

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 06/05/2022.



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



Rafael Antonio de Oliveira Ribeiro

**Eficácia clareadora, citotoxicidade trans-amelodentinária e cinética de
degradação de géis clareadores contendo óxido de manganês**

Araraquara

2020



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



Rafael Antonio de Oliveira Ribeiro

**Eficácia clareadora, citotoxicidade trans-amelodentinária e cinética de
degradação de géis clareadores contendo óxido de manganês**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Reabilitação Oral – Área de Prótese, da Faculdade de Odontologia de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Reabilitação Oral.

Orientador: Dr. Carlos Alberto de Souza Costa

Araraquara

2020

Ribeiro, Rafael Antonio de Oliveira

Eficácia clareadora, citotoxicidade trans-amelodentinária e cinética de degradação de géis clareadores contendo óxido de manganês / Rafael Antonio de Oliveira Ribeiro -- Araraquara: [s.n.], 2020.

63 f. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado em Reabilitação Oral) –
Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto de Souza Costa

1. Clareamento dental 2. Toxicidade 3. Odontoblastos
I. Título

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marley C. Chiusoli Montagnoli, CRB-8/5646

Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação

Rafael Antonio de Oliveira Ribeiro

Eficácia clareadora, citotoxicidade trans-amelodentinária e cinética de degradação de géis clareadores contendo óxido de manganês

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Reabilitação Oral

Comissão Julgadora

Presidente e Orientador: Dr. Carlos Alberto de Souza Costa

2º Examinador: Prof. Dr. André Luís Fraga Briso

3º Examinador: Prof Dr. Gelson Luis Adabo

Araraquara, 06 de maio de 2020

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.

Dedicatória

Aos meus pais, Severino e Nelma,

Aos meus pais, que são minhas raízes, meu porto seguro, minhas maiores fontes de inspiração; agradeço por todas as oportunidades e pelos ensinamentos proporcionados. Sem vocês nada disso seria possível. Amo muito vocês!

Ao meu irmão Rodrigo,

Agradeço a oportunidade de poder conviver com você de sermos amigos. Você é meu alicerce e meu braço direito; minha admiração pela sua grandiosidade infinita. Te amo muito!

À minha avó Marina,

À minha avó Marina (*in memoriam*), por todo cuidado, amor e carinho que sempre teve comigo; por despertar em mim a sede por conhecimento e hoje ser minha estrela guia. Por você, amor eterno.

Agradecimentos Especiais

Ao **Dr. Carlos Alberto de Souza Costa**, sua orientação foi extremamente valiosa para o meu crescimento pessoal e profissional; obrigado por ter aberto as portas do Laboratório de Patologia Experimental e Biomateriais, bem como do Departamento de Fisiologia e Patologia da FOAr-UNESP, para que eu pudesse trabalhar no desenvolvimento deste e de outros projetos de pesquisa. Muito obrigado!

À **Profa. Dra. 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!

Agradeço imensamente à **Profa. Dra. Fernanda Gonçalves Basso** que ajudou no desenvolvimento deste trabalho de pesquisa; obrigado por todas sugestões e contribuições.

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!

Aos meus amigos de laboratório **Roberto, Carol, Igor, Isabela, Fernanda Ali, Taísa, Laís e Larissa** por todos os momentos vividos, pelas conversas e pela ajuda em algum momento no desenvolvimento deste trabalho. Obrigado pela convivência e por todo aprendizado neste período

Aos meus amigos **Aída, Rhyan, Gabriela, Juliana e Marcela** vocês mesmo que distante foram um ponto de apoio ao longo de todo período do mestrado. Muito obrigado pelos conselhos e pelo crescimento proporcionado. Amo vocês!

À minha amiga **Luana**, companheira durante Mestrado em Reabilitação Oral, do Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese, da FOAr-UNESP, pela convivência e também pelas conversas e risadas. Sua companhia foi fundamental neste período e trouxe muita leveza ao dia a dia.

Às minhas amigas **Lays e Maria Luísa**; vocês foram como irmãs, me ajudaram durante os momentos que eu mais precisei, agradeço pela oportunidade maravilhosa que foi conviver com vocês todos os dias. Amo muito vocês!

Às minhas companheiras de pesquisa e amigas **Carla e Uxua**, vocês foram fundamentais para realização desse estudo, vocês foram uma fonte constante de ensinamento e admiração. Obrigado pela amizade, carinho e tempo dedicado. Amo vocês!

À **família Denois**, por terem me acolhido e por se tornarem a minha segunda família aqui em Araraquara. Muito obrigado por tudo! Amo vocês!

À família **Ribeiro e Cabral**, com todos os tios(as), primos(as) que sempre foram meu alicerce e meu motivo para persistir, especialmente meus primos **Isavane, Pablo, Paloma, Patrícia, Italo, Antonio, Jessyca, Vitória, Thayná, Nelson, Mateus e Neilton** que sempre me apoiaram com um amor incondicional. Vocês foram e são essenciais em todas as minhas conquistas. Amo muito vocês!

Agradecimentos

À **Faculdade de Odontologia de Araraquara (FOAr-UNESP)**, representado por seu diretor Prof. Dr. Edson Alves de Campos e vice-diretora Prof^a. Dr^a. Patrícia P. Nordi Sasso Garcia, que através de todos os seus professores, funcionários e alunos que foram fundamentais em minha formação profissional.

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, onde esta pesquisa foi realizada.

Ao **Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese da FOAr-UNESP**. A todos os professores e funcionários, agradeço pela disponibilidade, presteza e respeito que sempre tiveram comigo. Muito obrigada por tudo!

Ao **Programa de Pós-Graduação em Reabilitação Oral, do Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese da FOAr-UNESP**, representado pela coordenadora Prof^a. Dr^a. Ana Claudia Pavarina e vice-coordenadora Prof^a. Dr^a. Daniela Aparecida de Godoi Gonçalves, por toda acessibilidade durante este período.

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

À **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP** (processo: 2018/14457-6), pelo apoio financeiro essencial para realização dessa pesquisa.

Ribeiro RAO. Eficácia clareadora, citotoxicidade trans-amelodentinária e cinética de degradação de géis clareadores contendo óxido de manganês. [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2020.

RESUMO

Objetivo: Avaliar a eficácia clareadora, citotoxicidade e cinética de degradação de géis clareadores contendo 10% e 35% de H₂O₂ ativados quimicamente com óxido de manganês (MnO). **Métodos:** Discos de esmalte e dentina foram manchados e então submetidos ao clareamento com os géis associados a um espessante experimental contendo ou não MnO. Como controle positivo, um gel com 35% de H₂O₂ foi aplicado por 45 minutos sobre o esmalte, sendo que no controle negativo nenhum tratamento foi realizado. Para determinar a melhor concentração de MnO quanto a eficácia clareadora dos géis (espectrofotômetro de reflexão-UV, sistema CIE L*a*b*), discos manchados foram clareados com géis contendo 2 mg/mL, 6 mg/mL ou 10 mg/mL do catalisador. Para análise de viabilidade celular (MTT e MEV) e estresse oxidativo, o clareamento foi realizado sobre discos manchados adaptados em câmaras pulpares artificiais, sendo os extratos (meio de cultura em contato com a dentina + componentes dos géis que se difundiram pelos discos) coletados e aplicados por 1 h sobre células MDPC-23. A quantificação de H₂O₂ difundido pelos discos também foi determinada (violeta leuco-cristal/peroxidase). A melhor concentração do catalisador foi utilizada para as análises de cinética de degradação. Os dados numéricos obtidos foram submetidos à análise estatística específica (ANOVA; Tukey). **Resultados:** Aumento da eficácia clareadora com a adição de MnO foi observado para ambas as concentrações de H₂O₂ nos géis. A adição do catalisador nos géis reduziu a difusão trans-amelodentinária de H₂O₂ residual, o estresse oxidativo e conseqüentemente os efeitos tóxicos dos tratamentos, independente da concentração de H₂O₂ presente nos produtos. Esses efeitos positivos foram mais evidentes com a incorporação de 10mg/mL de MnO aos géis clareadores, o que também aumentou significativamente a produção de radicais livres e radicais hidroxila (cinética de degradação). **Conclusão:** Foi possível concluir que a adição do catalisador MnO em géis clareadores com 10% e 35% de H₂O₂ favorece a

produção de radicais livres e radical hidroxila, aumenta a eficácia clareadora dos produtos, bem como diminui o estresse oxidativo e toxicidade trans-amelodentinária sobre células pulpares.

Palavras-Chave: Clareamento dental. Toxicidade. Odontoblastos.

Ribeiro RAO. Bleaching efficacy, transenamel and transdental cytotoxicity and degradation kinetics of bleaching gels containing manganese oxide [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2020.

ABSTRACT

Objective: Assess the aesthetic outcome, transenamel and transdental toxicity as well as degradation kinetics of bleaching gels with 10% and 35% H₂O₂ chemically activated with manganese oxide (MnO). **Methods:** Enamel-dentin discs were stained and bleached with gels associated with an experimental thickener containing or not MnO. As positive and negative controls, gel with 35% H₂O₂ was applied on enamel for 45 minutes or no treatment was performed, respectively. To determine the best concentration of MnO (2 mg/mL, 6 mg/mL and 10 mg/mL) concerning the aesthetic outcome, the discs were stained with black tea and then bleached with the experimental gels (UV-reflecting spectrophotometer, CIE L * a *B* system). For cell viability (MTT assay) and oxidative stress analysis, the bleaching protocols were performed on discs adapted to artificial pulp chambers and the extracts (culture medium in contact with dentin surface + components of the bleaching gels that diffused across the discs) were collected and applied for 1 h on odontoblast-like MDPC-23 cells. The quantification of H₂O₂ diffused through the discs was also determined (leuco-crystal violet/peroxidase assay). The numerical data were submitted to specific statistical analysis (ANOVA; Tukey). **Results:** Increased aesthetic outcome was achieved with the addition of MnO to both concentrations of H₂O₂ in the bleaching gels. However, this effect was more significant for the concentration of 10 mg/mL of MnO. Disregarding the concentration of H₂O₂ in the bleaching gels, the addition of MnO in the composition of such products reduced significantly the transenamel and transdental diffusion of residual H₂O₂, the oxidative stress and consequently the cytotoxicity of the procedures to the pulp cells. These positive data were more evident with the addition of 10mg/mL of MnO to the bleaching gels, what also increased significantly the production of free radicals and hydroxyl radicals (degradation kinetics). **Conclusion:** It was possible to conclude that the

production of free radicals and radical hydroxyl, enhances the aesthetic outcome, as well as reduces the oxidative stress and toxicity to pulp cells.

Key-words: Tooth bleaching. Toxicity. Odontoblasts

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DA LITERATURA	18
3 PROPOSIÇÃO.....	23
3.1 Proposição Geral	23
3.2 Proposições Específicas	23
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	24
4.1 Avaliação da Eficácia Clareadora dos Géis Contendo Diferentes Concentrações Catalisador MnO	24
4.1.1 Avaliação da eficácia clareadora de diferentes concentrações do ativador químico MnO presentes no espessante experimental.....	24
4.1.2 Formulação dos agentes clareadores contendo 10% e 35% de H₂O₂.....	24
4.1.3 Obtenção dos discos de esmalte e dentina.....	25
4.1.4 Padronização da cor inicial dos discos.....	25
4.1.5 Avaliação da eficácia clareadora.....	26
4.2 Avaliação da Citotoxicidade Trans-amelodentinária das Novas Formulações para Clareamento.....	27
4.2.1 Cultura de células odontoblastóides MDPC-23.....	27
4.2.2 Obtenção dos espécimes.....	27
4.2.3 Procedimento experimental.....	28
4.2.4 Viabilidade celular (Teste de MTT)	29
4.2.5 Morfologia celular (MEV)	30
4.2.6 Análise do estresse oxidativo	31
4.2.7 Quantificação do H₂O₂ presente nos extratos	31
4.3 Avaliação da Cinética de Degradação das Formulações de Géis Clareadores Contendo 10mg/mL de MnO.....	31
4.3.1 Avaliação da produção de radicais livres e radical hidroxila (HO[•]) nos géis clareadores.....	31

4.4 Análise Estatística	32
5 RESULTADOS	33
5.1 Eficácia Clareadora dos Géis Clareadores Contendo as Diferentes concentrações de MnO.....	33
5.1.1 Características dos géis clareadores contendo MnO.....	33
5.1.2 Eficácia clareadora dos géis clareadores contendo MnO.....	35
5.2 Viabilidade Celular	38
5.3 Morfologia Celular.....	41
5.4 Estresse Oxidativo.....	43
5.5 Difusão Trans-amelodentinária de H₂O₂.....	45
5.6 Cinética de Degradação.....	48
6 DISCUSSÃO.....	50
7 CONCLUSÕES	56
REFERÊNCIAS	57

1 INTRODUÇÃO

A elevada prevalência de sensibilidade pós-clareamento dental, caracterizada como uma das principais reações adversas deste tipo de terapia, parece estar associada à presença de elevadas concentrações de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) na formulação dos géis, particularmente naqueles comumente usados em consultório. O H_2O_2 é uma espécie reativa derivada do oxigênio (ERO) que ao entrar em contato com a superfície dental sofre uma reação de oxi-redução, podendo se dissociar em outras EROs ainda mais reativas e instáveis eletronicamente, tais como íon peri-hidroxila (HO_2^-), ânion superóxido (O_2^-), oxigênio singleto (O^-) e radical hidroxila (HO^\bullet). Dentre essas espécies químicas, o radical HO^\bullet é o que apresenta maior potencial de oxidação ($E^\circ = +2,8V$); sendo assim, esta molécula altamente instável tem capacidade para interagir e degradar compostos orgânicos, dentre eles os cromóforos presentes nos tecidos duros de dentes escurecidos^{1,2}.

Estudos laboratoriais demonstraram que algumas terapias clareadoras reduzem a viabilidade celular³⁻⁸, bem como induzem estresse oxidativo, o que pode resultar em ruptura da membrana citoplasmática das células^{7,8}. Além disso, estudos in vivo, realizados em dentes humanos vitais, demonstraram que o emprego de géis clareadores de consultório causa áreas de necrose parcial da polpa coronária, associado à inflamação do tecido remanescente⁹⁻¹¹. Esta resposta tecidual indesejada pode resultar em aumento na pressão intrapulpar e estimulação das fibras nervosas da polpa, levando ao quadro clínico de hipersensibilidade dental¹². Dessa forma, reduzir a concentração de H_2O_2 nos agentes clareadores e/ou mesmo estimular a catálise imediata desta molécula, seriam ações interessantes no sentido de evitar, ou pelo menos reduzir, os possíveis efeitos tóxicos resultantes do procedimento clareador e a consequente ocorrência de um quadro clínico de hipersensibilidade pós-clareamento.

Dentro deste contexto, uma estratégia promissora, neste momento, seria tentar maximizar a liberação de radicais HO^\bullet , visto que estudos prévios demonstraram que resultados estéticos positivos têm sido alcançados através do emprego da técnica de catálise química do H_2O_2 ^{3,13,14}. Assim, baseado no

conceito dos processos oxidativos avançados (POAs), onde agentes altamente oxidantes e capazes de promover maior formação de radicais HO• são usados para decompor estruturas orgânicas de difícil degradação¹⁵, surge a hipótese que este mesmo conceito também possa ser empregado na Odontologia para formular agentes clareadores mais efetivos. Além disso, pesquisas anteriores aplicadas no campo da Odontologia Estética indicaram que a adição de agentes oxidantes em géis clareadores pode aumentar a formação de radicais HO•^{3,1314,16}.

A utilização de óxidos metálicos como semicondutores em processos catalíticos para degradação de pigmentos tem sido avaliada há algum tempo e tem-se encontrado resultados positivos pela capacidade de acelerar os processos de degradação de moléculas oxidantes, como o peróxido de hidrogênio^{17,18}. Apesar dos óxidos de titânio e ferro serem os óxidos metálicos semicondutores mais estudados, sabe-se que o óxido de manganês (MnO) é capaz de catalisar a reação de decomposição do H₂O₂ via mecanismo de formação de radicais livres em cadeia, possui baixo custo e ampla disponibilidade¹⁷. Além disso, o MnO também exibe considerável capacidade catalítica em reações de oxi-redução e peroxidação de pigmentos^{17,18}.

Assim, baseado nos importantes dados científicos já estabelecidos com relação ao uso de diferentes catalisadores químicos associados ao H₂O₂, bem como no fato de que o MnO apresenta baixo custo, pode favorecer o resultado estético e minimizar os efeitos tóxicos do clareamento dental, o objetivo do presente estudo foi avaliar a eficácia estética, citotoxicidade trans-amelodentinária e a cinética de degradação do H₂O₂ de géis clareadores com 10% e 35% de H₂O₂, ativados quimicamente com diferentes concentrações de MnO.

7 CONCLUSÕES

- A presença de MnO nos géis clareadores com 10% e 35% de H₂O₂ aumentou significativamente a eficácia clareadora dos produtos, sobretudo após a incorporação de 10 mg/mL deste ativador químico nos géis. Eficácia clareadora similar àquela alcançada com o gel de consultório foi obtida quando 10 mg/mL de MnO foi incorporada ao gel com 10% de H₂O₂, sendo que este resultado estético foi ainda superior quando os géis com 35% de H₂O₂ receberam esta mesma concentração do catalisador;
- A concentração de 10mg/mL de MnO adicionada aos géis clareadores reduziu a difusão trans-amelodentinária de H₂O₂ residual, diminuindo o estresse oxidativo celular e consequentemente a citotoxicidade dos produtos, independente da concentração de H₂O₂ presente nos géis;
- A incorporação de 10 mg/mL do catalisador MnO nos géis clareadores com 10% e 35% de H₂O₂ potencializou a cinética de degradação desta molécula oxidante, resultando em aumento significativo da produção de radicais livres e hidroxila.

REFERÊNCIAS*

1. Ubaldini AL, Baesso ML, Medina Neto A, Sato F, Bento AC, Pascotto RC. Hydrogen peroxide diffusion dynamics in dental tissues. *J Dent Res.* 2013; 92(7): 661-5.
2. Carey CM. Tooth whitening: what we now know. *J Evid Based Dent Pract.* 2014; 14: 70-6.
3. Duque CC, Soares DG, Basso FG, Hebling J, de Souza Costa CA. Bleaching effectiveness, hydrogen peroxide diffusion, and cytotoxicity of a chemically activated bleaching gel. *Clin Oral Investig.* 2014; (18): 1631-7.
4. Soares DG, Ribeiro AP, Sacono NT, Coldebella CR, Hebling J, Costa CA. Transenamel and transdental cytotoxicity of carbamide peroxide bleaching gels on odontoblast-like MDPC-23 cells. *Int Endod J.* 2011; 44(2): 116-25.
5. Soares DG, Ribeiro AP, da Silveira Vargas F, Hebling J, de Souza Costa CA. Efficacy and cytotoxicity of a bleaching gel after short application times on dental enamel. *Clin Oral Investig.* 2013a; 17(8): 1901-9.
6. 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.* 2013b; 42(3): 351-8.
7. Soares DG, Basso FG, Hebling J, de Souza Costa CA. Immediate and late response of dental pulp stem cells exposed to alternatives in-office bleaching strategies. *Clin Oral Invest.* 2014; 19(5): 1013-20.
8. 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.
9. de Souza Costa CA, Riehl H, Kina JF, Sacono NT, Hebling J. Human pulp responses to in-office tooth bleaching. *Oral Surg Oral Med Pathol Oral Radiol Endod.* 2010; 109: 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-normalizacaoatualizado.pdf>

10. Roderjan DA, Stanislawczuk R, Hebling J, de Souza Costa CA, Soares DG, Reis A, et al. Histopathological Features of dental pulp tissue from bleached mandibular incisors. *J Mater Sci Engineer B*. 2014; 6: 178-85.
11. Roderjan DA, Stanislawczuk R, Hebling J, de Souza Costa CA, Reis A, Loguercio AD. Response of human pulps to different in-office bleaching techniques: preliminary findings. *Braz Dent J*. 2015; 26(3): 242-8.
12. Pashley DH. How can sensitive dentine become hypersensitive and can it be reversed? *J Dent*. 2013; 41: S49-S55.
13. Torres CR, Wiegand A, Sener B, Attin T. Influence of chemical activation of a 35% hydrogen peroxide bleaching gel on its penetration and efficacy in vitro study. *J Dent*. 2010; 38(10): 838-46.
14. 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.
15. Guan R, Yuan X, Wu Z, Jiang L, Li Y, Zeng G. Principle and application of hydrogen peroxide based advanced oxidation processes in activated sludge treatment: A review. *Chem Engineer J*. 2018; 339: 519-30.
16. Torres CR, Souza CS, Borges AB, Huhtala MF, Caneppele TM. Influence of concentration and activation on hydrogen peroxide diffusion through dental tissues in vitro. *ScientificWorldJournal*. 2013; 2013: 193241.
17. Andreozzi R, Insola A, Caprio V, Marotta R, Tufano V. The use of manganese dioxide as a heterogeneous catalyst for oxalic acid ozonation in aqueous solution. *Appl Catal A: Gen*. 1996; 138(1): 75-81.
18. Gemeay AH, Mansour IA, El-Sharkawy RG, Zaki AB. Preparation and characterization of polyaniline/manganese dioxide composites via oxidative polymerization: Effect of acids. *Eur Polym J*. 2005; 41(11): 2575-83.
19. Perdigão J. Dental whitening – revisiting the myths. *Northwest Dent*. 2010; 89(6): 19-21.

20. Briso ALF, Rahal V, Gallinari MO, Soares DG, de Souza Costa CA. Complications from the use of peroxides. In: Perdigão J, editor. Tooth whitening. Switzerland: Springer; 2016. p. 45-79.
21. Williams HA, Rueggeberg FA, Meister LW. Bleaching the natural dentition to match the color of existing restorations: case reports. *Quintessence Int.* 1992; 23(10): 673–77.
22. Martin J, Vildosola P, Bersezio C, Herrera A, Bortolatto J, Saad JRC, et al. Effectiveness of 6% hydrogen peroxide concentration for tooth bleaching: a double-blind, randomized clinical trial. *J Dent.* 2015; 43(8): 965-72.
23. Vildosola P, Vera F, Ramirez J, Rencoret J, Pretel H, Oliveira OB Jr, et al. Comparison of effectiveness and sensitivity using two in-office bleaching protocols for a 6% hydrogen peroxide gel in a randomized clinical trial. *Oper Dent.* 2017; 42(3): 244-52.
24. Christesenn GJ. Are snow-white teeth really so desirable?. *J Am Dent Assoc.* 2005; 136(7): 933-5.
25. Reis A, Dalanhol AP, Cunha TS, Kossatz S, Loguercio AD. Assessment of tooth sensitivity using a desensitizer before light activated bleaching. *Oper Dent.* 2011; 36(1): 12-7.
26. Reis A, Tay LY, Herrera DR, Kossatz S, Loguercio AD. Clinical effects of prolonged application time of an in-office bleaching gel. *Oper Dent.* 2011; 36(6): 590-6.
27. Kossatz S, Dalanhol AP, Cunha T, Loguercio A, Reis A. Effect of light activation on tooth sensitivity after in-office bleaching. *Oper Dent.* 2011; 36(3): 251-7.
28. de Almeida LC, de Souza Costa CA, Riehl H, dos Santos PH, Sundfeld RH, Briso AL. Occurrence of sensitivity during at-home and in-office tooth bleaching therapies with or without use of light sources. *Acta Odontol Latinoam.* 2012; 25(1): 3-8.
29. Tay LY, Kose C, Herrera DR, Reis A, Loguercio AD. Long-term efficacy of in-office and at-home bleaching: a 2-year double-blind randomized clinical trial. *Am J Dent.* 2012; 25(4): 199-204.
30. Martin J, Fernandez E, Bahamondes V, Werner A, Elphick K, Oliveira OB Jr, Moncada G. Dentin hypersensitivity after teeth bleaching with in-office systems: randomized clinical trial. *Am J Dent.* 2013; 26(1): 10-4.

31. de Paula EA, Nava JA, Rosso C, Benazzi CM, Fernandes KT, Kossatz S, Loguercio AD, Reis A. In-office bleaching with a two-and seven-day intervals between clinical sessions: a randomized clinical trial on tooth sensitivity. *J Dent.* 2015; 43(4): 424-9.
32. Goldberg M, Grootveld M, Lynch E. Undersirable and adverse effects of tooth whitening products: a review. *Clin Oral Investig.* 2010; 14(1): 1-10.
33. Cvikl B, Lussi A, Moritz A, Flury S. Enamel surface changes after exposure to bleaching gels containing carbamide peroxide or hydrogen peroxide. *Oper Dent.* 2016; 41(1): E39-47.
34. Ferreira AF, Perez FM, Júnior F de A, Moura M de F, Sousa FB. Graded changes in enamel component volumes resulted from a short tooth bleaching procedure. *Arch Oral Biol.* 2016; 65: 52-8.
35. Soares DG, Marcomini N, Basso FG, Pansani TN, Hebling J, de Souza Costa CA. Indirect cytocompatibility of a low-concentration hydrogen peroxide bleaching gel to odontoblast-like cells. *Int Endod J.* 2016; 49(1): 26-36.
36. de Souza Costa CA, Hebling J, Scheffel DL, Soares DG, Basso FG, Ribeiro AP. Methods to evaluate and strategies to improve the biocompatibility of dental materials and operative techniques. *Dent Mater.* 2014; 30(7): 769-84.
37. Marson FC, Gonçalves RS, Silva CO, Cintra LT, Pascotto RC, Santos PH, et al. Penetration of hydrogen peroxide and degradation rate of different bleaching products. *Oper Dent.* 2015; 40(1): 72-9.
38. Markowitz K. Pretty painful: why does tooth bleaching hurt? *Med Hypotheses.* 2010; 74(5): 835-40.
39. Moncada G, Sepúlveda D, Elphick D, Contente M, Estay J, Bahamondes V, et al. Effects of light activation, agent concentration and tooth thickness on dental sensitivity after bleaching. *Oper Dent.* 2013; 38(5): 467-76.
40. Özcan M, Abdin S, Sipahi C. Bleaching induced tooth sensitivity: do the existing enamel craze lines increase sensitivity? a clinical study. *Odontology.* 2014; 102(2): 197-202.

41. Bortolatto JF, Pretel H, Floros MC, Luizzi AC, Dantas AA, Fernandez E, et al. Low concentration H₂O₂/TiON in office bleaching a randomized clinical trial. *J Dent Res.* 2014; 93(7 Suppl): 66S-71S.
42. Vildósola P, Bottner J, Avalos F, Godoy I, Martín J, Fernández E. Teeth bleaching with low concentrations of hydrogen peroxide (6%) and catalyzed by LED blue (450±10 nm) and laser infrared (808±10 nm) light for in-office treatment: Randomized clinical trial 1-year follow-up. *J Esthet Restor Dent.* 2017; 29(5): 339-45.
43. Al-Omiri MK., Al Nazeh AA, Kielbassa AM, Lynch E. Randomized controlled clinical trial on bleaching sensitivity and whitening efficacy of hydrogen peroxide versus combinations of hydrogen peroxide and ozone. *Sci Rep.* 2018; 8(1): 2407.
44. 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.
45. Bveris A. Biochemistry of radicals: from electron to tissues. *Medicine.* 1998; 58(4): 350-6.
46. 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.
47. Schrank SG, José HJ, Moreira RF, Schröder HF. Applicability of Fenton and H₂O₂/UV reactions in the treatment of tannery wastewaters. *Chemosph.* 2005; 60(5): 644-55.
48. Suty H, De Traversay C, Cost M. Applications of advanced oxidation processes: present and future. *Water Sci Technol.* 2004; 49(4): 227-33.
49. Vandieken V, Pester M, Finke N, Hyun JH, Friedrich MW, Loy A, Thamdrup B. Three manganese oxide-rich marine sediments harbor similar communities of acetate-oxidizing manganese-reducing bacteria. *ISME J.* 2012; 6(11): 2078-90.
50. Najafpour MM, Abbasi Isaloo M. The mechanism of water oxidation catalyzed by nanolayered manganese oxides: New insight. *J Photochem Photobiol B.* 2015; 152(Pt A): 133-8.

51. Johnson JE, Savalia P, Davis R, Kocar BD, Webb SM, Nealson KH, et al. Real-time manganese phase dynamics during biological and abiotic manganese oxide reduction. *Environ Sci Technol*. 2016; 50(8): 4248-58.
52. Huang HH, Lu MC, Chen JN, Lee CT. Catalytic decomposition of hydrogen peroxide and 4-chlorophenol in the presence of modified activated carbons. *Chemosphere*. 2003; 51(9): 935-43.
53. Sun B, Guan X, Fang J, Tratnyek PG. Activation of manganese oxidants with bisulfite for enhanced oxidation of organic contaminants: the involvement of Mn(III). *Environ Sci Technol*. 2015; 49(20): 12414-21.
54. Liu CL, Sun WT, Liao W, Lu WX, Li QW, Jeong Y, et al. Colour stabilities of three types of orthodontic clear aligners exposed to staining agents. *Int J Oral Sci*. 2016; 8(4): 246-53.
55. Bent DV, Hayon E. Excited state chemistry of aromatic amino acids and related peptides: II. Phenylalanine. *J Am Chem Soc*. 1975; 97(10): 2606-12.
56. Moreira JC; Gallinari M de O, Rahal V, Fagundes TC, Santos PH, Moura MR, Briso AL. Effect of dental pigmentation intensity on the transenamel and transdental penetration of hydrogen peroxide. *Braz Dent J*. 2016; 27(4), 399-403.
57. 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.
58. 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.
59. Bergendi L, Benes L, Duracková Z, Ferencik M. Chemistry, physiology and pathology of free radicals. *Life Sci*. 1999; 65(18-19): 1865-74.
60. Winterbourn CC. The biological chemistry of hydrogen peroxide. *Methods Enzymol*. 2013; 528: 3-25.

61. Sulieman M, Addy M, MacDonald E, Rees JS. The effect of hydrogen peroxide concentration on the outcome of tooth whitening: an in vitro study. *J Dent.* 2004; (32): 295-9.
62. Berglund GI, Carlsson GH, Smith AT, Szöke H, Henriksen A, Hajdu J. The catalytic pathway of horseradish peroxidase at high resolution. *Nature.* 2002; 417(6887): 463-8.
63. 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(5): 1013-20.
64. Cintra LT, Benetti F, da Silva Facundo AC. The number of bleaching sessions influences pulp tissue damage in rat teeth. *J Endod* 2013; (39): 1576-80.
65. Sato C, Rodrigues FA, Garcia DM, Vidal CM, Pashley DH, Tjäderhane L, Carrilho MR, Nascimento FD, Tersariol IL. Tooth bleaching increases dentinal protease activity. *J Dent Res.* 2013; (92): 187-92.
66. Cooper PR1, Takahashi Y, Graham LW, Simon S, Imazato S, Smith AJ. Inflammation-regeneration interplay in the dentine-pulp complex. *J Dent.* 2010; (38): 687-97.
67. Cooper PR1, Holder MJ2, Smith AJ. Inflammation and regeneration in the dentin-pulp complex: a double-edged sword. *J Endod.* 2014; (40): S46-51.
68. Berglund GI, Carlsson GH, Smith AT, Szöke H, Henriksen A, Hajdu J. The catalytic pathway of horseradish peroxidase at high resolution. *Nature.* 2002; 417(6887): 463-8.
69. Veitch NC. Horseradish peroxidase: a modern view of a classic enzyme. *Phytochemistry.* 2004; 65(3): 249-59.