo. Muito obrigado pelos conselhos e pelo crescimento proporcionado. Amo vocês!

Aos alunos de iniciação científica que me acompanharam ao longo do desenvolvimento do trabalho e que me ajudaram de forma imensurável **Matheus Bolonhezi, Leonardo Sônego, Alex Pereira, Felipe Sales, Adrielly Moraes, Stephanie Lissa**.

As amigas **Maria Luiza, Lays Nóbrega e Uxua Ortecho**; vocês foram como irmãs, me ajudaram durante os momentos que eu mais precisei, agradeço a oportunidade maravilhosa que foi conviver com vocês no início da minha caminhada.

Aos Professores **Gelson Adabo, André Briso e Vanessa Cavalli** pelas incontáveis vezes que leram e contribuíram com o meu trabalho, vocês são fonte de inspiração.

À família **Ribeiro e Cabral**, com todos os tios(as), primos(as) que sempre foram meu alicerce e meu motivo para persistir. Vocês foram e são essenciais em todas as minhas conquistas.

A minha família espiritual do **Templo Escola de Umbanda Luz do Arco Íris**, por todo apoio emocional durante a trajetória do doutorado e por ser um porto seguro para meu desenvolvimento pessoal e espiritual.

AGRADECIMENTOS

À **Faculdade de Odontologia de Araraquara** (FOAr-UNESP), representada pela Diretora Profa. Dra. Patrícia Petromilli Nordi Sasso Garcia e pela Vice-Diretora Profa. Dra. Elaine Pereira da Silva Tagliaferro, que através de todos seus funcionários e professores, possibilitaram a conclusão desta etapa em minha vida.

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

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

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

À **FAPESP** – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (processo nº 2021/01184-4) pelo apoio financeiro para a realização desta pesquisa.

“Vou aprender a ler pra ensinar meus camaradas.”

Joao Roberto Caribe Mendes e Capinan*

* Yá Yá Massemba. Intérprete: Maria Bethânia. Compositores: Joao Roberto Caribe Mendes e Capinan. In: BRASILEIRINHO. Intérprete: Maria Bethânia. Rio de Janeiro: Biscoito Fino, 2002. CD, faixa 2 (4 min16 s).

Ribeiro RAO. Desenvolvimento de estratégias inovadoras para clareamento dental de consultório: eficácia estética e biocompatibilidade associadas à redução do tempo clínico [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2024.

RESUMO

Apesar do excelente resultado estético obtido com o clareamento dental de consultório, o qual utiliza géis clareadores com elevadas concentrações de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), esta terapia profissional pode resultar em danos pulpare irreversíveis e sensibilidade pós-tratamento. Assim, alguns novos protocolos, baseados na redução da concentração de H_2O_2 nos géis e/ou do tempo de aplicação deles sobre os dentes, têm sido propostos. Entretanto, foi demonstrado que esses novos protocolos afetam negativamente o resultado estético do procedimento ou requerem a aplicação de diversas sessões clareadoras, o que inviabiliza sua implementação clínica. Diante destes fatos, torna-se necessário desenvolver estratégias de clareamento profissional que sejam rápidas e que favoreçam o resultado estético, sem agredir a polpa e causar desconforto para os pacientes. Desta forma, o objetivo geral deste estudo foi utilizar os conhecimentos de engenharia de biomateriais e processos oxidativos avançados (POA), para desenvolver biomateriais poliméricos catalisadores a serem usados para recobrir o esmalte dentário previamente à aplicação do gel clareador, o qual desse ver irradiado (fotocatálise) com LED violeta (LEDv). Num primeiro momento (Publicação 1 do projeto), foi avaliada a possível influência de diferentes moléculas coloridas (cromóforos) sobre a difusão trans-amelodentinária de H_2O_2 liberado dos géis clareadores e seus efeitos citotóxicos. Foi observado que os diferentes cromóforos presentes no esmalte/dentina não interferem na citotoxicidade da terapia clareadora, independentemente do tipo de solução de manchamento utilizada (café, chá, vinho ou o blend das soluções). Na sequência (Publicação 2 do projeto), foi observado que apesar da irradiação do gel clareador de consultório com LEDv aumentar a eficácia clareadora, este procedimento de fotocatalise não previne ou reduz a citotoxicidade comumente causada por esta modalidade de terapia profissional. Foi determinado ainda, que ampliar o tempo de irradiação do gel não aumenta a eficácia clareadora e nem reduz a citotoxicidade do tratamento. Com base nos conhecimentos adquiridos até então, foi possível executar a Publicação 3 do projeto, onde um scaffold nanofibrilar (SN) e um primer polimérico catalisador (PPC) foram desenvolvidos. Esses biomateriais catalisadores foram usados para revestir o esmalte dentário antes da aplicação do gel clareador, o qual foi irradiado ou não com LEDv. Foi observado que o uso combinado de SN+PPC+LEDv aumenta a eficácia estética do clareamento convencional de consultório, de tal forma que o resultado esperado pode ser alcançado num tempo mais curto e sem causar intensos efeitos citotóxicos para células pulpare. Na Publicação 4 do projeto, foi determinado que a estratégia de irradiar (LEDv) um gel clareador de consultório, aplicado por apenas 15 minutos sobre o esmalte previamente recoberto com SN+PPC, causa apenas discreto estresse oxidativo sobre células pulpare. Assim, esta inovadora estratégia clareadora, a qual é baseada na catálise química/fotocatálise do H_2O_2 , além de acelerar o resultado estético, também causa limitado efeito tóxico sobre células da polpa, as quais exibem baixa expressão de mediadores inflamatórios e elevada expressão de marcadores para mineralização.

Palavras-chave: Clareamento dental. Estética. Toxicidade. Polpa dentária.

Ribeiro RAO. Development of an innovative strategy for in-office tooth bleaching: aesthetic effectivity and biocompatibility associated with reduced clinical time [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2024.

ABSTRACT

Despite the excellent aesthetic results obtained with in-office dental whitening, which uses whitening gels with high concentrations of hydrogen peroxide (H_2O_2), this professional therapy can result in irreversible pulp damage and post-treatment sensitivity. Therefore, some new protocols, based on reducing the concentration of H_2O_2 in the gels and/or the application time on the teeth, have been proposed. However, it has been demonstrated that these new protocols negatively affect the aesthetic outcome of the procedure or require the application of multiple whitening sessions, making their clinical implementation unfeasible. In light of these facts, it is necessary to develop professional whitening strategies that are quick and favor the aesthetic result without harming the pulp and causing discomfort to the patients. Thus, the overall objective of this study was to utilize the knowledge of biomaterials engineering and advanced oxidative processes (AOP) to develop catalytic polymeric biomaterials to be used to coat the dental enamel prior to the application of the whitening gel, which would then be irradiated (photocatalysis) with violet LED (LEDv). Initially (Phase 1 of the project), the possible influence of different colored molecules (chromophores) on the trans-enamel-dentin diffusion of H_2O_2 released from the whitening gels and their cytotoxic effects was evaluated. It was observed that the different chromophores present in the enamel/dentin do not interfere with the cytotoxicity of the whitening therapy, regardless of the type of staining solution used (coffee, tea, wine, or a blend of the solutions). Subsequently (Phase 2 of the project), it was observed that although the irradiation of the in-office whitening gel with LEDv increases the whitening efficacy, this photocatalysis procedure does not prevent or reduce the cytotoxicity commonly caused by this type of professional therapy. It was also determined that increasing the irradiation time of the gel does not enhance the whitening efficacy nor reduce the cytotoxicity of the treatment. Based on the knowledge acquired so far, it was possible to execute Phase 3 of the project, where a nanofibrillar scaffold (NS) and a catalytic polymeric primer (CPP) were developed. These catalytic biomaterials were used to coat the dental enamel before applying the whitening gel, which was then irradiated or not with LEDv. It was observed that the combined use of NS+CPP+LEDv increases the aesthetic efficacy of conventional in-office whitening, so the expected result can be achieved in a shorter time without causing intense cytotoxic effects on pulp cells. In Phase 4 of the project, it was determined that the strategy of irradiating (LEDv) a whitening gel applied for only 15 minutes on the enamel previously coated with NS+CPP causes only slight oxidative stress on pulp cells. Therefore, this innovative whitening strategy, which is based on the chemical catalysis/photocatalysis of H_2O_2 , not only accelerates the aesthetic result but also causes limited toxic effects on pulp cells, which exhibit low expression of inflammatory mediators and high expression of markers for mineralization.

Keywords: Tooth bleaching. Esthetics. Toxicity. Dental pulp.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	16
3 PUBLICAÇÕES.....	17
3.1 Publicação 1	17
3.2 Publicação 2	32
3.3 Publicação 3	47
3.4 Publicação 4	64
4 INTER-RELAÇÃO ENTRE AS PUBLICAÇÕES.	81
5 CONCLUSÕES.....	84
REFERÊNCIAS	85
APÊNDICE	89

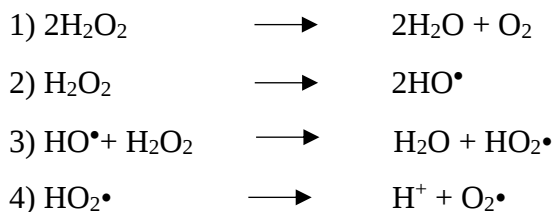
1 INTRODUÇÃO

Apesar do excelente resultado estético imediato obtido pela técnica de clareamento de consultório^{1,2}, esta modalidade de terapia tem sido questionada do ponto de vista biológico³⁻⁵. Sabe-se que géis clareadores contendo entre 30%-40% de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) na sua composição, os quais são amplamente usados na prática clínica^{6,7}, causam intenso efeito tóxico sobre células da polpa dental. Esses danos celulares são decorrentes da capacidade do H_2O_2 não reagido com as moléculas coloridas (cromóforos) presentes no dente, denominado de free- H_2O_2 , se difundir pela estrutura dental e alcançar a câmara pulpar. Quando em contato com células pulpares, elevadas concentrações de free- H_2O_2 causam intenso estresse oxidativo celular, o que resulta em peroxidação lipídica e a consequente ruptura de membranas⁸⁻¹⁰. Dependendo da espessura do esmalte e dentina, o H_2O_2 pode alcançar a polpa em concentrações suficientes para causar necrose parcial da polpa coronária, associada a inflamação e intensa deposição de dentina reacional na polpa radicular¹¹. Estes efeitos colaterais, o quais são resultantes do clareamento convencional comumente realizado em consultório, parecem estar diretamente relacionados com a ocorrência de sensibilidade dentária pós-tratamento^{6,11,12}. Vários pesquisadores demonstraram que a toxicidade celular e a efetividade estética dos protocolos atuais de clareamento dental de consultório dependem diretamente da concentração de H_2O_2 presente no gel clareador e do seu tempo de aplicação sobre o esmalte^{4,8-10,13}. Dessa maneira, alguns estudos foram realizados há alguns anos com a proposta de avaliar novos protocolos de clareamento baseados na redução da concentração de H_2O_2 nos géis e do tempo de aplicação desses produtos sobre os dentes^{4,10}. Porém, nessas pesquisas os autores observaram que os protocolos testados comprometiam o resultado estético final do procedimento, sendo que várias sessões eram necessárias para alcançar eficácia clareadora semelhante àquela já estabelecida para a terapia convencional de consultório. Diante deste fato, os protocolos clareadores testados naquele momento passaram a ser considerados como clinicamente inviáveis.

O clareamento dental caseiro, no qual géis de peróxido de carbamida (PCarb) em baixas concentrações (entre 10 e 22%) são aplicados sobre os dentes^{14,15}, parece ser uma interessante opção de terapia estética, pois pode prevenir, ou pelo menos minimizar, os efeitos colaterais causados pela técnica clareadora convencional de consultório tratamento^{6,11,12}. Quando em contato com o esmalte, os géis de PCarb liberam baixas concentrações de H_2O_2 (entre 3,0% e 7,0%), o que pode explicar o motivo desta modalidade de terapia apresentar baixos índices de sensibilidade dentária nos paciente¹⁵. Para realizar o clareamento dental caseiro, moldeiras

individuais são carregadas com gel de PCarb e então posicionadas pelos próprios pacientes nas arcadas dentárias, onde permanecem pelo período de aproximadamente 2-3 horas/dia¹⁵. Este tipo de terapia clareadora, a qual deve ser executada pelos pacientes, porém sob supervisão profissional, requer longos períodos (entre 6 e 28 dias) para se obter resultados estéticos satisfatórios¹⁵. Embora o PCarb apresente menor risco para a polpa dentária, a modalidade de clareamento caseiro se tornou preocupante, pois os produtos podem ser usados incorretamente pelos pacientes, o que pode resultar em deglutição excessiva do gel e riscos biológicos diretos para os tecidos dentais e periodontais^{16,17}. Outro fator negativo do clareamento caseiro tem sido considerado o longo tempo despendido para se obter resultado estético semelhante àquele alcançado rapidamente com o clareamento de consultório¹⁸. Diante das desvantagens das técnicas de clareamento dental caseiro e da possibilidade de danos pulpares irreversíveis e sensibilidade dental causados pelos diferentes protocolos de clareamento de consultório, diversos pesquisadores passaram a avaliar, baseados na compreensão do comportamento cinético do H_2O_2 , a adição de enzimas e óxidos metálicos catalisadores na composição de géis clareadores experimentais e de consultório^{19,20}. Os objetivos principais desses pesquisadores têm sido catalisar o H_2O_2 presente nos géis, gerando moléculas altamente reativas capazes de acelerar o clareamento dental, eliminando, ou pelo menos reduzindo, ao mesmo tempo, os efeitos tóxicos causados pela terapia clareadora convencional de consultório²⁰.

Esta nova proposta de clareamento profissional baseia-se no fato de que o H_2O_2 é uma espécie reativa derivada do oxigênio (ERO) que pode se dissociar em diferentes moléculas de acordo com as condições do ambiente onde a reação se desenvolve, seja em meio aquoso ou quando em contato com substrato orgânico^{4,10}. Além disso, a velocidade de reação e os subprodutos gerados a partir da decomposição do H_2O_2 podem ser alterados quando em contato com enzimas oxidantes^{21,22}. A reação de decomposição enzimática do H_2O_2 pode gerar oxigênio (O_2) e água (H_2O)²³, bem como radicais livres e outras EROs altamente reativas, como radicais hidroxila ($\text{HO}^\bullet$), peri-hidroxila ($\text{HO}_2^\bullet$) e superóxido ($\text{O}_2^\bullet$), tal como demonstrado a seguir^{24,25}:



Dentre as diversas EROs conhecidas, o $\text{HO}^\bullet$ é aquela que apresenta o maior potencial reativo com substratos orgânicos, o que parece proporcionar uma rápida fragmentação dos

cromóforos presentes nos tecidos duros dos dentes escurecidos^{16,26,27}. Por serem consideradas moléculas de natureza simples, as EROs derivadas de H_2O_2 apresentam curto tempo de meia-vida, o que faz com que sejam rapidamente eliminadas do meio^{4,10}. Dentre as EROs geradas à partir da degradação do H_2O_2 , o $\text{HO}^\bullet$ é aquela que apresenta o menor tempo de meia-vida (10^{-9} seg) e o maior potencial de oxidação ($E_o = +2,8\text{V}$)²⁴. Assim, considerando todos esses dados científicos, foi possível estabelecer a hipótese de que quanto maior a degradação do H_2O_2 presente nos géis clareadores, mais moléculas altamente reativas são geradas, o que pode fazer com que o clareamento ocorra mais rapidamente. A degradação do H_2O_2 também pode diminuir a quantidade de free- H_2O_2 no esmalte e dentina, limitando a chegada de elevada quantidade desta molécula tóxica na polpa. Como as EROs e radicais livres gerados pela degradação do H_2O_2 tem reduzido tempo de meia-vida, estas moléculas podem ser rapidamente decompostas logo após interagirem com os cromóforos e outros componentes orgânicos presentes na dentina, o que seria importante para tornar o clareamento dentário de consultório uma terapia mais segura e biocompatível com o complexo dentina-polpa.

Recentemente, Ortecho-Zuta et al.¹⁹ demonstraram que a adição de 10 mg/mL da enzima peroxidase hêmica (HRP) ao gel clareador com 35% de H_2O_2 reduz significativamente a citotoxicidade trans-amelodentinária do produto. Nesse estudo, a presença da HRP no gel fez com que a viabilidade celular fosse cerca de 34% maior quando comparada ao gel que não recebeu a adição da enzima. Além disso, os autores observaram que o gel contendo HRP aumentou em aproximadamente 24% a eficácia estética após a 1ª sessão de clareamento. Consequentemente, o fato da catálise enzimática do H_2O_2 resultar na formação de EROs e radicais livres mais potentes e com menor tempo de meia-vida em comparação ao próprio H_2O_2 , pode direcionar o desenvolvimento de terapias clareadoras mais rápidas e biologicamente seguras para os pacientes^{20,28,29}. Porém, apesar dos efeitos positivos sobre a eficácia clareadora e redução da toxicidade celular, observados quando um agente catalizador foi adicionado ao gel clareador de consultório, esse último benefício foi limitado, visto que as células pulpares ainda se apresentaram sensíveis ao estresse oxidativo mediado pelo free- H_2O_2 ¹⁹. Assim, talvez outras estratégias para catalisar o H_2O_2 , tal como o recobrimento do esmalte com uma fita semi-permeável orgânica associada a um primer contendo algum agente catalizador químico, previamente à aplicação do gel clareador, possam direcionar protocolos ainda mais seguros para o clareamento de consultório. Porém, seria importante que polímeros com estrutura física e componentes orgânicos específicos fossem usados na confecção da fita, de tal forma que este novo biomaterial pudesse gerar, a partir da decomposição do H_2O_2 , moléculas altamente reativas, limitando a difusão trans-amelodentinária de free- H_2O_2 .

As indústrias farmacêutica e química têm utilizado diversos polímeros orgânicos para formular biomateriais empregados no campo da engenharia tecidual (Santoro et al., 2016). Dentre estes polímeros, destaca-se a poli-caprolactona (PCL), a qual é biocompatível, biodegradável e atóxica³⁰⁻³². A partir de uma solução à base de PCL, podem ser desenvolvidas, por meio da técnica de electrospinning, fitas poliméricas compostas por fibras com diâmetro em escala que varia de nano a micrométrica¹⁹. Ainda, empregando parâmetros específicos proporcionados por essa técnica laboratorial, é possível controlar a morfologia e os espaços interfibrilares, obtendo dessa forma a porosidade desejada do biomaterial, de acordo com sua finalidade de aplicação clínica^{32,33}. Assim, PCL parece ser um polímero orgânico adequado para o desenvolvimento de fitas poliméricas a serem empregadas para revestir o esmalte dentário antes da aplicação de géis clareadores com elevada concentração de H_2O_2 . Para preparação do primer catalisador contendo a enzima HRP, poderá ser usado o hidroxipropil metilcelulose (HPMC), o qual além de ser um polímero atóxico, origina uma película resistente ao escoamento e que permite a incorporação de drogas, nanopartículas, peptídeos e proteínas. Avaliações preliminares realizadas no Laboratório de Patologia Experimental e Biomateriais (LPEB) da FOAr./UNESP, mostraram que dentre os diversos polímeros testados, o HPMC foi aquele que apresentou as melhores propriedades para ser usado na preparação de primers associados à enzimas catalizadoras. Assim, espera-se que o emprego desta estratégia, a qual é baseada no conhecimento de química orgânica aplicada à biotecnologia de materiais, reduza a quantidade de H_2O_2 capaz de alcançar a fita polimérica para interagir com seu componente orgânico. Desta forma, esta barreira protetora experimental, composta pelo primer catalisador e fita polimérica, pode fazer com que uma limitada quantidade de H_2O_2 alcance o esmalte e dentina. Considerando que as EROs e radicais livres gerados pela decomposição do H_2O_2 apresentam elevado potencial oxidativo e reduzido tempo de meia-vida, espera-se que o clareamento dental seja acelerado, sem causar danos significativos para as células pulpares. Porém, sabendo que a geração destas moléculas altamente reativas à partir da degradação de H_2O_2 também pode ser aumentada pela fotocatalise, parece interessante irradiar o gel clareador com um tipo e parâmetro específico de luz, imediatamente após sua aplicação sobre a barreira protetora.

Com base no fato de que a irradiação de géis clareadores pode ser considerada uma interessante estratégia para terapias clareadoras de consultório, pesquisadores passaram a avaliar diferentes fontes luminosas, como diodos emissores de luz (LED) azul, LED violeta, laser, luz halógena e outras^{6,34-36}. O uso de luz na terapia clareadora se fundamenta na capacidade de absorção de energia pelo gel clareador, o que produz calor e acelera a oxidação

do H_2O_2 , aumentando a liberação de EROs³⁷. Klaric, et al.³⁴ demonstraram que dentre as diversas as fontes de luz testadas, o LED violeta, o qual possui comprimento de onda de 405-410 nm, foi aquele que produziu os melhores resultados estéticos quando aplicado sobre géis clareadores. Sabe-se que a emissão de luz na faixa violeta coincide com o máximo de absorção das grandes moléculas orgânicas pigmentadas, o que resulta na sua fragmentação e a consequente geração de pequenas estruturas moleculares sem cor³⁵. Porém, por ser uma alternativa relativamente recente, estudos sobre a real eficácia clareadora da luz violeta, associada ou não a géis clareadores, bem como seus possíveis efeitos colaterais, vem sendo realizados nos últimos anos³⁸⁻⁴². Pesquisadores demonstraram que um gel clareador com 17,5% de H_2O_2 , aplicado por 45 minutos sobre o esmalte, teve sua eficácia estética aumentada quando catalisado com luz violeta^{39,40}. Do mesmo modo, ensaios clínicos mostraram que a irradiação do gel clareador com LED violeta favorece a eficácia estética da terapia^{40,42}. Apesar desta fonte de luz aumentar o limiar de detecção de alteração térmica nos dentes irradiados, não foi observado qualquer elevação na sensibilidade dentária pós-tratamento clareador com LED violeta⁴⁰. A despeito dos interessantes resultados já alcançados por meio do uso do LED violeta no clareamento dental, não há informações científicas robustas que determinem o emprego seguro desta tecnologia, associada ou não a géis clareadores com diferentes concentrações de H_2O_2 e aplicados por variados períodos sobre o esmalte dentário.

Levando em consideração os dados científicos apresentados até o momento e baseado no notável conhecimento adquirido na última década com o desenvolvimento de pesquisas inovadoras na área de alteração cromática dos tecidos dentários e seus possíveis efeitos adversos, o presente estudo foi desenvolvido. Inicialmente, foi proposto determinar a influência de moléculas coloridas (cromóforos) de diferentes origens, as quais causam o escurecimento dos dentes, sobre a difusão trans-amelodentinária de H_2O_2 . A partir da padronização da cor dos tecidos dentários com um mesmo cromóforo, foi avaliado se o tempo de irradiação de um gel clareador de consultório com LED violeta pode favorecer o resultado estético do procedimento e ao mesmo tempo reduzir sua citotoxicidade. Na sequência, com a intenção de acelerar a catálise do H_2O_2 , gerando moléculas com maior potencial para decompor cromóforos, o LED violeta foi usado em conjunto com um scaffold de nanofibras e um primer polimérico contendo 10 mg/mL da enzima peroxidase hêmica. Foi avaliado a capacidade desta combinação de estratégias de catálise do H_2O_2 em reduzir o tempo para alcançar excelente resultado estético e prevenir os efeitos citotóxicos característicos do clareamento convencional de consultório.

5 CONCLUSÕES

- O tipo de solução de manchamento utilizada não interfere na citotoxicidade de estudo de clareamento dental in vitro.
- A irradiação com o LED Violeta favorece a alteração de cor do esmalte/dentina, entretanto, o aumento do tempo de irradiação não melhora a eficácia estética e nem reduz a citotoxicidade trans-amelodentinária do clareamento dental de consultório.
- A estratégia de irradiar com o LED Violeta um gel clareador com 35% H_2O_2 , aplicado por apenas 15 minutos sobre o esmalte dentário previamente revestido com um scaffold de nanofibras e um primer polimérico catalisador, alcança a eficácia estética e reduz a citotoxicidade comumente causada pelo clareamento convencional de consultório.
- Além de tornar o procedimento clareador mais rápido e reduzir a citotoxicidade, a nova estratégia clareadora proposta exibe menor expressão de marcadores inflamatórios e regula positivamente a expressão de marcadores para mineralização avaliado em modelo de cultura 3D de células pulpares humanas.

REFERÊNCIAS*

1. Rodrigues JL, Rocha PS, Pardim SLS, Machado ACV, Faria-E-Silva AL, Seraidarian PI. Association between in-office and at-home tooth bleaching: a single blind randomized Clinical Trial. *Braz Dent J*. 2018; 29(2): 133-9.
2. Bersezio C, Martín J, Prieto MV, Meneses P, Angel P, Eduardo Fernández G, et al. One-year bleaching efficacy using two HP products with different pH: A double-blind randomized clinical trial. *J Esthet Restor Dent*. 2019; 31(5): 493-99.
3. De Lima AF, Lessa FC, Gasparoto Mancini MN, Hebling J, de Souza Costa CA, Marchi GM. Cytotoxic effects of different concentrations of a carbamide peroxide bleaching gel on odontoblast-like cells MDPC-23. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2009; 90(2): 907-12
4. Soares DG, Basso FG, Hebling J, de Souza Costa CA. Immediate and late analysis of dental pulp stem cells viability after indirect exposition to alternative in-office bleaching strategies. *Clin Oral Investig*. 2015; 19: 1013-20.
5. Benetti F, Lemos CAA, de Oliveira Gallinari M, Terayama AM, Briso ALF, de Castilho Jacinto R, Sivieri-Araujo G, Cintra LTA. Influence of different types of light on the response of the pulp tissue in dental bleaching: a systematic review. *Clin Oral Investig*. 2018; 22(4): 1825-37
6. Briso ALF, Rahal V, Gallinari MO, Soares DG, de Souza Costa, CA. Complications from the use of peroxides. *Perdigao J* (editor). *Tooth Whitening*. 1 ed. Springer International Publishing Switzerland; 2016. p. 45-79.
7. Martins LM, Lima E Souza LA, Sutil E, da Silva LM, Silva J, Reis A, Loguercio AD. Clinical effects of desensitizing prefilled disposable trays in in-office bleaching: A randomized single-blind clinical trial. *Oper Dent*. 2020; 45(1): e1-10.
8. Soares DG, Basso FG, Hebling J, de Souza Costa CA. Concentrations of and application protocols for hydrogen peroxide bleaching gels: effects on pulp cell and application protocols for hydrogen peroxide bleaching gels: effects on pulp cell viability efficacy: *J Dent*. 2014; 42(2): 185-9.
9. Soares DG, Basso FG, Pontes EC, Garcia LD, Hebling J, de Souza Costa CA. Effective tooth-bleaching protocols capable of reducing H₂O₂ diffusion through enamel and dentine. *J Dent*. 2013; 42(3): 351-8.
10. de Oliveira Duque CC, Soares DG, Basso FG, Hebling J, de Souza Costa CA. Influence of enamel/dentin thickness on the toxic and esthetic effects of experimental in-office bleaching protocols. *Clin Oral Investig*. 2017; 21(8): 2509-20.
11. de Souza Costa CA, Riehl H, Kina JF, Sacono NT, Hebling J. Human pulp responses to in-office tooth bleaching. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2010; 109(4): 59-64.

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

12. Roderjan DA, Stanislawczuk R, Hebling J, de Souza Costa CA, Soares DG, Reis A, Loguercio AD. Histopathological Features of dental pulp tissue from bleached mandibular incisors. *J Mater Sci and Eng B* 2014; 6: 178-85.
13. Acuña ED, Parreiras SO, Favoreto MW, Cruz GP, Gomes A, Borges CPF et al. In-office bleaching with a commercial 40% hydrogen peroxide gel modified to have different pHs: color change, surface morphology, and penetration of hydrogen peroxide into the pulp chamber. *J Esthet Restor Dent*. 2022; 34(2): 322-7.
14. Haywood VB, Heymann HO. Nightguard vital bleaching. *Quintessence Int*. 1989; 20(3): 173-6.
15. de Geus JL, Wambier LM, Kossatz S, Loguercio AD, Reis A. At-home vs In-office Bleaching: A Systematic Review and Meta-analysis. *Oper Dent*. 2016; 41(4): 341-56
16. Carey CM. Tooth whitening: what we now know. *J Evid Based Dent Pract*. 2014; 14: 70-6.
17. Kossatz S, Martins G, Loguercio AD, Reis A. Tooth sensitivity and bleaching effectiveness associated with use of a calcium containing in-office bleaching gel. *J Am Dent Assoc*. 2012; 143: e81-7
18. Faus-Matoses V, Palau-Martínez I, Amengual-Lorenzo J, Faus-Matoses I, Faus-Llácer VJ. Bleaching in vital teeth: Combined treatment vs in-office treatment. *J Clin Exp Dent*. 2019; 11(8): e754-8.
19. Ortecho-Zuta U, de Oliveira Duque CC, Leite ML, Bordini E, Basso FG, Hebling J, de Souza Costa CA, Soares DG. Effects of enzymatic activation of bleaching gels on hydrogen peroxide degradation rates, bleaching effectiveness, and cytotoxicity. *Oper Dent*. 2019; 44(4): 414-23.
20. Soares DG, Marcomini N, Duque CCO, Bordini EAF, Ortecho-Zuta U, Basso F, Hebling J, de Souza Costa CA. Increased whitening efficacy and reduced cytotoxicity are achieved by the chemical activation of a highly concentrated hydrogen peroxide bleaching gel. *J Appl Oral Sci*. 2019; 27: e20180453:1-10.
21. Khanmohammadi M, Dastjerdi MB, Ai A, Ahmadi A, Godarzi A, Rahimia A, Ai J. Horseadish peroxidase-catalyzed hydrolation for biomedical applications. *Biomater Sci*. 2018; 6(6): 1-43
22. Gantumur E, Sakai S, Nkahata M, Taya M. Horseadish peroxidase-catalydes hydrogelation consuming enzyme-produced hydrogen peroxide in the presence of reducing sugars. *Soft Matter*. 2019; 15: 2163-9.
23. Chen JH, Xu JW, Shing CX. Decomposition rate of hydrogen peroxide bleaching agents under various chemical and physical conditions. *J Prosthet Dent*. 1993; 69(1): 46-8.
24. Bergendi L, Beneš L, Ďuračková Z, Ferenčík M. Chemistry, physiology and pathology of free radicals. *Life Sciences*. 1999; 65: 1865-74.
25. Ubaldini AL, Baesso ML, Medina Neto A, Sato F, Bento AC, Pascotto RC. Hydrogen peroxide diffusion dynamics in dental tissues. *J Dent Res*. 2013; 92(7): 661-5.
26. Kawamoto K, Tsujimoto Y. Effects of the hydroxyl radical and hydrogen peroxide on tooth bleaching. *J Endod*. 2004; 30(1): 45-50
27. Goldberg M, Grootveld M, Lynch E. Undersirable and adverse effects of tooth whitening products: a review. *Clin Oral Investig*. 2010; 14(1): 1-10.

28. Travassos AC, Rocha Gomes Torres C, Borges AB, Barcellos DC. In vitro assessment of chemical activation efficiency during in-office dental bleaching. *Oper Dent*. 2010; 35(3): 287-94.
29. Gopinath S, James V, Vidhya S, Karthikeyan K, Kavitha S, Mahalaxmi S. Effect of bleaching with two different concentrations of hydrogen peroxide containing sweet potato extract as an additive on human enamel: an in vitro spectrophotometric and scanning electron microscopy analysis. *J Conserv Dent*. 2013; 16(1): 45-9.
30. Dash TK, Konkimalla VB. Poly(E-caprolactone) based formulation for drug delivery and tissue engineering: A review. *J Control Release*. 2012; 158: 15-33.
31. Atyabi SM, Sharifi F, Irani S, Zandi M, Mivehchi H, Nagheh Z. Cell attachment and viability study of PCL nano-fiber modified by cold atmospheric plasma. *Cell Biochem Biophys*. 2016; 74(2): 181-90.
32. Dabouian A, Bakhshi H, Irani S, Pezeshki-Modaress M. β -Carotene: a natural osteogen to fabricate osteoinductive electrospun scaffolds. *RSC Adv*. 2018; 18: 9941-5.
33. Jin HJ, Fridrikh SV, Rutledge GC, Kaplan DL. Electrospinning Bombyx mori silk with poly(ethylene oxide). *Biomacromolecules*. 2002;3(6): 1233-9.
34. Klaric E, Rakic M, Marcius M, Ristic M, Sever I, Tarle Z. Optical effects of experimental light-activated bleaching procedures. *Photomed Laser Surg*. 2014; 32(3): 160-7.
35. Zanin F. Recent advances in dental bleaching with laser and LEDs. *Photomed Laser Surg*. 2016;34(4):135-6.
36. Santos AECGD, Bussadori SK, Pinto MM, Pantano Junior DA, Brugnera AJr, Zanin FAA, Rodrigues MFSD, Motta LJ, Horliana ACRT. Evaluation of in-office tooth whitening treatment with violet LED: protocol for a randomised controlled clinical trial. *BMJ Open*. 2018; 8(9): e021414.
37. Kwon SR, Oyoyo U, Li Y. Effect of light activation on tooth whitening efficacy and hydrogen peroxide penetration: an in vitro study *J Dent*. 2013; 41 Suppl3: e39-45.
38. Almeida ENM, Bessegato JF, Dos Santos DDL, de Souza Rastelli AN, Bagnato VS. Violet LED for non-vital tooth bleaching as a new approach. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2019; 28: 234-7.
39. Gallinari MO, Cintra LTA, Souza MBA, et al. Clinical analysis of color change and tooth sensitivity to violet LED during bleaching treatment: A case series with split-mouth design. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2019b; 27: 59-65.
40. Gallinari MO, Fagundes TC, da Silva LM, de Almeida Souza MB, Barboza A, Briso A. A New Approach for Dental Bleaching Using Violet Light With or Without the Use of Whitening Gel: Study of Bleaching Effectiveness. *Oper Dent*. 2019a; 44(5): 521-9.
41. Kury M, Perches C, da Silva DP, André CB, Tabchoury CPM, Giannini M, Cavalli V. Color change, diffusion of hydrogen peroxide, and enamel morphology after in-office bleaching with violet light or nonthermal atmospheric plasma: An in vitro study. *J Esthet Restor Dent*. 2020; 32(1): 102-12.

42. Brugnera AP, Nammour S, Rodrigues JA, et al. Clinical Evaluation of In-Office Dental Bleaching Using a Violet Light-Emitted Diode. Photobiomodul Photomed Laser Surg. 2020; 38(2): 98-104