

**DOI:** 10.29166/odontologia.vol22.n1.2020-5-20

**URL:** <http://revistadigital.uce.edu.ec/index.php/odontologia/article/view/2117>

**PÁG:** 5-20

**EDICIÓN:** Volumen 22, numero 1 (2020), Ecuador

**EDITORIAL:** Revista Odontología, Facultad de Odontología,  
Universidad Central del Ecuador

**ISSN:** (on-line) 1390-7468 - (electrónico) 1390-9967



**ODONTOLOGÍA**

## ARTÍCULO CIENTÍFICO

### **Penetración en la cámara pulpar del blanqueamiento dental con peróxido de carbamida a diferentes concentraciones**

**Penetration in the pulp chamber of dental whitening with carbamide peroxide to different concentrations**

**Penetração na câmara pulpar do clareamento dental com peróxido de carbamida a diferentes concentrações**

**Erika Paola Herrera Jácome<sup>1</sup>; David Sebastián Flores Cuví<sup>2</sup>; Dennys Paul Almachi Villalba<sup>3</sup>;  
Pablo Rubén Garrido Villavicencio<sup>4</sup>**

**RECIBIDO:** 18/10/2019 **ACEPTADO:** 29/12/2019 **PUBLICADO:** 01/01/2020

1. Odontologa Egresada de la Universidad Central del Ecuador; Quito, Ecuador; erika\_pao\_94@hotmail.com
2. Estudiante Posgrado Rehabilitación Oral; Universidad Central del Ecuador; Quito, Ecuador; davidflores8812@hotmail.com
3. Técnico de laboratorio de Nanoestructuras de la Universidad Central del Ecuador; Quito, Ecuador; dpalmachi@uce.edu.ec
4. Docente Universidad Central del Ecuador; Quito, Ecuador; pgarrido@uce.ec

#### **CORRESPONDENCIA**

**Pablo Garrido**

Facultad de Odontología, Universidad Central del Ecuador. Av. América y Universitaria s/n.  
Quito, Ecuador..

**pgarrido@uce.edu.ec**

## RESUMEN

Los agentes utilizados en blanqueamiento dental provocan una respuesta inflamatoria de la pulpa, que depende de la concentración y el tiempo de aplicación de la sustancia empleada. **Objetivo:** Evaluar el nivel de penetración del blanqueamiento a base de peróxido de carbamida a diferentes concentraciones: 10, 20 y 35% dentro de la cámara pulpar. **Materiales y métodos:** Se utilizaron 120 terceros molares humanos extraídos, divididos aleatoriamente en cuatro grupos (n= 30): grupo A: control; grupo B: 10% gel de Peróxido de carbamida (CP del inglés carbamide peroxide); grupo C: 20% gel CP y grupo D: 35% gel CP. Los dientes se cortaron 2 mm por debajo del límite amelocementario con una máquina de corte, se colocó buffer de acetato en la cámara pulpar y se aplicó por 40 minutos el agente clareador una sola vez. Los dientes se mantuvieron a temperatura ambiente (25°C) durante el proceso. La penetración de CP se estimó con cristal violeta y peroxidasa de rábano picante, en un espectrofotómetro de absorbancia. Los datos fueron analizados mediante las pruebas estadísticas ANOVA complementada con el test post hoc de Tukey con un grado de significancia al 5%. **Resultados:** Las medias obtenidas para el Grupo B fueron de 0,062 mg ( $\pm 0,018$ ), para el Grupo C fueron de 0,063 mg ( $\pm 0,017$ ), y para el Grupo D fueron de 0,086 mg ( $\pm 0,024$ ). Existiendo diferencia significativa ( $p = <0,05$ ) del grupo D con relación a los otros grupos. **Conclusión:** la penetración de CP en la cavidad pulpar depende de la concentración, siendo mayor en concentración al 35%.

**Palabras clave:** Cavidad pulpar, pulpa dental, blanqueamiento de dientes, peróxido de carbamida; peróxido de hidrógeno.

## ABSTRACT

The elimination of calcium hydroxide in the root canal is decisive for the success of endodontic treatment, the remnants can interact negatively with endodontic sealants increasing filtrations and decreasing the quality of the seal. **Objective:** To evaluate the effect of intra-duct medication with calcium hydroxide paste on the penetration of the sealing cement inside the dentinal tubules. **Materials and methods:** 20 distal roots of upper molars were instrumented using the Wave One Large 40 / .08 System. They were randomly divided into two groups: one sealed with a single cone technique and Ah plus cement with rhodamine-B and another sealed with the same technique and Ah plus cement with rhodamine B, previous placement for 15 days and removal by recapping the paste calcium hydroxide. Subsequently, the teeth were cut transversely and photomicrographs of the cervical, middle and apical third were performed using the laser scanning confocal microscopy technique. The maximum depth of penetration was determined through the Image J program. **Results:** The Ah plus sealing cement had lower penetration values when the calcium hydroxide paste was previously used as an intra-channel medication ( $p <0,01$ ). The third of the duct with the highest penetration was the cervical third followed by the middle third and finally the apical ( $p <0,01$ ). **Conclusion:** Remaining calcium hydroxide decreases the penetration of the sealing cement Ah plus in the dentinal tubules in all thirds of the root canal.

**Keywords:** Calcium hydroxide; sealing cement; tubular penetration; confocal laser microscopy.

## RESUMO

Os agentes utilizados no clareamento dos dentes estimulam uma resposta inflamatória da polpa, o que depende da concentração e do tempo de aplicação da substância utilizada. **Objetivo:** Avaliar o nível de penetração do clareamento à base de peróxido de carbamida em diferentes concentrações: 10, 20 e 35% no interior da câmara pulpar. **Materiais e métodos:** foram utilizados 120 terceiros molares humanos extraídos, divididos aleatoriamente em quatro grupos (n = 30): grupo A: controle; grupo B: gel de peróxido de carbamida a 10% (CP do inglês carbamide peroxide); grupo C: gel CP de 20% e grupo D: gel CP de 35%. Os dentes foram cortados 2 mm abaixo do limite amelocementário com uma máquina de corte, tampão acetato foi colocado na câmara pulpar e o clareador foi aplicado por 40 minutos apenas uma vez. Os dentes foram mantidos à temperatura ambiente (25 °C) durante o processo. A penetração de CP foi estimada com cristal violeta e peroxidase de rábano picante, em espectrofotômetro de absorvânciia. Os dados foram analisados por meio dos testes estatísticos ANOVA, complementados com o teste post hoc de Tukey, com um grau de significância de 5%. **Resultados:** As médias obtidas no grupo B foram de 0,062 mg ( $\pm 0,018$ ), no grupo C foram de 0,063 mg ( $\pm 0,017$ ) e no grupo D foram de 0,086 mg ( $\pm 0,024$ ). Existe uma diferença significativa ( $p = <0,05$ ) do grupo D em relação aos demais grupos. **Conclusão:** a penetração da PC na cavidade pulpar depende da concentração, sendo maior na concentração em 35%.

**Palavras-chave:** Cavidade pulpar, polpa dentária, clareamento dentário, peróxido de carbamida; peróxido de hidrogênio.

## Introducción

El blanqueamiento dental es un procedimiento químico que actúa sobre la estructura dentaria con el fin de mejorar la microestética, sin embargo, la interacción del agente blanqueador provoca efectos nocivos sobre la pulpa dental como sensibilidad, pulpitis reversible y muerte celular por necrosis<sup>1-4</sup>.

El peróxido de carbamida es un agente blanqueador que, al entrar en contacto con la saliva, descompone un 33% de su contenido en peróxido de hidrógeno, un agente oxidante que da lugar a especies de oxígeno reactivo (ROS) con la capacidad de degradar moléculas orgánicas complejas presentes en la estructura dental<sup>5,6</sup>. Además, el peróxido de carbamida libera urea, que se descompone en dióxido de carbono y amónico, sustancias que tienen propiedades proteolíticas que aumentan la eficacia del blanqueamiento dental<sup>6-9</sup>.

Sin embargo, las reacciones oxidativas y el daño celular provocado por los radicales libres, son los responsables de la toxicidad de los agentes blanqueadores<sup>10-12</sup>. El bajo peso molecular del peróxido de hidrógeno tiene la capacidad de difundirse a través del esmalte y dentina para alcanzar el espacio pulpar, dando lugar a efectos nocivos desde la reacción inflamatoria de la pulpa hasta extensas áreas de necrosis tisular, dependiendo de la concentración del agente blanqueador, el tiempo de aplicación, el calor, o si es un diente joven<sup>5,10,13</sup>.

Por tal motivo, esta investigación permitió valorar el nivel de peróxido de carbamida en sus diferentes concentraciones sobre la cámara pulpar, los resultados que se obtuvieron sirven como información científica y criterio clínico a considerar por los profesionales al realizar dicho procedimiento.

## Introduction

Tooth whitening is a chemical procedure that acts on the dental structure in order to improve the microesthetics, however, the interaction of the bleaching agent causes harmful effects on the dental pulp such as sensitivity, reversible pulpitis and cell death due to necrosis<sup>1-4</sup>.

Carbamide peroxide is a bleaching agent that, upon contact with saliva, breaks down 33% of its hydrogen peroxide content, an oxidizing agent that gives rise to reactive oxygen species (ROS) with the ability to degrade molecules Organic complexes present in the dental structure<sup>5,6</sup>. In addition, carbamide peroxide releases urea, which breaks down into carbon dioxide and ammonia, substances that have proteolytic properties that increase the effectiveness of tooth whitening<sup>6-9</sup>.

However, oxidative reactions and cell damage caused by free radicals are responsible for the toxicity of bleaching agents<sup>10-12</sup>. The low molecular weight of hydrogen peroxide has the ability to diffuse through the enamel and dentin to reach the pulp space, leading to harmful effects from the inflammatory reaction of the pulp to large areas of tissue necrosis, depending on the concentration of the agent bleach, application time, heat, or if it is a young tooth<sup>5,10,13</sup>.

For this reason, this research allowed us to assess the level of carbamide peroxide in its different concentrations on the pulp chamber, the results obtained serve as scientific information and clinical criteria to be considered by professionals when performing said procedure.

## Materiales y métodos

Este estudio fue aprobado por el Subcomité de Ética de la Comisión de Investigación de Facultades de la Universidad Central del Ecuador con el código 0160-FO-G-2019.

Para este estudio, se utilizaron 120 terceros molares humanos extraídos, divididos aleatoriamente en cuatro grupos ( $n = 30/\text{grupo}$ ): grupo A: control; grupo B: 10% gel CP; grupo C: 20% gel CP y grupo D: 35% gel CP.

### Fase de limpieza de la muestra

Las muestras fueron sometidas a un proceso de limpieza y eliminación de detritos utilizando una punta ultrasónica marca (Woodpecker, Londres, Inglaterra) para su posterior almacenamiento en solución salina al 0,9%, a temperatura ambiente para evitar la deshidratación. (Ver Figura 1)

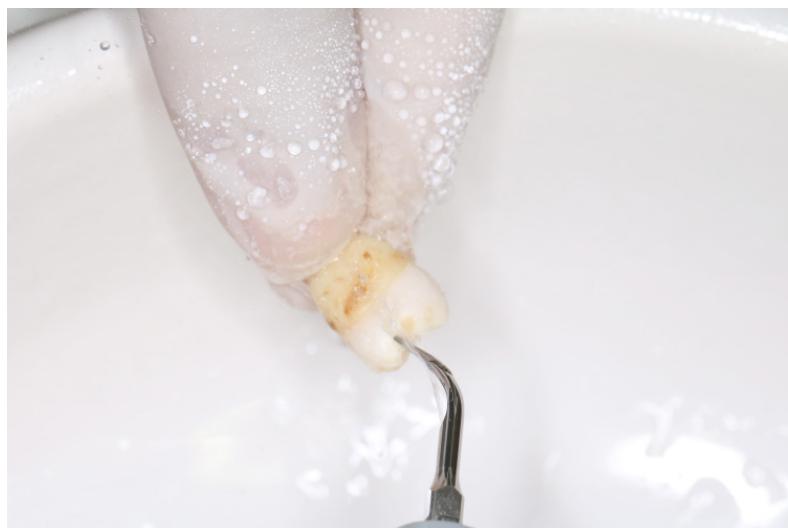
## Materials and methods

This study was approved by the Ethics Subcommittee of the Faculty Research Commission of the Central University of Ecuador with the code 0160-FO-G-2019.

For this study, 120 extracted human third molars were used, randomly divided into four groups ( $n = 30 / \text{group}$ ): group A: control; group B: 10% CP gel; group C: 20% CP gel and group D: 35% CP gel.

### Sample cleaning phase

The samples were subjected to a cleaning and debris removal process using a brand ultrasonic tip (Woodpecker, London, England) for later storage in 0.9% saline solution, at room temperature to avoid dehydration. (See Figure 1)



**Figura 1.** Limpieza y eliminación de detritos (punta ultrasónica); Cleaning and removing debris (ultrasonic tip).

Para el experimento, las piezas dentales se cortaron 2 mm por debajo del límite amelocementario, este proceso se llevó a cabo con una máquina de corte Abrasive cut-off Wheels (BUEHLER LTD, Esslingen, Alemania), con irrigación constante para evitar el sobre-calentamiento del diente. (Ver figura 2)

For the experiment, the dental pieces were cut 2 mm below the amelocementary limit, this process was carried out with an Abrasive cut-off Wheels cutting machine (BUEHLER LTD, Esslingen, Germany), with constant irrigation to avoid overheating the tooth. (See figure 2)



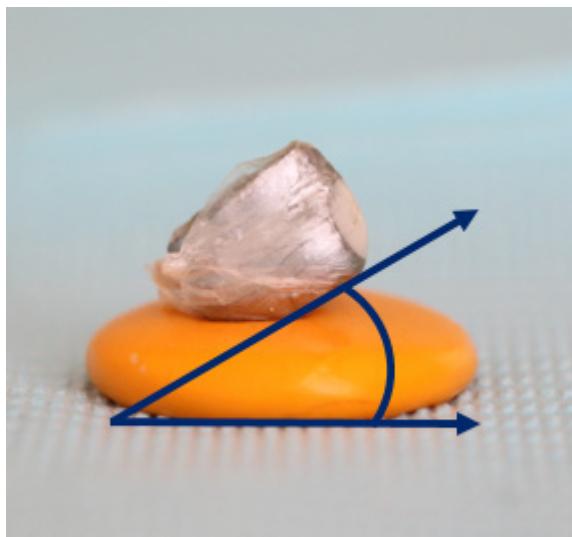
**Figura 2.** Corte de la pieza dental con irrigación constante; Cutting the dental part with constant irrigation.

### Preparación de la muestra

La cavidad pulpar fue ampliada y preparada con la fresa endozeta (Maillefer, Suiza) hacia la pared lingual con el fin de establecer una estructura dental intacta de 2 mm de grosor que podría contener 40 mL de tampón de acetato, compuesto por ácido acético y acetato de sodio. Posteriormente, las fosas y fisuras oclusales fueron selladas con resina fluida (Filtek TM Z350XT, 3M ESPE, Saint Paul, USA) para evitar cualquier fuga del tampón fuera de la cavidad. Además, se colocó una etiqueta adhesiva circular de 5 mm de diámetro en el centro de la superficie labial. Luego, la porción restante del diente se pintó con esmalte de uñas gris (Nailwear pro, AVON, Quito, Ecuador) y después del secado se retiró la etiqueta adhesiva (etico-II, Girona, España), dejando un área de esmalte sin pintar de tamaño estándar para la aplicación del blanqueamiento<sup>13</sup>. Después, se fabricó una plantilla de silicona de adición (elite HD+, Zhermack, Badia Polesine, Italia) colocando la superficie lingual en un ángulo de 30° desde la base. (Ver figura 3)

### Sample preparation

The pulp cavity was enlarged and prepared with the milling ENDO-Z BUR (Maillefer, Switzerland) towards the lingual wall in order to establish an intact dental structure 2 mm thick that could contain 40 mL of acetate buffer, composed of acetic acid and acetate of sodium. Subsequently, the occlusal pits and fissures were sealed with fluid resin (Filtek TM Z350XT, 3M ESPE, Saint Paul, USA) to prevent any leakage of the buffer out of the cavity. In addition, a 5 mm diameter circular adhesive label was placed in the center of the labial surface. Then, the remaining portion of the tooth was painted with gray nail polish (Nailwear pro, AVON, Quito, Ecuador) and after drying the adhesive label (etico-II, Girona, Spain) was removed, leaving an area of unpainted enamel in size standard for the application of Whitening<sup>13</sup>. Then, an addition silicone template (elite HD +, Zhermack, Badia Polesine, Italy) was made by placing the lingual surface at an angle of 30° from the base. (See fig 3)



**Figura 3.** Muestra preparada; Prepared sample.

## Blanqueamiento

Se colocó sobre la cara vestibular de cada diente una capa continua (una gota) de peróxido de carbamida (Opalescence tooth whitening systems, Ultradent Products Inc., South Jordan, USA) al 10%, 20% y 35% en 30 dientes cada uno, por un tiempo de 40 minutos una sola vez. Además, se cubrió con una envoltura de polietileno de baja densidad lineal (embalajesterra, Valencia, España) para simular la colocación de una férula de acetato semirígido. Posteriormente, se colocó 40 µL de buffer de acetato (pH: 4,5) en la cavidad pulpar, esta solución tiene la capacidad de prevenir la degradación del peróxido hasta el momento del análisis. Al término de este tiempo se enjuagó las piezas dentarias con abundante agua<sup>13</sup>. Los dientes se mantuvieron a temperatura ambiente (25°C) durante el blanqueamiento. (Ver figura 4)

## Whitening

On the vestibular face of each tooth, was placed a continuous layer (one drop) of Carbamide Peroxide (Opalescence tooth whitening systems, Ultradent Products Inc., South Jordan, USA) at 10%, 20% and 35% on 30 teeth, for a time of 40 minutes only once. In addition, it was covered with a linear low density polyethylene wrap (packaging, Valencia, Spain) to simulate the placement of a semi-rigid acetate splint. Subsequently, 40 µL of acetate buffer (pH: 4.5) was placed in the pulp cavity, this solution has the ability to prevent peroxide degradation until the moment of analysis. At the end of this time the teeth were rinsed with plenty of water<sup>13</sup>. The teeth were kept at room temperature (25°C) during Whitening. (See figure 4)



**Figura 4.** Colocación de peróxido de carbamida opalescence tooth whitening systems (Ultradent Products, Inc.) al a) 10%, b) 20% y c) 35% gel, 40 minutos cada uno; Placement of carbamide peroxide, opalescence tooth whitening systems (Ultradent Products, Inc.) at a) 10%, b) 20% and c) 35% gel, 40 minutes each.

### Medición de penetración de CP a la cámara pulpar

Se elaboró una solución madre para las 120 muestras, que contenía: 1 mL de tampón de acetato (pH: 4,5), 12,5 mL de solución de cristal violeta (0,0313 mg/ml), 25 mL de buffer de fosfato (pH: 6,17), y 12,5 mL de solución de peroxidasa de rábano picante (0,0625 mg/ml)<sup>13</sup>.

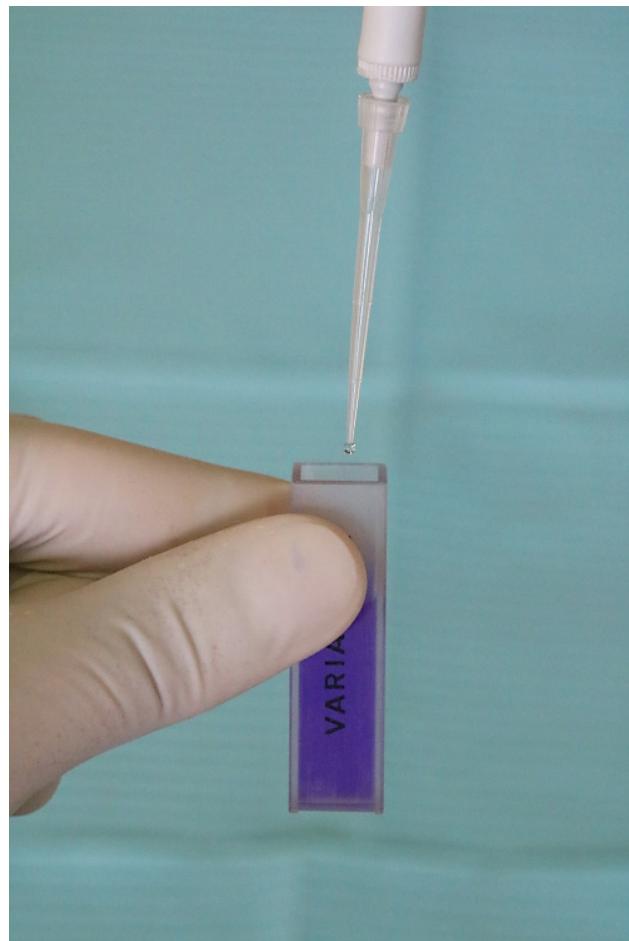
Para la medición de peróxido en la cámara pulpar se transfirió 10 µL recuperado de la cavidad pulpar a una celda que contenía 2,5 ml de buffer de fosfato y 0,5 ml de la solución madre (solución final)<sup>13</sup>. (Ver figura 5)

### CP penetration measurement to the pulp chamber

A stock solution was prepared for the 120 samples, containing: 1 mL of acetate buffer (pH: 4.5), 12.5 mL of violet crystal solution (0.0313 mg / ml), 25 mL of phosphate buffer (pH: 6.17), and 12.5 mL of horseradish peroxidase solution (0.0625 mg / ml)<sup>13</sup>.

For the measurement of peroxide in the pulp chamber, 10 µL recovered from the pulp cavity was transferred to a cell containing 2.5 ml of phosphate buffer and 0.5 ml of the stock solution (final solution)<sup>13</sup>. (See figure 5)





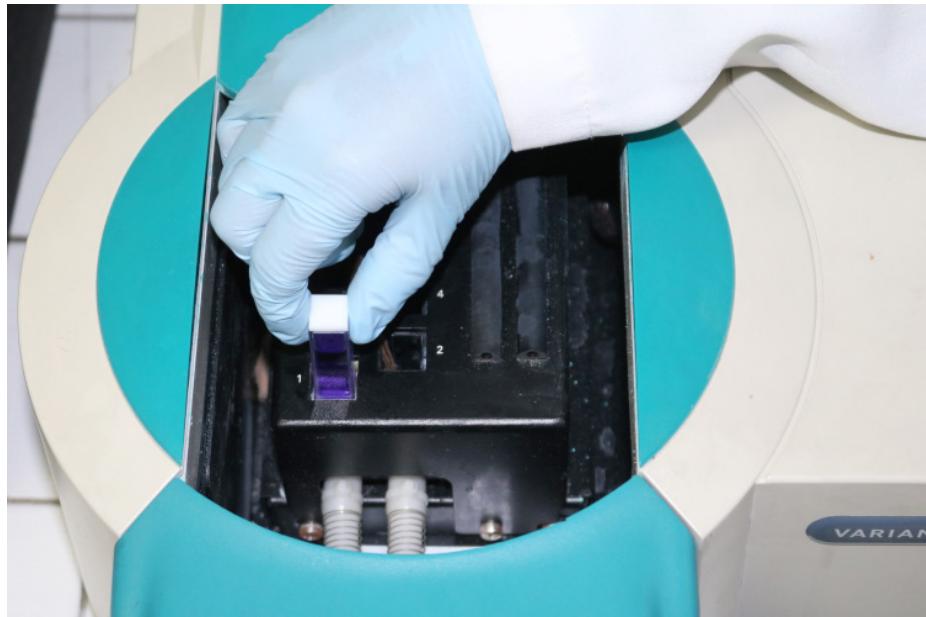
**Figura 5.** Colocación de 10  $\mu\text{L}$  de buffer de acetato de la cavidad a la solución final; Placing 10  $\mu\text{L}$  of acetate buffer from the cavity to the final solution.

Para realizar el proceso mencionado anteriormente, cada grupo de estudio se dividió en 10 subgrupos conformado por tres dientes para evitar la excesiva dilución de la solución madre, para cada muestra se realizó la medición en cuatro ocasiones por medio del espectrofotómetro, de la siguiente forma: se midió 4 veces la absorbancia inicial de la solución final sin buffer de la cavidad, después se colocó 10  $\mu\text{L}$  de la cavidad del diente 1 y se midió 4 veces la absorbancia de dicho diente, luego se colocó 10  $\mu\text{L}$  de la cavidad del diente 2 y se midió 4 veces la absorbancia de dicho diente, y finalmente se colocó 10  $\mu\text{L}$  de la cavidad del diente 3 y se midió 4 veces la absorbancia de dicho diente, posteriormente se calculó el promedio de cada uno, y con estos valores se calculó los valores delta de absorbancia

To carry out the process mentioned above, each study group was divided into 10 subgroups consisting of three teeth to avoid excessive dilution of the stock solution, for each sample the measurement was performed four times by means of the spectrophotometer, as follows: the initial absorbance of the final solution without buffer in the cavity was measured 4 times, then 10  $\mu\text{L}$  of the tooth cavity 1 was placed and the absorbance of said tooth was measured 4 times, then 10  $\mu\text{L}$  of the tooth cavity 2 was placed and the absorbance of said tooth was measured 4 times, and finally 10  $\mu\text{L}$  of the tooth cavity 3 was placed and the absorbance of said tooth was measured 4 times, the average of each one was subsequently calculated, and with these values the delta absorbance values ( $\Delta A$ ) subtracted the dilution factor<sup>13</sup>.

## PENETRACIÓN EN LA CÁMARA PULPAR

( $\Delta A$ ) restado el factor de dilución 13. Luego se realizó en otra celda el mismo proceso con los subgrupos restantes hasta completar las 30 muestras de cada grupo. (Ver Figura 6)



**Figura 6.** Colocación de la celda en el compartimento de muestras del espectrofotómetro; Placing the cell in the specimen compartment of the spectrophotometer.

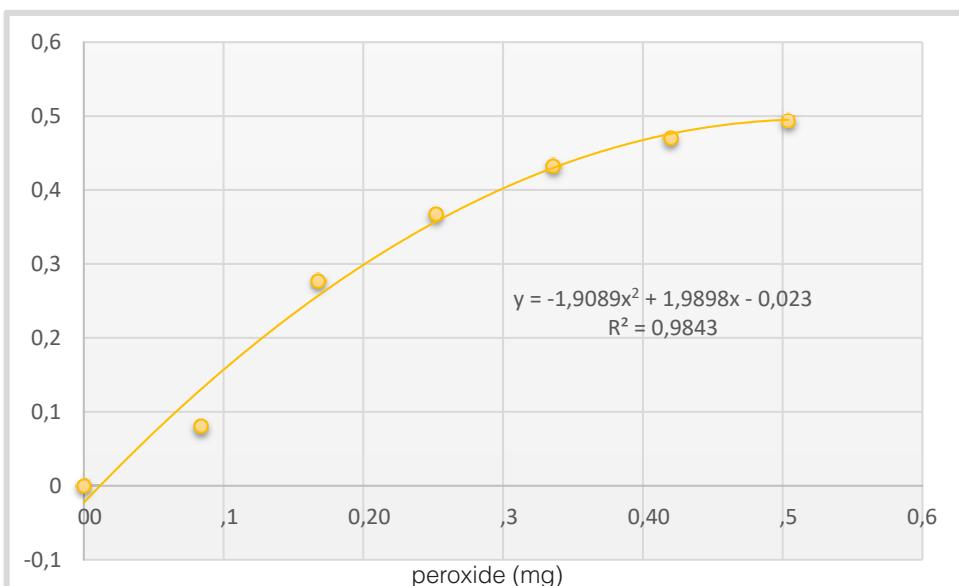
La intensidad de color se midió mediante un espectrofotómetro de absorbancia (CARY 50 BIO UV-VISIBLE, VARIAN, Saumur, Francia) a una longitud de onda de 591 nm. Se usó una curva de calibración estándar con cantidades conocidas de peróxido para determinar la cantidad en miligramos equivalentes en las muestras. Empleando la curva de calibración se obtuvo una ecuación cuadrática de segundo grado, y dado que tuvo un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 0,9843, se determinó las concentraciones aparentes en cámara pulpar. Donde la ecuación sería:  $1,9089x^2 - 1,9898x + \Delta A + 0,023 = 0$  (Ver gráfico 1)

Los valores delta de absorbancia ( $\Delta A$ ) se reemplazaron en la ecuación, el resultado se multiplicó por cuatro, ya que en la cámara pulpar se colocó 40  $\mu\text{L}$  en total. De esta manera se calculó la cantidad de peróxido de carbamida que ingresó a la cámara pulpar.

Then the same process was carried out in another cell with the remaining subgroups until the 30 samples of each group were completed. (See Figure 6)

The color intensity was measured by an absorbance spectrophotometer (CARY 50 BIO UV-VISIBLE, VARIAN, Saumur, France) at a wavelength of 591 nm. A standard calibration curve with known amounts of peroxide was used to determine the amount in equivalent milligrams in the samples. Using the calibration curve, a quadratic equation of the second degree was obtained, and since it had a coefficient of determination ( $R^2$ ) of 0.9843, the apparent concentrations in the pulp chamber were determined. Where the equation would be:  $1.9089x^2 - 1.9898x + \Delta A + 0.023 = 0$  (See chart 1).

The delta absorbance values ( $\Delta A$ ) were replaced in the equation, the result was multiplied by four, since 40  $\mu\text{L}$  was placed in the pulp chamber in total. In this way the amount of Carbamide peroxide that entered the pulp chamber was calculated.

**Gráfico 1.** Curva de calibración; Calibration curve.

Es importante recalcar que la oxidación del colorante no incidió en la absorbancia, para ello se realizaron varias diluciones, empleando violeta de genciana y peróxido, donde se puede determinar que las variaciones son mínimas, y prácticamente constantes de una dilución a otra.

Barido espectral: Cabe mencionar que, para conocer la longitud de onda máxima del presente estudio, se realizó un barrido en el espectro visible (400 nm a 800 nm) con ayuda del espectrofotómetro CARY 50 BIO UV-Visible (VARIAN, Francia) a la solución final.

## Resultados

A partir de los datos experimentales, se organizó la información en una tabla de Excel, con estos valores se construyó una base de datos en SPSS versión 24 en español IBM ®, posteriormente se realizó la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov donde los valores de significación (Sig) son superiores a 0,05 (95% de confiabilidad), por tanto, las muestras provienen de poblaciones con distribución normal, direccionando el análisis para las pruebas paramétricas: ANOVA, complementada con el test post

It is important to emphasize that the oxidation of the dye did not affect absorbance, for this purpose several dilutions were made, using gentian violet and peroxide, where it can be determined that the variations are minimal, and practically constant from one dilution to another.

Spectral scanning: It is worth mentioning that, in order to know the maximum wavelength of the present study, a scan was made in the visible spectrum (400 nm to 800 nm) with the help of the UV-Visible CARY 50 BIO spectrophotometer (VARIAN, France) to the solution final.

## Results

From the experimental data, the information was organized in an Excel table, with these values a database was built in SPSS version 24 in Spanish IBM ®, then the Kolmogorov-Smirnov Normality test was carried out where the values of Significance (Sig) is greater than 0.05 (95% reliability), therefore, the samples come from populations with normal distribution, directing the analysis for the parametric tests: ANOVA, complemented with the Tukey post hoc test with a signi-

## PENETRACIÓN EN LA CÁMARA PULPAR

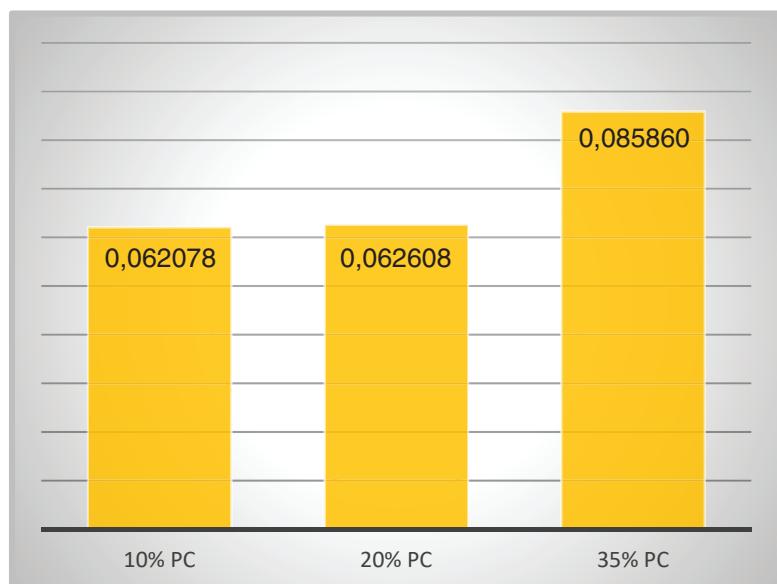
hoc de Tukey con una significancia del 95%.

Según los estadísticos descriptivos las medias obtenidas son: para el CP a 10%: 0,062 mg ( $\pm 0,018$ ), para el 20%: 0,063 mg ( $\pm 0,017$ ), y para el 35%: 0,086 mg ( $\pm 0,024$ ). (Ver gráfico 2)



ficance 95%.

According to the descriptive statistics, the means obtained are: for CP at 10%: 0.062 mg ( $\pm 0.018$ ), for 20%: 0.063 mg ( $\pm 0.017$ ), and for 35%: 0.086 mg ( $\pm 0.024$ ). (See graph 2)



**Gráfico 2.** Comparación de medias (mg); Comparison of means (mg).

De la prueba ANOVA, complementada con el test post hoc de Tukey se determinó que el grupo control no detectó peróxido de carbamida en la cámara pulpar, por lo cual no fue tomado en cuenta. Sin embargo, los valores del grupo en que se empleó PC al 10% no difirieron significativamente del grupo que se empleó el PC al 20%, pero estos grupos sí se diferenciaron del grupo en que se empleó la concentración del 35%. (Ver tabla 1)

From the ANOVA test, supplemented with the Tukey post hoc test, it was determined that the control group did not detect carbamide peroxide in the pulp chamber, so it was not taken into account. However, the values of the group in which 10% PC was used did not differ significantly from the group that used the 20% PC, but these groups did differ from the group in which the 35% concentration was used. (See table 1)

**Tabla 1.** Pruebas post hoc (Prueba de Tukey); Post hoc tests (Tukey test)

Comparaciones múltiples; <i>Multiple comparisons</i>							
Variable dependiente: Medidas; <i>Dependent variable: Measures</i>							
Prueba de Tukey							
(I) Concentraciones; <i>(I) Concentrations</i>	(J) Concentraciones; <i>(J) Concentrations</i>	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar;	Sig. (p=)	95% de intervalo de confianza; <i>95% confidence interval</i>		Límite superior; <i>Upper limit</i>
		<i>Mean difference (I-J)</i>	<i>Standard error</i>		Límite inferior; <i>Lower limit</i>		
10% PC	20% PC	-0,0005293	0,0051232	0,994	-0,0127455	0,0116868	
	35% PC	-0,0237818	0,0051232	0,000	-0,0359980	-0,0115657	
20% PC	10% PC	0,0005293	0,0051232	0,994	-0,0116868	0,0127455	
	35% PC	-0,0232525	0,0051232	0,000	-0,0354686	-0,0110364	
35% PC	10% PC	0,0237818	0,0051232	0,000	0,0115657	0,0359980	
	20% PC	0,0232525	0,0051232	0,000	0,0110364	0,0354686	

## Discusión

En la actualidad existe una gran demanda de Blanqueamientos dentales que mejoran la apariencia física de las personas, sin embargo, existen efectos nocivos sobre las estructuras dentales, especialmente sobre la pulpa dental, que está relacionada con la concentración del agente blanqueador y el tiempo de aplicación<sup>5,6,10,14</sup>, por lo cual el objetivo del presente estudio fue evaluar la penetración a la cámara pulpar del CP a diferentes concentraciones: 10%, 20% y 35%, con el fin de valorar el nivel de peróxido que atravesó al tejido pulpar. Se demostró que la penetración del CP en la cámara pulpar depende de su concentración.

Como se demuestra en la presente investigación, la penetración del CP en la cámara pulpar puede generar inflamación pulpar. De Oliveira y cols. (2014), mencionan acerca del intenso estrés oxidativo que provocan los geles blanqueadores, y frente a esto la incapacidad de los mecanismos de protección celular como la producción de enzimas antioxidantes para eliminar las ROS locales; y la lesión de la membrana

## Discussion

Currently there is a great demand for teeth whitening that improve the physical appearance of people, however, there are harmful effects on dental structures, especially on dental pulp, which is related to the concentration of the bleaching agent and the application time<sup>5,6,10,14</sup>, so the objective of this study was to evaluate the penetration into the pulp chamber of the CP at different concentrations: 10%, 20% and 35%, in order to assess the peroxide level that went through the pulp tissue. It was shown that the penetration of the CP into the pulp chamber depends on its concentration.

As demonstrated in the present investigation, the penetration of the CP into the pulp chamber can generate pulp inflammation. From Oliveira et al. (2014), mention about the intense oxidative stress caused by bleaching gels, and against this the inability of cellular protection mechanisms such as the production of antioxidant enzymes to eliminate local ROS; and cell membrane damage caused by lipid peroxidation, which re-

celular provocada por la peroxidación lipídica, lo que genera la destrucción de la función celular y la muerte celular por necrosis. También se activan enzimas proteolíticas presentes en la dentina, como catepsinas y metaloproteinasas, provocando la degradación de la matriz extracelular de la pulpa. Por tanto, dependiendo de la intensidad del daño celular y las alteraciones de la matriz extracelular, los efectos van desde la reacción inflamatoria de la pulpa hasta extensas áreas de necrosis tisular<sup>5</sup>.

De Oliveira y cols. (2014), demostraron que la baja toxicidad del peróxido de carbamida al 10% se relaciona con la menor difusión de peróxido a través de las estructuras dentales por lo que se considera la concentración más segura para el tejido pulpar<sup>5</sup>, coincidiendo con el presente estudio donde el peróxido de carbamida al 10% presentó menor penetración a la cámara pulpar.

Patri y cols. (2013), evaluaron la penetración del peróxido de carbamida al 10% en dientes restaurados, concluyeron que existe penetración del agente blanqueador a la cámara pulpar<sup>15</sup>, aunque el método presentado utilizó dientes intactos, se llegó a la misma conclusión.

La penetración del agente blanqueador parece independiente de la sustancia utilizada, Patri y cols. (2016) y Costa y cols. (2014) utilizaron como agente blanqueador el peróxido de hidrógeno al 30% y 38% respectivamente, concluyeron que sí existe difusión de peróxido a la cámara pulpar<sup>10,16</sup>. A pesar que utilizamos como agente blanqueador el peróxido de carbamida al 10%, 20% y 35% se obtuvo la misma conclusión; probablemente porque el CP se descompone en peróxido de hidrógeno, actuando de manera similar, por lo que es posible la penetración de peróxido a la cámara pulpar en las tres concentraciones evaluadas.

De Oliveira y cols. (2014) en su investigación analizaron la relación de la concentración del agente blanqueador con la difusión de peróxido, llegando a la conclusión de que existe mayor difusión de peróxido de

sults in the destruction of cell function and cell death due to necrosis. Also, proteolytic enzymes present in dentin are activated, such as cathepsins and metalloproteinases, causing degradation of the pulp's extracellular matrix. Therefore, depending on the intensity of cellular damage and alterations of the extracellular matrix, the effects range from the inflammatory reaction of the pulp to large areas of tissue necrosis<sup>5</sup>.

De Oliveira and cols. (2014), showed that the low toxicity of 10% carbamide peroxide is related to the lower diffusion of peroxide through dental structures, which is why it is considered the safest concentration for pulp tissue<sup>5</sup>, coinciding with the present study where 10% carbamide peroxide showed less penetration into the pulp chamber.

Patri and cols. (2013), evaluated the penetration of 10% carbamide peroxide in restored teeth, concluded that there is penetration of the bleaching agent into the pulp chamber<sup>15</sup>, although the method presented used intact teeth, the same conclusion was reached.

The penetration of the bleaching agent seems independent of the substance used, Patri and cols. (2016) and Costa and cols. (2014) used 30% and 38% hydrogen peroxide as a bleaching agent, respectively, they concluded that there is diffusion of peroxide to the pulp chamber<sup>10,16</sup>. Although we use 10% carbamide peroxide as a bleaching agent, 20% and 35% obtained the same conclusion; probably because the CP decomposes into hydrogen peroxide, acting in a similar way, so that the penetration of peroxide into the pulp chamber at the three concentrations evaluated is possible.

De Oliveira and cols. (2014) in their research they analyzed the relationship between the concentration of the bleaching agent and the diffusion of peroxide, reaching the conclusion that there is greater diffusion of 35%

hidrógeno al 35% que el peróxido de carbamida al 10%<sup>5</sup>. En nuestro caso se utilizó como agente blanqueador el peróxido de carbamida al 10%, 20% y 35% obteniendo la misma conclusión, que a mayor concentración mayor penetración a la cámara pulpar.

Por otra parte, Marson y cols. (2015) determinaron que la penetración de peróxido de hidrógeno depende del tiempo de contacto del gel blanqueador con la estructura dental independientemente de la concentración del peróxido, dando como resultado que en concentraciones de peróxido de hidrógeno al 35% existió mayor penetración a la cámara pulpar que en concentraciones de peróxido de hidrógeno al 38% en 45 minutos<sup>17</sup>. En el presente estudio se afirma que la cantidad de difusión de peróxido a la cámara pulpar depende de su concentración aplicando el agente blanqueador 40 minutos; la variación de los datos obtenidos se puede deber a que los geles blanqueadores mantienen más del 86% de su concentración inicial de peróxido después de los 45 minutos, conservando así su capacidad de blanqueamiento<sup>17</sup>.

En cuanto al método para cuantificar peróxido en la cavidad pulpar, Gomes y cols. (2010) en su estudio utilizaron el propuesto por Bauminger<sup>18</sup> y modificado por Hannig y cols.<sup>19</sup> que es un análisis espectrofotométrico basado en la reacción de 4-aminoantipirina y fenol con peróxido de hidrógeno catalizada por peroxidasa<sup>20</sup>. Además, Soares y cols. (2015) y Patri y cols. (2016) en sus investigaciones utilizan el método de Mottola que se basa en la reacción de Peróxido de Hidrógeno con leucocristal violeta catalizado por la enzima peroxidasa de rábano picante<sup>16,21</sup>. Sin embargo, en el presente estudio se realizó con el colorante cristal violeta y la enzima peroxidasa de rábano picante. A pesar de utilizar una metodología diferente se observó que existió reacción positiva del peróxido con la peroxidasa concluyendo en nuestro estudio que a mayor concentración del agente blanqueador mayor penetración al tejido pulpar.

hydrogen peroxide than 10% carbamide peroxide<sup>5</sup>. In our case, 10%, 20% and 35% carbamide peroxide was used as a bleaching agent, obtaining the same conclusion, that the greater the concentration, the greater the penetration into the pulp chamber.

On the other hand, Marson and cols. (2015) determined that the penetration of hydrogen peroxide depends on the contact time of the whitening gel with the dental structure regardless of the concentration of the peroxide, resulting in that in concentrations of 35% hydrogen peroxide there was greater penetration into the pulp chamber than in concentrations of 38% hydrogen peroxide in 45 minutes<sup>17</sup>. The present study states that the amount of peroxide diffusion into the pulp chamber depends on its concentration by applying the bleaching agent 40 minutes; the variation in the data obtained may be due to the fact that bleaching gels maintain more than 86% of their initial peroxide concentration after 45 minutes, thus maintaining their bleaching capacity<sup>17</sup>.

Regarding the method for quantifying peroxide in the pulp cavity, Gomes and cols.. (2010) in their study used the one proposed by Bauminger<sup>18</sup> and modified by Hannig and cols.<sup>19</sup> which is a spectrophotometric analysis based on the reaction of 4-aminoantipyrine and phenol with peroxidase-catalyzed Hydrogen Peroxide<sup>20</sup>. In addition, Soares and cols. (2015) and Patri and cols. (2016) in their investigations they use the Mottola method that is based on the reaction of hydrogen peroxide with violet leucocristal catalyzed by the horseradish peroxidase enzyme<sup>16,21</sup>. However, in the present study it was carried out with the violet crystal dye and the horseradish peroxidase enzyme. Despite using a different methodology, it was observed that there was a positive reaction of peroxide with peroxidase, concluding in our study that the greater the concentration of the bleaching agent, the greater the penetration into the pulp tissue.

Nuevos estudios deberán definir las concentraciones más seguras de agentes blanqueadores y el tiempo de utilización más inocuo para la pulpa dental, obteniendo resultados estéticos satisfactorios.

### Conclusiones



De acuerdo a los resultados obtenidos en el estudio, concluimos que en los tratamientos de blanqueamiento dental con peróxido de carbamida sí existe penetración de peróxido a la cámara pulpar, siendo mayor en el peróxido de carbamida al 35%, por lo que se acepta la hipótesis de investigación. Al comparar la cantidad de penetración del peróxido de carbamida al 10%, 20% y 35% a la cámara pulpar se concluye que a mayor concentración del peróxido mayor difusión a la cámara pulpar, siendo el peróxido de carbamida al 35% estadísticamente significativo.

### Bibliografía

1. Cedillo Orellana SI. Efectos del blanqueamiento dental sobre el tejido pulpar. 2016;1:46. Available from: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/24808>
2. Cedeño J. Creencias y mitos del blanqueamiento dental en los habitantes de la parroquia San Mateo periodo 2016-2017. 2017;9:1-50.
3. Batista G, Barcellos D, Torres C, Goto E, Pucci C, Borges A. The Influence of Chemical Activation on Tooth Bleaching Using 10% Carbamide Peroxide. Oper Dent [Internet]. 2011;36(2):162-8. Available from: <http://www.jopdentonline.org/doi/10.2341/09-280-L>
4. Demarco FF, Meireles SS, Sarmento HR, Dantas RVF, Botero T, Tarquinio SBC. Erosion and abrasion on dental structures undergoing at-home bleaching. Clin Cosmet Investig Dent. 2011;3:45-52.
5. de Oliveira 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. 2013;18(6):1631-7.
6. Goldberg M, Grootveld M, Lynch E. Undesirable and adverse effects of tooth-white-
- ning products: A review. Clin Oral Investig. 2010;14(1):1-10.
7. Hyland BW, McDonald A, Lewis N, Tredwin C, Petrie A, Hall S, et al. A new three-component formulation for the efficient whitening of teeth (Carbamide Plus). Clin Oral Investig. 2014;19(6):1395-404.
8. Borges B, Borges J, de Melo C, Pinheiro I, Santos A dos, Braz R, et al. Efficacy of a Novel At-home Bleaching Technique With Carbamide Peroxides Modified by CPP-ACP and Its Effect on the Microhardness of Bleached Enamel. Oper Dent [Internet]. 2011;36(5):521-8. Available from: <http://www.jopdentonline.org/doi/10.2341/11-013-L>
9. Hirata R, Higashi C. Blanqueamiento dental: Concepto y sustancias blanqueadoras. Médica Pan. 2012. 385 p.
10. Costa CAS, Riehl H, Kina JF, Sacono NT, Hebling J. Human pulp responses to in-office tooth bleaching. J Esthet Restor Dent [Internet]. 2014;26(5):356. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tripleo.2009.12.002>
11. Baxter R, Hastings N, Law A, Glass EJ. Blanqueamiento Dental. Anim Genet. 2008;39(5):561-3.

New studies should define the safest concentrations of bleaching agents and the safest time of use for dental pulp, obtaining satisfactory aesthetic results.

### Conclusions

According to the results obtained in the study, we conclude that in tooth whitening treatments with carbamide peroxide there is penetration of peroxide into the pulp chamber, being greater in carbamide peroxide at 35%, so the hypothesis is accepted research. When comparing the penetration amount of 10%, 20% and 35% carbamide peroxide into the pulp chamber, it is concluded that the higher the concentration of the peroxide, the greater the diffusion into the pulp chamber, with 35% carbamide peroxide being statistically significant.

12. Solís Cessa E. Aclaramiento dental: revisión de la literatura y presentación de un caso clínico. Dental clearance: review of the literature and case report. Rev ADM [Internet]. 2018;75(1):9–25. Available from: [www.medigraphic.com/adm](http://www.medigraphic.com/adm)
13. Kwon S, Pallavi F, Shi Y, Oyoyo U, Mohraz A, Li Y. Effect of Bleaching Gel Viscosity on Tooth Whitening Efficacy and Pulp Chamber Penetration: An In Vitro Study. Oper Dent [Internet]. 2018;43(3):326–34. Available from: <http://www.jopdentonline.org/doi/10.2341/17-099-L>
14. Reis A, Kossatz S, Martins G, Loguerio A. Efficacy of and Effect on Tooth Sensitivity of In-office Bleaching Gel Concentrations: A Randomized Clinical Trial. Oper Dent [Internet]. 2013;38(4):386–93. Available from: <http://www.jopdentonline.org/doi/10.2341/12-140-C>
15. Patri G, Agnihotri Y, Rao SR, Lakshmi N, Das S. An in Vitro Spectrophotometric Analysis of the Penetration of Bleaching Agent into the Pulp Chamber of Intact and Restored Teeth. 2013;7(12):3057–9.
16. Patri G, Acharya G, Agrawal P, Panda V. Spectrophotometric evaluation of the pulpal peroxide levels in intact and restored teeth - An invitro study. J Clin Diagnostic Res. 2016;10(8):ZC44–7.
17. Marson F, Goncalves R, Silva C, Cintra L, Pasatto R, Santos P, et al. Penetration of Hydrogen Peroxide and Degradation Rate of Different Bleaching Products. Oper Dent. 2015;72–9.
18. Bauminger BB. Micro method for manual analysis of true glucose in plasma without deproteinization. 1974;1015–7.
19. Hannig C, Za R, Henze E, Dreier S, Attin T. Peroxide release into saliva from five different home bleaching systems in vivo. 2005;18(1):15810475.
20. Gomes 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 [Internet]. 2010;38(10):838–46. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdent.2010.07.002>
21. Soares DG, Gonçalves Basso F, Hebling J, De Souza Costa CA. Effect of hydrogen-peroxide-mediated oxidative stress on human dental pulp cells. J Dent. 2015;43(6):750–6.



Erika Paola Herrera Jácome, <https://orcid.org/0000-0002-1789-9564>  
 David Sebastián Flores Cuvi, <https://orcid.org/0000-0002-0821-0462>  
 Dennys Paul Almachi Villalba, <https://orcid.org/0000-0002-6316-0314>  
 Pablo Rubén Garrido Villavicencio; <https://orcid.org/0000-0002-5223-1017>

## CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

**HERRERA E,** Redacción del manuscrito: Concepción y diseño del trabajo

**FLORES D,** Redacción del manuscrito

**ALMACHI D,** Redacción del manuscrito

**GARRIDO P,** Redacción del manuscrito: Aprobación de su versión final;



RECONOCIMIENTO-NOCOMERCIAL-COMPARTIRIGUAL  
CC BY-NC-SA

ESTA LICENCIA PERMITE A OTROS ENTREMEZCLAR, AJUSTAR Y  
CONSTRUIR A PARTIR DE SU OBRA CON FINES NO COMERCIALES,  
SIEMPRE Y CUANDO LE RECONOZCAN LA AUTORÍA Y SUS NUEVAS  
CREACIONES ESTÉN BAJO UNA LICENCIA CON LOS MISMOS  
TÉRMINOS

