

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARAÇATUBA**

**ANA CAROLINE BOSISIO**

**Estudo *in vivo* do potencial anti-inflamatório de uma  
formulação de curcumina em gel em dentes de rato  
submetidos à clareação dentária**

**ARAÇATUBA-SP**

**2014**

**ANA CAROLINE BOSISIO**

**Estudo *in vivo* do potencial anti-inflamatório de uma  
formulação de curcumina em gel em dentes de rato  
submetidos à clareação dentária**

Trabalho de Conclusão de Curso como parte dos requisitos para a obtenção do título de Bacharel em Odontologia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

Orientador: Prof. Dr. Luciano Tavares  
Ângelo Cintra

**ARAÇATUBA-SP  
2014**

## **Dedicatória**

**À Jesus. “Porque dele e por ele, e para ele  
são todas as coisas.” Romanos 11:36**

# Agradecimentos

À Deus pelo seu amor incondicional que me restaura e me dá forças todos os dias e pela sua graça que me abençoa e me possibilita ser conduzida pelo caminho certo.

Aos meus pais Maurício e Benedita pelo amor, pela paciência, pelos investimentos na minha educação e pelo grande esforço que fizeram para que eu pudesse chegar até aqui.

Às minhas irmãs Lílian e Thaís por sempre me ajudarem e me apoiarem.

À todos os meus amigos pela força e pela fé que depositaram em mim, especialmente à minha amiga Larissa pelo companheirismo e pela ajuda.

À todos os docentes e funcionários da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, que de uma forma ou de outra contribuíram para a minha formação acadêmica.

Ao meu orientador Prof. Dr. Luciano Tavares Ângelo Cintra pela oportunidade, pelo tempo e disposição oferecidos para à realização do projeto.

À Carla Sipert por ter colaborado no início do projeto.

À Vanessa Rahal pela ajuda nas fotos do experimento.

Aos pós-graduandos do departamento de endodontia, especialmente Aginaldo Facundo, Luciana Louzada e Francine Benetti pela grande disposição em me ajudar com este projeto.

BOSISIO, A.C. **Estudo *in vivo* do potencial anti-inflamatório de uma formulação de curcumina em gel em dentes de rato submetidos à clareação dentária.** 2014. 35 f. Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2014.

### **Resumo**

A curcumina é uma substância que apresenta propriedades antioxidantes, imunomoduladoras e anti-inflamatórias. Apesar de amplamente estudada pela medicina, ainda não foi explorada junto ao complexo dentino-pulpar. Sabe-se que o peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) contido no gel clareador pode causar danos à polpa dentária, que variam de inflamação à necrose pulpar. O objetivo deste estudo foi verificar o potencial anti-inflamatório do gel de curcumina em dentes submetidos à clareação dentária. Foram utilizados 20 ratos divididos em 4 grupos contendo 10 hemi-maxilas cada. Os molares superiores direito de cada animal receberam o agente clareador por 30 minutos, enquanto que os molares superiores esquerdo receberam o veículo do agente clareador. Metade dos animais recebeu a aplicação do gel de curcumina por 10 minutos sobre cada molar, e a outra metade, o veículo do gel de curcumina, formando os seguintes grupos: G1A- agente clareador seguido do gel de curcumina; G1B- veículo do agente clareador seguido do gel de curcumina; G2A- agente clareador seguido do veículo do gel de curcumina; G2B - veículo do agente clareador seguido do veículo do gel de curcumina. Após 2 dias, os animais foram eutanasiados e as maxilas processadas para avaliação em microscopia óptica. Os cortes teciduais corados em H.E. foram avaliados atribuindo-se escores para o critério infiltrado inflamatório. Os resultados foram submetidos à análise estatística, pelos testes de Kruskal Wallis e Dunn ( $p < 0,05$ ). Observou-se presença de infiltrado inflamatório severo à necrose nos grupos onde foi empregado o agente clareador, independentemente da aplicação do gel de curcumina ou de seu veículo. Assim, pode-se concluir que o gel de curcumina aplicado topicamente por 10 minutos sobre a superfície dentária após clareação com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 35% não foi capaz de minimizar os efeitos do clareador no tecido pulpar.

**Palavras Chave:** Clareação dentária, Curcumina, Inflamação pulpar

BOSISIO, A.C. *In vivo* anti-inflammatory potential of curcumin gel employee in rat teeth submitted to dental bleaching. 2014. 35 f. Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2014.

### Abstract

Curcumin is a substance which has antioxidant, anti-inflammatory and immunomodulatory properties. Although widely studied by medicine, has not been explored by the dentin pulp complex. It is known that the hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) of bleaching gel can cause biological effects to pulp tissue, that vary from inflammation to necrosis. The objective of this study is to assess the anti-inflammatory potential of curcumin gel in teeth submitted to dental bleaching. 20 rats were divided into 4 groups of 10 each hemi-jaws were used. Was held the application of agent bleaching in molars of the right hemi-maxilla, for 30 minutes of application. The molars of the left hemi-maxilla received the bleaching agent vehicle and served as control. Half of the animals received application of curcumin gel for 10 minutes in each molars. Other half received vehicle Curcumina gel, composed the following groups: G1A- bleaching agent followed by curcumin gel; G1B- vehicle bleaching agent followed by the curcumin gel; G2A- bleaching agent followed by vehicle curcumin gel; G2B - bleaching agent vehicle following the vehicle Curcumina gel. After 2 days, the animals were euthanized and the jaws removed and processed for evaluation in optical microscopy. Tissue sections stained with HE and evaluated by pre-established criteria by assigning scores to microscopic events. The results were analyzed statistically by the Kruskal Wallis and Dunn tests ( $p < 0.05$ ). Observed presence of severe inflammatory infiltrate to necrosis in groups where the bleaching agent was used regardless of the application of curcumin or its vehicle gel. It can be concluded that the gel curcumin applied topically for 10 minutes to the tooth surface after bleaching procedure with  $H_2O_2$  35% was not able to minimize the effects of the bleaching agent in the pulp tissue.

**Keywords:** Dental bleaching, Curcumin, Pulp inflammation.

## Listas de figuras

### *Páginas*

Figura 1. Cobaia anestesiada e posicionada com aplicação da barreira gengival e agente clareador nos molares superiores. 16

Figura 2. Visão aproximada dos molares superiores com aplicação da barreira gengival e gel clareador na sua fase inicial e final. 16

Figura 3. Divisão em terços da câmara pulpar 18

Figura 4. Imagem representativa do grupo G1A 19

Figura 5. Imagem representativa do grupo G1B 20

Figura 6. Imagem representativa do grupo G2A 21

Figura 7. Imagem representativa do grupo G2B 22

## Lista de tabelas e quadros

### *Páginas*

Tabela 1. Divisão dos grupos 15

Quadro 1. Escores atribuídos ao grupo clareado seguido da aplicação do gel de Curcumina, de acordo com os terços da polpa coronária. 19

Quadro 2. Escores atribuídos ao grupo em que foi utilizado o veículo do agente clareador seguido da aplicação do gel de Curcumina, de acordo com os terços da polpa coronária. 20

Quadro 3. Escores atribuídos ao grupo clareado seguido da aplicação do veículo do gel de Curcumina, de acordo com os terços da polpa coronária. 21

Quadro 4. Escores atribuídos ao grupo em que foi utilizado o veículo do agente clareador seguido da aplicação do veículo do gel de Curcumina, de acordo com os terços da polpa coronária. 22

Tabela 2. Cruzamentos entre os grupos para o terço oclusal da coroa dentária. 23

Tabela 3. Cruzamentos entre os grupos para o terço médio da coroa dentária. 23

Tabela 4. Cruzamentos entre os grupos para o terço cervical da coroa dentária. 24



# SUMÁRIO

*Páginas*

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA 10

2. OBJETIVO 13

3. MATERIAL E MÉTODOS 14

4. RESULTADOS 19

5. DISCUSSÃO 25

6. CONCLUSÃO 28

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 29

ANEXO 35

## 1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A clareação dentária é um procedimento odontológico que constitui uma alternativa estética para pacientes que apresentam pigmentações (TEN BOSCH; COOPS, 1995). A preocupação em se clarear os dentes já era existente desde o antigo Egito, onde se utilizava abrasivos misturados ao vinagre para se alcançar tal objetivo (HIRATA *et al.*, 1997; PORTOLANI JÚNIOR; CANDIDO, 2005). Talvez o maior avanço na clareação dentária tenha sido em 1968, quando o ortodontista americano Bill Klusmier, durante o tratamento de um paciente com gengivite, adotou um antisséptico oral contendo peróxido de carbamida a 10% e notou significativa melhora no tecido gengival, além de dentes mais claros (GOLDSTEIN; GARBER, 1995). Inicia-se então as técnicas para clareação dentária.

Existem duas técnicas de clareação em dentes vitais: a técnica de consultório e a técnica caseira. A técnica de consultório emprega o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) em altas concentrações (20-38%), associado ou não à fontes de luz, sendo que a técnica caseira utiliza o peróxido de carbamida (10-22%) associado a moldeiras de acetato (BUCHALLA; ATTIN, 2007). O peróxido de carbamida degrada-se em uréia e  $H_2O_2$ , que é o composto ativo do gel clareador (HAYWOOD *et al.*, 1994). A uréia pode fornecer alguns efeitos colaterais benéficos, pois tende a aumentar a concentração de íons de hidrogênio da solução (HAYWOOD *et al.*, 1994).

A clareação caseira criou um ressurgimento na área de clareação dentária devido sua relativa facilidade de aplicação, a segurança dos materiais utilizados, o menor custo, e a elevada porcentagem de tratamentos bem sucedidos (HAYWOOD *et al.*, 1994). Sabe-se que o peróxido de carbamida 10% é equivalente a uma solução a 3% de  $H_2O_2$ , que corresponde cerca de um décimo da concentração das soluções utilizadas para clareação de consultório (Goldberg *et al.* 2010).

O elemento controverso que a técnica de clareação caseira apresenta, é o potencial de contato do gel clareador com o tecido mole durante o tratamento, gerando uma irritação ao tecido gengival, relacionada com uma moldeira mal adaptada, que faz com que ocorra resposta do tecido ao peróxido (HAYWOOD *et al.*, 1991).

Pesquisas de fabricantes de  $H_2O_2$  dizem que é improvável que os seres humanos sejam expostos a doses orais tóxicas de  $H_2O_2$ , visto que um indivíduo teria que beber diariamente 23 mL de  $H_2O_2$  35% para o desenvolvimento de lesões observadas em ratos (CHIESARA *et al.*, 2002).

Outros estudos indicam que a toxicidade e a mutagenicidade do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> estão relacionados com a dose, e que as concentrações utilizadas na técnica de clareação não tem força suficiente para justificar a preocupação com o tecido mole (HAYWOOD *et al.*, 1994). De fato, uma dose elevada de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> é tóxica para as células. Mas, uma dose mais baixa durante um tempo mais longo permite que as células se ajustem e, em última análise, tolerem uma dose mais elevada do que aquela que originalmente teria sido tóxica (WINGUIST *et al.*, 1984).

O emprego de baixas concentrações de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (3-12%) tem sido indicado para uso caseiro, enquanto produtos mais concentrados (20-38%) objetivam atender aos pacientes que não toleram o uso de moldeira ou anseiam resultados rápidos. São nestes casos que estão contidas as maiores complicações do emprego dos agentes clareadores sobre o tecido pulpar. Diversos estudos *in vitro* têm comprovado a penetração do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> no interior da câmara pulpar (BENETTI *et al.*, 2004), que é influenciada por vários fatores, como o tempo de aplicação e pressão osmótica do gel (HANKS *et al.*, 1993), a concentração e o número de sessões utilizadas para atingir o nível de clareação desejado (BUCHALLA; ATTIN, 2007).

Uma vez no interior da polpa, o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pode ocasionar estresse oxidativo, gerando danos ao DNA das células, fragmentação proteica e peroxidação de lipídeos, podendo induzir apoptose e necrose celular (MARTINDALE; HOLBROOK, 2002). Como consequência, 52% dos pacientes que se submetem ao procedimento de clareação dentária costumam relatar sensibilidade pós-operatória (HAYWOOD *et al.*, 1994).

Embora haja injúria ao tecido, a maioria dos estudos tem demonstrado que a polpa se mantém saudável e o dano é reversível em cerca de 2 meses (CINTRA *et al.*, 2014; COHEN; CHASE, 1979; SEALE *et al.*, 1981).

As principais vantagens em relação à segurança da clareação de consultório em dentes vitais é o controle do dentista sobre o tecido mole que é protegido do agente clareador, e o potencial para a clareação mais rápida. As desvantagens são principalmente o custo, a natureza imprevisível do resultado e os danos pulpares.

Os relatos sobre os efeitos dos géis de clareação sobre a superfície de esmalte são divergentes. Alguns pesquisadores têm relatado ausência de efeito ou apenas pequenas alterações na superfície do esmalte ou da sub-superfície (CHIESARA *et al.*, 2002; JOINER, 2006; WHITE *et al.*, 2000; 2002; 2003). Em contrapartida, outros mostraram modificações de moderada à grave na superfície do esmalte (EFEOGLU *et al.*, 2007; MARKOVIC *et al.*, 2007; McCRAKEN; HAYWOOD, 1996; SEGHI; DENRY, 1992; ZANTNER *et al.*, 2007),

como aumento na porosidade (DAHL *et al.*, 1995; 2003; LEONARD *et al.*, 1998; TIMBLIN *et al.*, 1995).

Com os achados obtidos na literatura, vemos que os tratamentos de clareação induzem mudanças na rugosidade superficial do esmalte, além de causarem danos ao tecido pulpar, que variam de alterações inflamatórias à necrose do tecido (CINTRA *et al.*, 2013; CINTRA *et al.*, 2014). Sendo assim, o emprego de substâncias anti-inflamatórias pode ser uma medida promissora para minimizar os prejuízos que este procedimento estético pode causar.

A curcumina é uma substância encontrada no pó amarelo-alaranjado extraído da raiz da curcuma ou açafrão-da-índia (*Curcuma longa*) (NOGUEIRA *et al.*, 2010). Trata-se de um pó cristalino pouco solúvel em pH ácido ou neutro e solúvel em pH alcalino (HUMPHREY, 1980). Esta substância possui propriedades antioxidantes (REDDY; LOKESH, 1992), imunomoduladoras, anti-inflamatórias (SRIVASTAVA *et al.*, 2011) e ainda, anti-fibróticas (ZHANG *et al.*, 2011). Entretanto, apesar de amplamente estudada pela medicina, ainda não foi explorada junto aos tecidos dentários, particularmente sobre o complexo dentino-pulpar.

Assim, a proposta deste estudo foi avaliar os possíveis efeitos anti-inflamatórios da curcumina sobre o tecido pulpar de dentes que foram submetidos ao processo clareador.

## **2. OBJETIVO**

Investigar o potencial anti-inflamatório da curcumina aplicada em forma de gel em dentes de ratos Wistar submetidos à clareação dentária.

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **Material**

##### **Animais**

Foram utilizados 20 ratos machos (*Rattus albinus*, Wistar), pesando aproximadamente 200g, provenientes do biotério da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba. Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas, em ambiente com temperatura entre 22 e 24°C e ciclo de luz controlada (12 horas claro e 12 horas escuro). Cada gaiola abrigou quatro ratos, que foram alimentados durante todo o período experimental com dieta sólida e água “ad libitum”, com exceção de 8-12 horas antes das intervenções. Antes do início da fase experimental, o projeto foi submetido ao Comitê de Ética do local, tendo sido aprovado (CEUA nº2012/00846).

##### **Drogas empregadas**

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

Para clareação dentária foi empregado o agente clareador Whiteness HP Maxx (FGM Produtos Odontológicos) à base de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 35%. Este produto apresenta-se comercialmente em dois frascos, um contendo o peróxido e o outro, o agente espessante, sendo estas substâncias misturadas na proporção de 3:1 (peróxido de hidrogênio: espessante).

Para tratamento pós-clareação foi utilizado um gel a base de Curcumina (PATEL *et al.*, 2009).

## **Métodos**

### **Divisão em grupos**

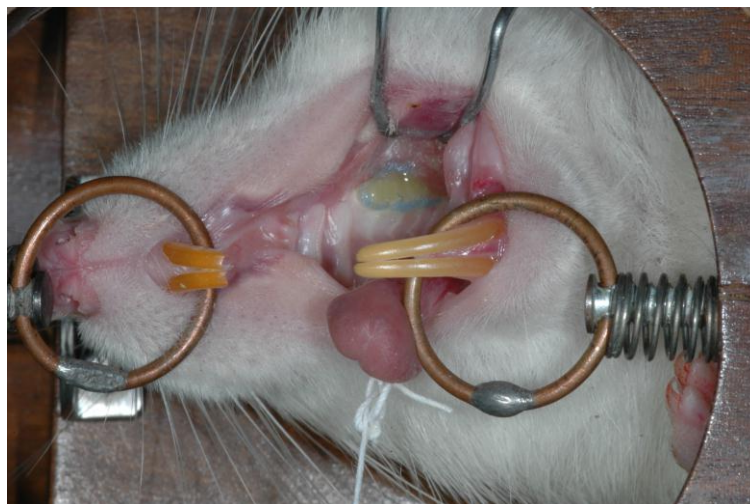
Os animais foram divididos em 4 grupos experimentais de acordo com os tratamentos empregados (clareador e tratamento):

**Tabela 1. Divisão dos grupos**

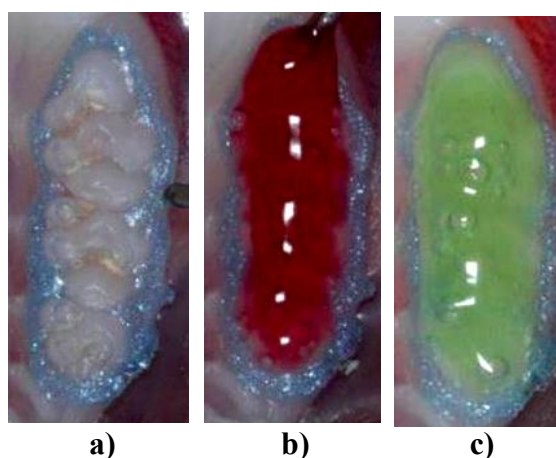
	Curcumina	Veículo da curcumina
Agente clareador	G1A (n=10)	G2A (n=10)
Veículo do agente clareador	G1B (n=10)	G2B (n=10)

### **Procedimentos clareadores**

O tecido gengival ao redor dos dentes que foram clareados foi protegido com barreira gengival (FGM Produtos Odontológicos, Joinvile, SC, Brasil) e em seguida, o agente clareador Whiteness HP Maxx (FGM Produtos Odontológicos, Joinvile, SC, Brasil) foi preparado na proporção de 3:1 (peróxido de hidrogênio:espessante). Aproximadamente 0,01 mL do agente foram aplicados nos três molares superiores do lado direito de cada animal, por meio de uma aplicação direta de 30 minutos (Figuras 1 e 2). Para fins de controle, os molares superiores do lado esquerdo de cada animal foram tratados com o veículo do agente clareador (água destilada e espessante na proporção 3:1), também por 30 minutos. Ao final da aplicação, os dentes foram lavados com água destilada para a remoção das soluções.



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



**Figura 2 – Visão aproximada dos molares superiores com aplicação da barreira gengival (a) e gel clareador na sua fase inicial (b) e final (c).**

### **Procedimentos pós-clareação**

Após o procedimento clareador descrito acima, sobre os molares direito e esquerdo de metade dos animais, uma formulação de curcumina 2% em carbopol 2% e etanol 30% (PATEL *et al.*, 2009) foi aplicada no volume aproximado de 0,01mL durante 10 min. Para fins de controle, a outra metade dos animais recebeu sobre seus molares o gel contendo apenas o seu veículo (carbopol e etanol), durante o mesmo tempo experimental que o gel de curcumina. Os dentes foram lavados para a completa remoção do gel ou veículo e, por fim, a barreira gengival foi retirada.



## **Eutanásia e processamento laboratorial**

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

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

### **- ANÁLISE DESCRITIVA**

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

### **- ANÁLISE QUALITATIVA**

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

O processo inflamatório foi analisado considerando sua intensidade e distribuição no tecido pulpar, em conformidade com o número médio aproximado de células inflamatórias presentes nos diferentes terços, de um mesmo espécime, examinados em aumento de 400X.

Os escores atribuídos em cada terço foram:

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

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

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



**Figura 3 – Divisão em terços da câmara pulpar.**

### **Análise estatística**

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

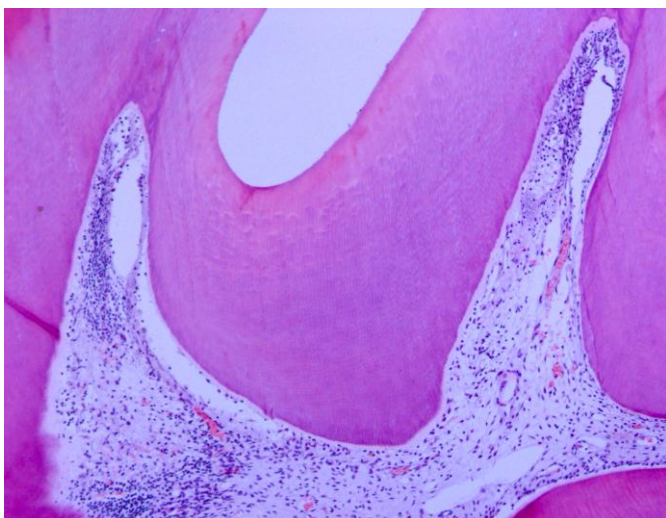
#### 4. RESULTADOS

##### Grupo 1A – Agente clareador seguido do gel de Curcumina

A maior parte dos espécimes deste grupo apresentou infiltrado inflamatório moderado e severo à necrose na região de terço oclusal da polpa coronária, que passaram para infiltrado inflamatório leve à moderado no terço médio. O terço cervical ainda apresentou-se levemente desorganizado com infiltrado inflamatório leve (Quadro 1 e Figura 4).

**Quadro 1 – Escores atribuídos ao grupo clareado seguido da aplicação do gel de Curcumina, de acordo com os terços da polpa coronária.**

G1A	n	Terços da Coroa											
		Oclusal				Médio				Cervical			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Agente clareador seguido do gel de Curcumina	1				X			X				X	
	2				X			X				X	
	3				X				X				X
	4			X			X					X	
	5			X				X				X	
	6				X			X				X	
	7			X			X					X	
	8			X			X					X	
	9				X			X				X	
	10			X			X					X	



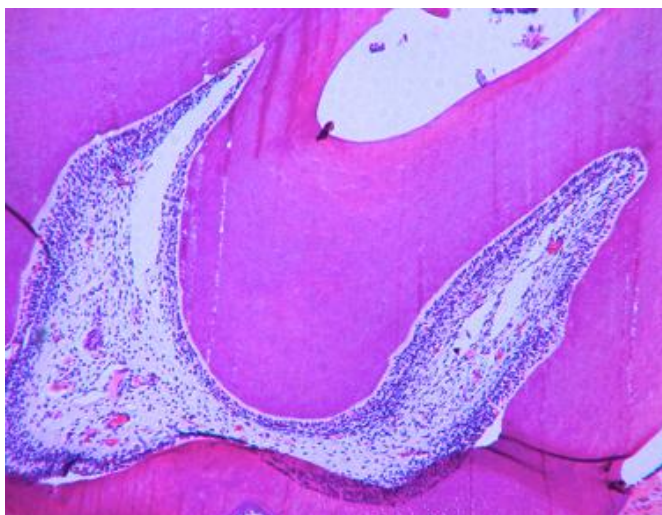
**Fig4 – Imagem representativa do grupo G1A. Região de polpa coronária evidenciando necrose na região do terço oclusal e infiltrado inflamatório moderado [100x – H.E.].**

### Grupo 1B – Veículo do agente clareador seguido do gel de Curcumina

Foi encontrado tecido pulpar com aspecto de normalidade e ausência de células inflamatórias em todos os espécimes, denotando estado de homeostasia pulpar. A camada odontoblástica apresentou-se organizada, assim como as outras camadas. As estruturas de pré-dentina e dentina apresentaram-se íntegras. Os vasos sanguíneos apresentaram-se congestionados e a densidade do fibrosamento caracterizou polpa jovem com potencial de reparo (Quadro 2 e Figura 5).

**Quadro 2 – Escores atribuídos ao grupo em que foi utilizado o veículo do agente clareador seguido da aplicação do gel de Curcumina, de acordo com os terços da polpa coronária.**

G1B	n	Terços da Coroa											
		Oclusal				Médio				Cervical			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Veículo do agente clareador seguido do gel de Curcumina	1	X				X				X			
	2	X				X				X			
	3	X				X				X			
	4	X				X				X			
	5	X				X				X			
	6	X				X				X			
	7	X				X				X			
	8	X				X				X			
	9	X				X				X			
	10	X				X				X			



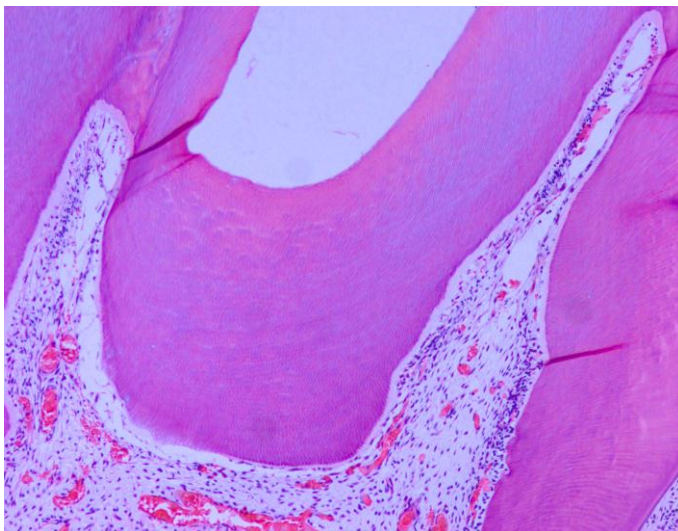
**Fig5 – Imagem representativa do grupo G1B. Região de polpa coronária evidenciando homeostasia pulpar e ausência de infiltrado inflamatório [100x – H.E.].**

### Grupo 2A – Agente clareador seguido do veículo do gel da Curcumina

A maior parte dos espécimes deste grupo apresentou infiltrado inflamatório severo à necrose próximo a região de corno pulpar. Seis espécimes deste grupo apresentaram infiltrado inflamatório moderado na região de terço médio da polpa coronária. Ainda pode ser encontrado leve infiltrado inflamatório no terço cervical da polpa coronária na maior parte dos espécimes (Quadro 3 e Figura 6).

**Quadro 3 – Escores atribuídos ao grupo clareado seguido da aplicação do veículo do gel de Curcumina, de acordo com os terços da polpa coronária.**

G2A	n	Terços da Coroa											
		Oclusal				Médio				Cervical			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Agente clareador seguido do veículo do gel de Curcumina	1				X			X				X	
	2			X			X					X	
	3				X			X				X	
	4				X				X				X
	5			X				X				X	
	6				X			X				X	
	7			X			X				X		
	8			X			X				X		
	9				X			X					X
	10				X			X				X	



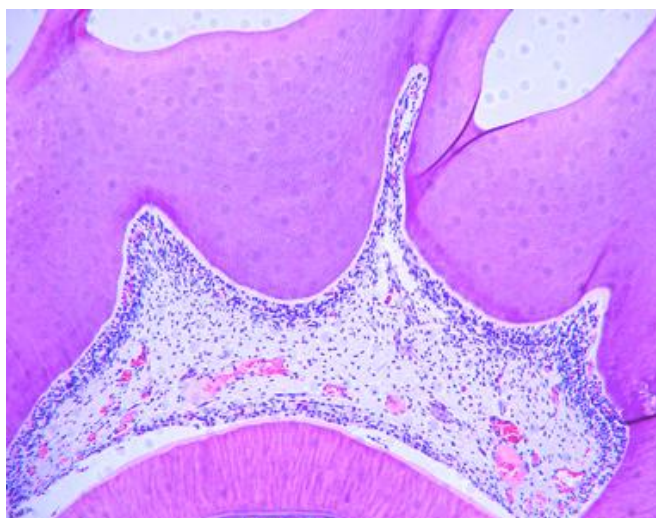
**Fig6 – Imagem representativa do grupo G2A. Região de polpa coronária evidenciando áreas de necrose no terço oclusal e infiltrado inflamatório moderado no terço médio [100x – H.E.].**

### Grupo 2B – Veículo do agente clareador seguido do veículo do gel de Curcumina

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

**Quadro 4 – Escores atribuídos ao grupo em que foi utilizado o veículo do agente clareador seguido da aplicação do veículo do gel de Curcumina, de acordo com os terços da polpa coronária.**

G2B	n	Terços da Coroa											
		Oclusal				Médio				Cervical			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Veículo do agente clareador seguido do veículo do gel de Curcumina	1	X				X				X			
	2	X				X				X			
	3	X				X				X			
	4	X				X				X			
	5	X				X				X			
	6	X				X				X			
	7	X				X				X			
	8	X				X				X			
	9	X				X				X			
	10	X				X				X			



**Fig7 – Imagem representativa do grupo G2B. Região de polpa coronária evidenciando homeostasia pulpar e ausência de infiltrado inflamatório [100x – H.E.].**

#### 4.1 Análise estatística

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

##### COM RELAÇÃO AO TERÇO OCLUSAL:

A análise estatística do terço oclusal demonstrou diferença significativa entre os grupos ( $p < 0,05$ ). A diferença foi observada na comparação entre os grupos G1A e G2A com os grupos G1B e G2B (Tabela 02).

**Tabela 02 – Cruzamentos entre os grupos para o terço oclusal da coroa dentária.**

	G1A	G1B	G2A	G2B
G1A				
G1B	X		X	
G2A				
G2B	X		X	

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

##### COM RELAÇÃO AO TERÇO MÉDIO:

A análise estatística do terço médio demonstrou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os grupos G1A e G2A com os grupos G1B e G2B (Tabela 03).

**Tabela 03 – Cruzamentos entre os grupos para o terço médio da coroa dentária.**

	G1A	G1B	G2A	G2B
G1A				
G1B	X		X	
G2A				
G2B	X		X	

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

### COM RELAÇÃO AO TERÇO CERVICAL:

A análise estatística do terço cervical também demonstrou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os grupos G1A e G2A com os grupos G1B e G2B (Tabela 03).

**Tabela 04 – Cruzamentos entre os grupos para o terço cervical da coroa dentária.**

	G1A	G1B	G2A	G2B
G1A				
G1B	X		X	
G2A				
G2B	X		X	

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

Este aspecto denota que os 3 terços da polpa coronária dos grupos que receberam o gel clareador, seguido da aplicação do gel de Curcumina ou do seu veículo, não apresentaram diferenças significativas entre si, e apresentaram alterações estatisticamente significativas com os grupos controle.



## 5. DISCUSSÃO

### Da metodologia

O agente clareador possui como princípio ativo o  $H_2O_2$ , que tem poder oxidante indireto, liberando oxigênio à medida que penetra na estrutura dentária (OLTU; GURGAN, 2000). Essa capacidade de atravessar esmalte e dentina se dá em função da permeabilidade destes substratos, do baixo peso molecular dessas substâncias (BARATIERI, 1996; HAYWOOD *et al.*, 1991) e pelo fato do  $H_2O_2$  desnaturar proteínas, aumentando os canais de difusão dos substratos (McEVOY, 1989).

Dentes com polpas vitais têm componentes que podem prevenir ou impedir a penetração de agentes clareadores através dos túbulos dentinários, tais como as extensões citoplasmáticas dos odontoblastos, fluido dentinário, e enzimas que promovem a degradação do  $H_2O_2$ , protegendo a polpa dos efeitos citotóxicos causados por esse procedimento (ESPOSITO *et al.*, 2003; HANKS *et al.*, 1993).

Estudos “in vivo” avaliaram microscopicamente a resposta pulpar ocorrida em decorrência da clareação dentária (CINTRA *et al.*, 2013; CINTRA *et al.*, 2014; COSTA *et al.*, 2010; FRIGO *et al.*, 2009; KINA *et al.*, 2010; SEALE *et al.*, 1981). A impossibilidade de reproduzir em laboratório as condições fisiológicas do complexo dentino-pulpar pode gerar diferenças entre resultados obtidos em pesquisas “in vitro” e “in vivo” (KINA *et al.*, 2010).

Dentre os estudos “in vivo” já realizados, encontram-se os que utilizaram ratos como modelo experimental (CINTRA *et al.*, 2013; CINTRA *et al.*, 2014; FRIGO *et al.*, 2009). A utilização de ratos para um trabalho de pesquisa apresenta várias vantagens, como a facilidade de manipulação e de reprodução, o tempo de vida, tamanho, peso, custo, armazenagem, alimentação, controle e previsibilidade (PENNA; RODE, 2000).

Na presente pesquisa, optou-se pela aplicação do gel clareador nos molares dos ratos, devido à morfologia semelhante à dos dentes humanos, no que diz respeito à proporção de esmalte e dentina, enquanto que nos incisivos de ratos, a proporção de esmalte é bem maior quando comparada a de dentes humanos (cerca de 30% em incisivos centrais humanos e 64% em incisivos de ratos), e a proporção de dentina, menor (cerca de 70% em incisivos centrais humanos e 36% em incisivos de ratos) (LIMA, 2003; SULIEMAN *et al.*, 2005).

Apesar das dimensões dos dentes dos ratos serem menores, a utilização de grupos controle permite identificar a degradação e destruição do tecido pulpar dos grupos experimentais em proporções relativas às originais.

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

Em se tratando da difusão de peróxidos no tecido dentinário durante o ato clareador, é provável que ocorra a movimentação do fluido presente no interior dos túbulos dentinários, podendo estimular as terminações nervosas presentes no tecido pulpar, gerando com isso desconforto ou dor ao paciente (RIEHL, 2008). Diante disso, é também provável a instalação de um discreto processo inflamatório no interior da câmara pulpar, motivando alguns à prescrição de anti-inflamatórios, previamente ou posteriormente à realização da clareação dentária (CHARAKORN *et al.*, 2009).

Portanto, foi proposto o emprego de uma formulação de gel de curcumina para o tratamento da polpa dentária, visto que esta substância possui propriedades antioxidantes (REDDY; LOKESH, 1992) e anti-inflamatórias (SRIVASTAVA *et al.*, 2011).

Vale destacar que, até o momento, a literatura não apresenta estudos avaliando resultados da aplicação tópica dessa droga na redução da sensibilidade dentária gerada após clareação. Porém, o aumento da porosidade (MINOUX; SERFATY, 2008) do esmalte dentário, gerado após a técnica clareadora, poderia viabilizar a sua utilização imediatamente após o procedimento.

### **Dos resultados**

Algumas pesquisas de citotoxicidade comprovaram o efeito danoso de agentes clareadores quando aplicados sobre células pulpares de ratos (FUKUYAMA *et al.*, 2008; LEE *et al.*, 2006) e fibroblastos (HANKS *et al.*, 1993). O processo inflamatório que ocorre após o procedimento clareador já foi verificado em vários trabalhos, “in vivo” e “in vitro” (ANDERSON *et al.*, 1999; BENETTI *et al.*, 2004; BROWNE, 1994; COHEN; CHASE, 1979; COSTA *et al.*, 2000; COSTA *et al.*, 2010; ESPOSITO *et al.*, 2003; FRIGO *et al.*, 2009; HAYWOOD; HEYMANN, 1991; KAWAMOTO; TSUJIMOTO, 2004; KINA *et al.*, 2010; LEE *et al.*, 2006; MARTINDALE; HOLBROOK, 2002; MATTOS *et al.*, 2003; OLTU; GÜRGAN, 2000; RIBEIRO *et al.*, 2009; SACONO *et al.*, 2010; SEALE *et al.*, 1981; SEALE; WILSON, 1985; SIES, 1993; SULIEMAN *et al.*, 2005; TRINDADE *et al.*, 2009; WENNERBERG *et al.*, 1983).

Durante sua dissociação iônica, o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dá origem ao ânion peridroxila (HO<sub>2</sub><sup>-</sup>), provável espécie ativa responsável pelo processo de clareação (KORYTOWSKI; SARNA, 1990). Uma reação em cadeia leva à formação de radicais livres como o radical peridróxido e o ânion superóxido, sendo estes potentes agentes oxidantes, os quais podem regular as funções biológicas das células, tais como a proliferação celular, migração e diferenciação (PAN *et al.*, 2011; SIMON *et al.*, 2000; YOON *et al.*, 2002).

Estudos têm relatado a ocorrência de difusão do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pelo esmalte e dentina (BENETTI *et al.*, 2004; CAMPS *et al.*, 2007; 2010; CARRASCO-GUERISOLI *et al.*, 2009; HANNIG *et al.*, 2011) podendo atingir o complexo dentino-pulpar (CINTRA *et al.*, 2013; CINTRA *et al.*, 2014; COSTA *et al.*, 2010), como verificado no presente estudo, onde podemos ver que o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> causou alterações na polpa dentária dos dentes de ratos, como desorganização das camadas celulares, presença de infiltrado inflamatório e necrose nas áreas de cornos pulpaes.

A necrose, seguida de infiltrado inflamatório severo, pode ser observada nos grupos G1A e G2A, tratados com o agente clareador (quadros 1 e 3; figuras 4 e 6), independentemente da aplicação do gel de curcumina ou seu veículo. A polpa coronária apresentou áreas necróticas, descontinuidade da camada de odontoblastos, desorganização celular e presença de células inflamatórias, principalmente nas regiões de cornos pulpaes onde a exposição ao agente clareador foi mais intensa.

Já os grupos que serviram como controle (G1B e G2B), e receberam a aplicação do veículo do gel clareador, seguido pelo gel de curcumina ou seu veículo, não apresentaram alterações no tecido pulpar, estando este íntegro, com a camada de odontoblastos intacta, e em continuidade com as camadas de dentina e pré-dentina, também intactas (quadros 2 e 4; figuras 5 e 7).

Estes achados demonstram que o veículo do agente clareador, assim como o gel de curcumina ou seu veículo, não foram capazes de produzir alterações nos tecidos pulpaes. Também nos mostra que o gel de curcumina, bem como seu veículo, não foram capazes de minimizar os danos causados pelo agente clareador.

Estudos mostram que o gel de Curcumina preparado com mentol (PATEL *et al.*, 2009) ou hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) (SHARMA *et al.*, 2012) tem suas propriedades melhoradas, como efeito antiinflamatório e melhor penetração em tecidos de ratos. Assim, novas condutas terapêuticas utilizando outras substâncias com propriedade antiinflamatórias, ou talvez outras formulações do gel de Curcumina, podem ser estudadas com o intuito de se amenizar os danos ao tecido pulpar causados pelo procedimento clareador.

## **5. CONCLUSÃO**

O gel de curcumina aplicado topicamente durante 10 minutos sobre a superfície dentária, após procedimento clareador com peróxido de hidrogênio a 35%, não foi capaz de minimizar os efeitos do agente clareador no tecido pulpar.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Anderson DG, Chiego Jr, DJ, Glickman GN, McCauley LK. Clinical assessment of the effects of 10% carbamide peroxide gel on human pulp tissue. **J Endod.** 1999 apr;25(4):247-50.
2. Baratieri, L. N. Clareamento de dentes vitais, cap 6, p. 31-88, 1996. In: Clareamento Dental. Edit. Santos/Quintessence Books, 1996.
3. Benetti AR, Valera MC, Mancini MNG, Miranda CB, Balducci I. In vitro penetration of bleaching agents into the pulp chamber. **Int Endod J.** 2004;37(2):120-4.
4. Browne RM. Animal test for biocompatibility of dental materials – relevance, advantages and limitations. **J Dent.** 1994;22:S21-4.
5. Buchalla W, Attin T. External bleaching therapy with activation by heat, light or laser – a systematic review. **Dent Mater.** 2007; 23(5):586-96.
6. 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.
7. 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.
8. Carrasco-Guerisoli LD, Schiavoni RJ, Barroso JM, Guerisoli DM, Pécora JD, Fröner IC. Effect of different bleaching systems on the ultrastructure of bovine dentin. **Dent Traumatol.** 2009 Apr;25(2):176-80.
9. Charakorn P, Cabanilla LL, Wagner WC, Foong WC, Shaheen J, Pregitzer R, Schneider D. The effect of preoperative ibuprofen on tooth sensitivity caused by in-office bleaching. **Oper Dent.** 2009; 34(2):131-5.
10. Chiesara E, Dayan AD, Duschner H, Maier H, White DJ (2002). The safety of tooth whitening, Chap. 4. Blackwell Munksgaard, Oxford, pp 31-9.
11. Cintra LTA, Benetti F, Ferreira LL, Ervolino E, Briso ALF. Dental bleaching concentration and the time influences pulp tissue damage and repair in rat teeth. In press. 2014.
12. Cintra LTA, Benetti F, da Silva Facundo AC, Ferreira LL, Gomes-Filho JE, Ervolino E, Rahal V, Briso AL. The number of bleaching sessions influences pulp tissue damage in rat teeth. **J Endod** 2013 Dec;39(12):1576-80.

13. Cohen SC, Chase C. Human pulpal response to bleaching procedures on vital teeth. **J Endod.** 1979;5:134-8.
14. Costa CAS, Hebling J, Hanks CT. Current status of pulp capping with dentine adhesive systems: a review. **Dental Materials.** 2000;16:188-97.
15. Costa CAS, Riehl H, Kina JF, Sacono NT, Hebling J. Human pulp responses to the in-office tooth bleaching treatment. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 2010; 109, e59-64.
16. Dahl JE, Becher R. Acute toxicity of carbamide peroxide and a commercially available tooth-bleaching agent in rats. **J Dent Res.** 1995;74:710-4.
17. Dahl JE, Pallesen U. Tooth bleaching—a critical review of the biological aspects. **Crit Rev Oral Biol Med.** 2003;14:292-304.
18. Efeoglu N, Wood DJ, Efeoglu C. Thirty-five percent carbamide peroxide application causes in vitro demineralization of enamel. **Dent Mater.** 2007;23:900-4.
19. Esposito, P.; Varvara, G.; Murmura, G.; Terlizzi, A.; Caputi, S. Ability of healthy and inflamed human dental pulp to reduce hydrogen peroxide. **Eur J Oral Sciences.** 2003;111:454-6.
20. Frigo, L.; Pallota, R. C.; Meneguzzo, D.; Marcos, R. L.; Penna, S. C.; Lopes-Martins, R. A. B. Avaliação do efeito da clareação dentária fotoativada sobre a polpa dentária em modelo experimental de ratos. **Rev Dental Press Estét.** 2009 jan-mar; 6(1):102-114.
21. Fukuyama Y, Ohta K, Okoshi R, Kizaki H, Nakagawa K. Hydrogen peroxide induces expression and activation of AMP-activated protein kinase in a dental pulp cell line. **Int End J.** 2008; 41(3):197-203.
22. Goldberg M1, Grootveld M, Lynch E. Undesirable and adverse effects of tooth-whitening products: a review. **Clin Oral Investig.** 2010 Feb;14(1):1-10.
23. Goldstein RE, Garber DA. Complete Dental Bleaching. Chicago: Quintessence Books. 1995, 165p.
24. Hanks CT, Fat JC, Wataha JC, Corcoran JF. Cytotoxicity and dentin permeability of carbamide peroxide and hydrogen-peroxide vital bleaching materials, in vitro. **J Dent Res.** 1993;72:931-8.
25. 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.
26. Haywood VB, Heymann HO. Nightguard vital bleaching: how safe is it? **Quintessence Int.** 1991 july;22(7):515-23.

27. Haywood VB, Houck VM, Heymann HO. Nightguard vital bleaching: effects of various solutions on enamel surface texture and color. **Quintessence Int.** 1991;22:775–82.
28. Haywood VB, Leonard RH, Nelson CF, Brunson WD. Effectiveness, side effects and long term status of nightguard vital bleaching. **J Am Dent Assoc.** 1994;125:1219-26.
29. Hirata R, Santos PCG, Pereira JLN, Massaki RY. Clareação de dentes vitalizados: situação clínica atual. **JBC**, Curitiba. 1997 jan-fev;1(1):13-21.
30. Humphrey AM. Chlorophyll. **Food Chem.**1980;5:57.
31. Joiner A. The bleaching of teeth: a review of the literature. **J Dent.** 2006;34:412–9.
32. Kawamoto K, Tsujimoto Y. Effects of the hydroxyl radical and hydrogen peroxide on tooth bleaching. **J Endod.** 2004;30:45-50.
33. Kina JF, Huck C, Riehl H, Martinez TC, Sacono NT, Ribeiro AP, Costa CA. Response of human pulps after professionally applied vital tooth bleaching. **Int Endod J.** 2010 Jul;43(7):572-80.
34. Korytowski W, Sarna T. Bleaching of melain pigments. Role of copper ions and hydrogen peroxide in autooxidation and photoxidation of synthetic dopa-melanin. **J Biol Chem.** 1990; 265:12410-6.
35. Lee DH, Lim BS, Lee YK, Yang HC. Effects of hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) on alkaline phosphatase activity and matrix mineralization of odontoblast and osteoblast cell lines. **Cell Biol Toxic.** 2006; 22(1):39-46.
36. Leonard RH, Sharma A, Haywood VB. Use of different concentrations of carbamide peroxide for bleaching teeth: an in vitro study. **Quintessence Int.** 1998;29:503–7.
37. Lima, H. C. S. M. Efeitos da dieta hipoproteica na formação e composição de estruturas dentárias. Estudo experimental em ratos wistar. 2003. 65f. Tese (mestrado em biquímica) – Universidade federal do Rio Grande do Norte, 2003.
38. Markovic L, Jordan RA, Lakota N, Gaengler P. Micro-morphology of enamel surface after vital tooth bleaching. **J Endod.** 2007;33:607–10.
39. Martindale JL, Holbrook NJ. Cellular response to oxidative stress: signaling for suicide and survival. **J Cell Physiol.** 2002;192(1):1-15.
40. Mattos IL, Shiraishi KA, Braz AD, Fernandes JR. Peroxido de hidrogênio: importância e determinação. **QuimNova.** 2003;26:373-380.
41. McCracken MS, Haywood VB. Demineralization effects of 10 per cent carbamide peroxide. **J Dent.** 1996;24:395–8.
42. McEvoy, S. A. Chemical agents for removing intrinsic stains from vital teeth. I. Technique development. **Quintessence Int.** 1989;20(5):323-8.

43. Minoux M, Serfaty R. Vital tooth bleaching: biologic adverse effects-a review. **Quintessence Int.** 2008;39:645-59.
44. Nogueira S. O veneno do remédio. Efeitos nocivos limitam potenciais usos terapêuticos da curcumina. *Pesquisa FAPESP.* 2010; 168: 48-51.
45. Oltu Ü, Gürgan S. Effects of three concentrations of carbamide peroxide on the structure of enamel. **J Oral Rehabil.** 2000;27:332-40.
46. Pan Q, Qiu WY, Huo YN, et al. Low levels of hydrogen peroxide stimulate corneal epithelial cell adhesion, migration, and wound healing. **Invest Ophthalmol Vis Sci.** 2011;52:1723-34.
47. Patel NA, Patel NJ, Patel RP. Formulation and evaluation of curcumin gel for topical application. **Pharm Develop Technology.** 2009;14:80-9.
48. Penna LAP, Rode SM. Estudo morfológico da polpa de molares de ratos Wistar frente a uma oclusão traumática experimental. **Pesq Odont Bras.** 2000 abr/jun;14(2):159-164.
49. Portolani Júnior MV, Candido MSM. Efeito dos agentes clareadores sobre as estruturas dentais. **Rev Odontol UNESP, São Paulo.** 2005;34(2):91-4.
50. Reddy ACP, Lokesh BR. Studies on spice principles as antioxidants in the inhibition of lipid peroxidation of rat liver microsomes. **Mol Cell Biochem.** 1992;111:117-24.
51. Ribeiro APD, Sacono NT, Lessa FC, Nogueira I, Coldebella CR, Hebling J, Costa CAS. Cytotoxic effect of a 35% hydrogen peroxide bleaching gel on odontoblast-like MDPC-23 cells. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 2009 sep;108(3):458-64.
52. Riehl, H. Clareamento de dentes vitais e não vitais: uma visão crítica.. In: Fonseca AS. (Org.). *Odontologia Estética: a arte da perfeição.* 1 ed. São Paulo: ArtesMédicas, 2008; 1:499-565.
53. Sacono NT, Coldebella CR, Ribeiro APD, Soares DGS, Trindade FZ, Hebling J, Costa CAS. Efeito Citotóxico de Agentes Clareadores a Base de Peróxido de Hidrogênio a 20% e 38% sobre Células Odontoblastóides. **Rev Odontol Bras Central.** 2010;18(48):15-21.
54. Seale NS, McIntosh JE, Taylor AN. Pulpal reaction to bleaching of teeth in dogs. **J Dent Res.** 1981;80:948-53.
55. Seale NS, Wilson CFG. Pulpal response of bleaching of teeth in dogs. **Pediatr Dent.** 1985;7:209-14.
56. Seghi RR, Denry I. Effects of external bleaching on indentation and abrasion characteristics of human enamel in vitro. **J Dent Res.** 1992;71:1340-4.



57. Sharma S, Pawar S, Jain UK. Development and evaluation of topical gel of curcumin from different combination of polymers formulation & evaluation of herbal gel. **Int J Pharm Pharm Sci.** 2012;4:Suppl 4,452-6.
58. Sies H. Strategies of antioxidant defense. **Eur J Biochem.** 1993;215(2):213-9.
59. Simon HU, Haj-Yehia A, Levi-Schaffer F. Role of reactive oxygen species (ROS) in apoptosis induction. **Apoptosis.** 2000;5:415–8.
60. Srivastava RM, Singh S, Dubey SK, Misra K, Khar A. Immunomodulatory and therapeutic activity of curcumin. **Int Immunopharm.** 2011;331-41.
61. Sulieman, M.; Addy, M.; Rees, J. S. Surface and intra-pulpal temperature rises during tooth bleaching: an in vitro study. **Br Dent J.** 2005;199(1):37-40.
62. ten Bosch JJ, Coops JC. Tooth color and reflectance as related to light scattering and enamel hardness. **J Dent Res.** 1995;74:374-80.
63. Timblin CR, Janssen YWM, Mossman T. Transcriptional activation of the proto-oncogen c-jun by asbestos and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> is directly related to increased proliferation and transformation of tracheal epithelial cells. **Cancer Res.** 1995;55:2723–6.
64. Trindade FZ, Ribeiro APD, Sacono NT, Oliveira CF, Lessa FC, Hebling J, Costa CA. Trans-enamel and trans-dentinal cytotoxic effects of a 35% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> bleaching gel on cultured odontoblast cell lines after consecutive applications. **Int Endod J.** 2009 Jun;42(6):516-24.
65. Wennberg A, Mjör IA, Hensten-Pettersen A. Biological evaluation of dental restorative materials – a comparison of different methods. **J Biom Mat Res.** 1983;17:23–36.
66. White DJ, Kozak K, Zoladz JR, Duschner HJ, Götz H. Effects of Crest® Whitestrips™ bleaching on surface morphology and fracture susceptibility of teeth in vitro. **J Clin Dent.** 2003;14:82–7.
67. White DJ, Kozak KM, Zoladz JR, Duschner HJ, Götz H. Effects of tooth-whitening gels on enamel and dentin ultrastructure— a confocal laser scanning microscopy pilot study. **Compendium.** 2000;21:S29–S34.
68. White DJ, Kozak KM, Zoladz JR, Duschner HJ, Götz H. Peroxide interaction with hard tissues: effects on surface hardness and surface/subsurface ultrastructural properties. **Compendium.** 2002;23:42–8.
69. Wingvist L, Rannug U, Rannug A, et al. Protection front toxic and mutagenic effects of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> by catalase induction in Salmonella typhimurium. **Mutat Res.** 1984;141:145-7.
70. Yoon SO, Yun CH, Chung AS. Dose effect of oxidative stress on signal transduction inaging. **Mech Ageing Dev.** 2002;123:1597–604.

71. Zantner C, Beheim-Schwarzbach N, Neumann K, Kielbassa AM. Surface microhardness of enamel after different home bleaching procedures. **Dent Mater.** 2007;23:243–50.
72. Zhang D, Huang C, Yang C, Liu RJ, Wang J, Niu J, Brömme D. Antifibrotic effects of curcumin are associated with overexpression of cathepsins K and L in bleomycin treated mice and human fibroblasts. **Respiratory Research.** 2011;12:154.

## ANEXO

### Certificado da Aprovação da Comissão de Ética na Experimentação Animal



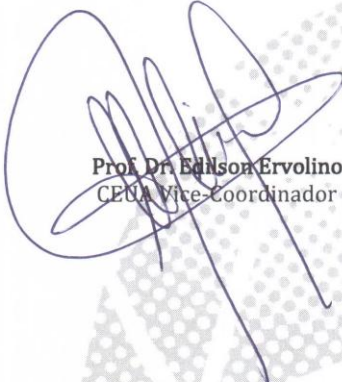
Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA)  
Committee for Ethical Use of Animals (CEUA)

#### CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto "Estudo in vivo do potencial anti-inflamatório de uma formulação de curcumina em gel em dentes de rato submetidos à clareação dentária" sob responsabilidade do Pesquisador **LUCIANO TAVARES ANGELO CINTRA** e colaboração de Ana Carolina Bosisio, Carla Renata Sipert e André Luiz Fraga Briso está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pelo CEUA, de acordo com o processo **00846-2012**.

#### CERTIFICATE

We certify that the research "In vivo study of the anti-inflammatory potencial of a gel formulation of curcumin on rat dental pulps subjected to dental bleaching", process number **00846-2012**, under responsibility of **LUCIANO TAVARES ANGELO CINTRA** and with collaboration of Ana Carolina Bosisio, Carla Renata Sipert and André Luiz Fraga Briso agree with Ethical Principles in Animal Research (COBEA) and was approved by CEUA.



Prof. Dr. Edilson Ervolino  
CEUA Vice-Coordinador

Faculdade de Odontologia e Faculdade de Medicina Veterinária – Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal – Rua Clóvis Pestana, 793 CEP 16050-680 Araçatuba – SP  
Tel (18) 3636-1440 Fax (18) 3636-1403 E-mail: fabianocadioli@fmva.unesp.br