



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO



SANDRA CHIGA

**Influência da associação do verniz fluoretado aos lasers de Er:YAG e
Nd:YAG em dentina radicular erodida**

Orientadora: Prof^a Dr^a Silmara Aparecida Milori Corona

Ribeirão Preto

2011

SANDRA CHIGA

Influência da associação do verniz fluoretado aos lasers de Er:YAG e Nd:YAG em dentina radicular erodida

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências – Programa: Odontologia Restauradora - Área de Concentração: Odontologia Restauradora (Opção: Dentística)

Orientadora: Profa. Dra. Silmara Aparecida Milori Corona

Ribeirão Preto

2011

Autorizo a reprodução e/ou divulgação total ou parcial da presente obra por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que seja citada a fonte.

Catálogo da Publicação
Serviço de Documentação Odontológica
Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto

Chiga, Sandra

Influência da associação do verniz fluoretado aos lasers de Er:YAG e Nd:YAG em dentina radicular /Sandra Chiga ; orientadora Prof^a Dr^a Silmara Aparecida Milori Corona. - Ribeirão Preto, 2011.
53 p.: il.; 30cm

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Odontologia Restauradora – Opção: Dentística.

1. Erosão de dente. 2. Dentina 3. Érbio. 4. Neodímio. 5. Fluoreto. 6. Permeabilidade da dentina.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: CHIGA, Sandra

Título: Influência da associação do verniz fluoretado aos lasers de Er:YAG e Nd:YAG em dentina radicular erodida.

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Odontologia Restauradora

Banca Examinadora

Data da Defesa: ____/____/____

Prof (a). Dr (a).

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Dedicat3ria

Dedico este trabalho

*Aos meus pais, **Sergio Seitocu Chiga e Mieko Chiga**. O momento que vivo agora só existe porque vocês se doaram e aceitaram viver comigo esse sonho. Presentearam-me com a riqueza do estudo, ensinaram-me valores que trago comigo desde a infância e me mostraram que trabalho e dedicação nos levam aonde quisermos. A vocês não bastam palavras para expressar meu mais sincero agradecimento. Queridos pais, hoje lhes ofereço mais essa vitória.*

*Ao meu noivo **Rafael Gutierre Carvalho**, por acreditar em mim desde o começo. Por compartilhar comigo alegrias e tristeza, sempre me incentivando a seguir em frente. Pelas palavras de afeto, incentivo e apoio que me ajudaram a ultrapassar os momentos difíceis. Pela paciência em me escutar e pelos conselhos nem sempre seguidos. Pelas horas em que, juntos, nos divertimos, compartilhando alegrias, risadas, mesmo nos momentos em que estive ausente. Pelos votos de confiança, que me fizeram crescer e não desistir no meio do caminho. Sem dúvida, um dos alicerces desta árdua jornada. Você merece essa conquista tanto quanto eu. Eu te amo e muito obrigada.*

*Aos meus irmãos, **Rodrigo Chiga e Danilo Chiga**, agradeço por poder contar com vocês sempre. São as coisas mais simples da vida que me incentivam a ser cada dia melhor, da forma como vocês mostram a cada oportunidade em que estamos juntos.*

*À minha avó, **Kame Matsushima Chiga**, exemplo de esforço e disciplina, e sempre preocupada com a minha volta pra casa. Obrigada por cuidar de mim até hoje, e espero estar retribuindo tudo que a senhora já fez por mim!*

*Agradecimentos
especiais*

*A **Deus**, obrigada por me conceder inteligência e força, e por permitir superar mais esta etapa.*

*À minha orientadora, Prof^a Dr^a **Silmara Aparecida Milori Corona**, pela confiança em me aceitar como mestrande. Exemplo de dedicação ao trabalho e à família, agradeço a sua paciência, compreensão e aprendizado que adquiri durante esses dois anos, para a vida acadêmica e pessoal. “Um verdadeiro sábio não condena nem destrói: educa e reforma”.*

*À Prof^a Dr^a **Cecília Pedroso Turssi**, pela seriedade e competência em seu trabalho, e principalmente pelo tratamento estatístico dos dados deste trabalho.*

*À **Vivian Colucci**, pela fundamental ajuda no desenvolvimento do projeto e delineamento do estudo.*

*Às amigas **Táisa Penazzo Lepri** e **Renata Siqueira Scatolin**. Seria mais difícil sem vocês ao meu lado, me apoiando, ajudando e comemorando a cada passo certo. Só consigo me lembrar de coisas boas com vocês! Obrigada pela amizade, cumplicidade e abrigo! “Muita gente entra e sai em tua vida ao longo dos anos. Mas só os verdadeiros amigos deixam impressões em seu coração”.*

*Ao **Marlon**, amigo de todas as horas, obrigada pelo companheirismo, bom humor e por me ensinar que depende de nós tornarmos pequenos gestos do dia a dia em momentos de grande alegria.*

Agradecimientos

À Universidade de São Paulo, representada pelo Magnífico Reitor João Grandino Rodas.

À Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, representada pelo Digníssimo Diretor Prof. Dr. Osvaldo Luiz Bezzon e pelo Vice-Diretor Prof. Dr. Valdemar Mallet da Rocha Barros pela oportunidade da realização do curso de Mestrado.

À Coordenação Geral da Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, na pessoa da Profa. Dra. Léa Assed Bezerra da Silva.

À Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, na pessoa do Prof. Dr. Manoel Damião de Sousa Neto.

Ao Chefe do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, na pessoa do Prof. Dr. Ricardo Gariba Silva.

À CAPES pela concessão do auxílio financeiro sob a forma de bolsa de estudo e a possibilidade da realização de um sonho.

À Prof^a Dr^a Regina Guenka Palma-Dibb, pela benevolência, sempre prestativa quando solicitada, e por colocar a disposição o aparelho laser de Nd:YAG utilizado nesta pesquisa.

Aos Profs. Drs. Alma Blásida Concepcion Elizaur Benitez Catirse, César Bataglioni, Luciano Bachmann, Luiz Carlos Pardini, Marcelo

Mazzeto, Marco Antonio Moreira Rodrigues da Silva, Maria Cristina Borsatto, Mônica Campos Serra, Regina Guenka Palma Dibb, Ricardo Gariba Silva, Silmara Aparecida Milori Corona, Telma Nunes do Nascimento, com quem tive o prazer de assistir aulas durante a Pós-graduação, pela expressiva contribuição para meu desenvolvimento científico e acadêmico.

Ao Prof. Dr. Vanderley Bagnato, do Instituto de Física de São Carlos (IFSC-USP), por disponibilizar a utilização do aparelho laser de Er:YAG, e à Carla Fontana, pelo auxílio na utilização do aparelho.

Aos amigos Cesar Penazzo Lepri, Daniel Galafassi, Juliana dos Reis Derceli, Juliana Faraoni, Renata Siqueira Scatolin e Taísa Penazzo Lepri pela amizade, pelas trocas de conhecimentos indispensáveis para o crescimento de uma equipe, e pela disponibilidade sempre que precisei.

Ao Carlos, secretário do Curso de Pós-Graduação em Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, pela prontidão e boa vontade em ajudar.

À técnica Patrícia Marchi, do Laboratório de Pesquisa em Dentística da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, pela disponibilidade e preparo de soluções para realização desta pesquisa.

À Isabel e Regiane, secretárias da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, por ser sempre recebida com bom humor e simpatia.

À Amália e Maria Isabel, secretárias do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

À Luiza e Rosângela, funcionárias do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

Epígrafe

*“Nada que se consiga
sem pena e sem trabalho
é verdadeiramente valioso”.*

(Joseph Addison)

RESUMO

CHIGA, S. **Influência da associação do verniz fluoretado aos lasers de Er:YAG e Nd:YAG na permeabilidade da dentina radicular erodida.** 2011, 53 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

A erosão em dentina radicular tem se intensificado e novas terapias foram introduzidas para possibilitar a diminuição da sintomatologia dolorosa. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da associação do verniz fluoretado aos lasers de Er:YAG ou Nd:YAG na permeabilidade da dentina radicular erodida. Sessenta fragmentos de dentina radicular bovina (2 x 2 x 2 mm) foram submetidos a um desafio erosivo inicial, por meio da imersão em ácido cítrico a 0,3% (pH= 3,2) por duas horas. A seguir, os espécimes foram divididos aleatoriamente em seis grupos (n=10) de acordo com o tratamento: verniz fluoretado, verniz fluoretado + laser de Er:YAG, verniz fluoretado + laser de Nd:YAG, verniz placebo (sem flúor, controle), verniz placebo + laser de Er:YAG, verniz placebo + laser de Nd:YAG. Após 24 horas do emprego do verniz, foram aplicados os lasers de Er:YAG (100 mJ e 3 Hz) ou de Nd:YAG (70 mJ e 15 Hz). Novos desafios erosivos utilizando o mesmo ácido, durante cinco dias, quatro vezes ao dia, por um minuto foram realizados após o tratamento da dentina. Para análise da permeabilidade os espécimes foram submetidos à coloração histoquímica. Os espécimes foram seccionados e analisados por microscopia óptica. A permeabilidade relativa foi quantificada pela relação entre a profundidade de penetração dos íons cobre e espessura da dentina. Os dados obtidos foram analisados através da ANOVA a dois critérios e a interação entre os fatores laser e verniz não foi significativa ($p= 0,858$), bem como para o fator verniz ($p= 0,768$). Constatou-se efeito significativo para o fator laser ($p< 0,001$), sendo que os valores de permeabilidade na dentina radicular irradiada com os lasers Er:YAG ou Nd:YAG não diferiram entre si e ambos foram inferiores àqueles

observados para o grupo não irradiado. Pode-se concluir que lasers de Er:YAG e Nd:YAG podem controlar a permeabilidade da dentina radicular erodida, independentemente da aplicação de verniz.

Palavras-Chave: Erosão de dente. Dentina. Érbio. Neodímio. Fluoreto. Permeabilidade da dentina.

ABSTRACT

CHIGA, S. **Permeability of eroded root dentine following application of fluoride varnish and Er:YAG and Nd:YAG lasers.** 2011. 53 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2011.

The prevalence of root dentine erosion has increased and new therapies were introduced to minimize painful symptoms. This study evaluated the combined effect of fluoride varnish to Er:YAG and Nd:YAG lasers irradiation in controlling the permeability of eroded root dentine. Sixty fragments of bovine slabs (2 x 2 x 2 mm) were subjected to an erosive challenge, through immersion in citric acid 0.3% (pH= 3.2) during two hours. Then, the specimens with pre-formed lesions were divided in six groups (n=10) according to the respective treatment: fluoride varnish, fluoride varnish + Er:YAG laser, fluoride varnish + Nd:YAG, placebo varnish (F-free, control), placebo varnish + Er:YAG laser, placebo varnish + Nd:YAG laser. Twenty-four hours after varnish application, specimens were irradiated with Er:YAG laser (100 mJ, 3 Hz) or Nd:YAG laser (70 mJ and 15 Hz). After surface treatment, further erosive challenges were performed with the same acid during 1 min, 4 times a day, for 5 days. Specimens were sectioned and subjected to optical microscopic. The relative permeability was quantified by the ratio between the depth of penetration of copper ions and the thickness of dentin. Two-way ANOVA demonstrated no significant interaction between laser and varnish ($p= 0,858$), as well as for varnish ($p= 0,768$). There was significant effect of laser ($p< 0,001$), and permeability values of irradiated dentine had no difference when comparing both tested lasers and both of them were lower than that observed for non-irradiated group. It may be concluded that Er:YAG and Nd:YAG lasers can control the permeability of root dentin eroded, regardless of fluoride varnish application.

Keys words: Dental erosion. Dentin. Erbium. Neodimium. Fluoride. Permeability of dentin.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	18
2	PROPOSIÇÃO.....	22
3	MATERIAIS E MÉTODO.....	24
4	RESULTADOS.....	31
5	DISCUSSÃO.....	33
6	CONCLUSÃO.....	39
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41

Introdução

A dentina radicular é constituída estruturalmente por túbulos dentinários, que contêm fluidos e prolongamentos odontoblásticos, e por uma matriz de fibras colágenas, dispostas em pequenos feixes ao redor e entre os prolongamentos odontoblásticos. Os túbulos representam o percurso das células odontoblásticas da junção amelodentinária ou cimento para a câmara pulpar, cujo movimento de fluidos do seu interior tem papel da condução de estímulos sensitivos (MARSHALL *et al.*, 1997).

A perda de esmalte ou a recessão gengival podem levar à exposição de dentina radicular (CANADIAN 2003; ORCHARDSON *et al.*, 2006). Nesses casos, quando a *smear layer* ou *smear plugs* são removidos, as terminações externas dos túbulos dentinários são abertas (DABABNEH *et al.*, 1999). Com o aumento ou alteração do fluxo dos fluidos no interior dos túbulos por estímulos térmicos, táteis ou químicos em regiões próximas à superfície exposta, a estimulação dos odontoblastos geram a sensação dolorosa, chamada de hipersensibilidade dentinária.

Agentes erosivos tendem a remover esmalte e promover a abertura dos túbulos dentinários (OSBORNE-SMITH *et al.*, 1999; EISENBURGER *et al.*, 2002). Tal patologia pode ser causada por ácidos intrínsecos, como vômitos recorrentes ou regurgitação do conteúdo gástrico (JARVINEN *et al.*, 1991; SCHEUTZEL, 1996; CORRÊA *et al.*, 2008; SCHLUETER *et al.*, 2010) ou por fatores extrínsecos, que incluem a ingestão de alimentos, medicamentos ou bebidas ácidas (ZERO *et al.*, 1996; DUGMORE & ROCK 2004; EHLEN *et al.*, 2008) sendo a ingestão frequente de bebidas apontada como uma das maiores causas da erosão dental (BARBOUR & REES 2004; HONÓRIO *et al.*, 2010).

A prevalência de erosão em esmalte em adolescentes, cujo desgaste abrasivo ou de atrição são menos prováveis de serem encontrados, varia de 13 a 65% no Brasil (PERES *et al.*, 2005; AUAD *et al.*, 2007; CORRER *et al.*, 2009; VARGAS-FERREIRA *et al.*, 2010;

GURGEL *et al.*, 2011). No entanto, a prevalência de hipersensibilidade dentinária é maior em mulheres de 20 a 69 anos (RONG *et al.*, 2010).

Dentre os tratamentos recomendados para oclusão dos túbulos dentinários, a aplicação do verniz fluoretado (CORONA *et al.*, 2003; ORCHADSON, 2006; MAGALHÃES *et al.*, 2010) tem trazido bons resultados *in vitro*, com redução da permeabilidade dentinária (KUMAR *et al.*, 2005; PINTO *et al.*, 2010) e redução da sensibilidade comprovados clinicamente (CORONA *et al.*, 2003; KUMAR *et al.*, 2005; RITTER *et al.*, 2006). Quando o fluoreto entra em contato com a apatita, ocorre a formação de fluoreto de cálcio, ou seja, microcristais globulares solúveis em meio alcalino (OGAARD *et al.*, 1994). Esses cristais se depositam na entrada dos túbulos dentinários, diminuindo a movimentação dos fluidos intratubulares. O verniz fluoretado aumenta o tempo de ação do fluoreto de sódio (NaF) em contato com a dentina exposta, melhorando a eficácia na diminuição da sensibilidade dentinária (GAFFAR *et al.*, 1999; LAN *et al.*, 1999). Em dentina radicular erodida, o diâmetro dos túbulos é quase totalmente obliterado, e clinicamente há diminuição da sintomatologia dolorosa (KUMAR *et al.*, 2005).

Outra terapia que foi empregada para redução da permeabilidade de dentina radicular foi a aplicação dos lasers de Er:YAG e Nd:YAG (SCHALLER *et al.*, 1997; ARANHA *et al.*, 2005). Estudos de microscopia eletrônica de varredura (COX *et al.*, 1994; LIU *et al.*, 1997; DE MAGALHÃES *et al.*, 2004; KUMAR *et al.*, 2005; NAYLOR *et al.*, 2006) e estudos clínicos (LIER *et al.*, 2002; SCHWARZ *et al.*, 2002; BIRANG *et al.*, 2007; KARA *et al.*, 2009; IPCI *et al.*, 2009) avaliaram o emprego dos lasers para vedamento de túbulos e tratamento da hipersensibilidade dentinária. No entanto, pouco se sabe sobre a ação dos lasers de Er:YAG (ARANHA *et al.*, 2005) e Nd:YAG (SCHALLER *et al.*, 1997; ARANHA *et al.*, 2005) na permeabilidade da dentina radicular submetidos a desafios erosivos.

O laser de Er:YAG (60 mJ, 2 Hz, 4 aplicações de 20 segundos, a 6 mm da superfície) quando aplicado em dentina radicular, reduziu a permeabilidade em 85% das amostras

(ARANHA *et al.*, 2005), por meio da obliteração parcial dos túbulos dentinários. Em dentina radicular erodida o laser de Er:YAG (60 mJ, 2 Hz, sem refrigeração, por 60 segundos) foi capaz de ocluir os túbulos, apresentando sinais visíveis de derretimento da superfície (BADRAN *et al.*, 2011).

Com o laser de Nd:YAG, a superfície parece tornar-se fusionada e derretida e, ao solidificar, apresenta uma superfície vitrificada (CIARAMICOLI *et al.*, 2003; ARANHA *et al.*, 2005; ZAPLETALOVÁ *et al.*, 2007). Liu *et al.* (1997) e Naylor *et al.* (2006) apontaram oclusão parcial de túbulos dentinários e estudos *in vivo* (BIRANG *et al.*, 2007; KARA *et al.*, 2009; DILSIZ *et al.*, 2010) obtiveram resultados favoráveis, com efeitos clínicos persistentes.

Frente a criação de uma barreira formada pela precipitação de cristais de fluoreto de cálcio (GRENHILL *et al.*, 1981; GAFFAR *et al.*, 1999) somada ao fusionamento da superfície devido o emprego dos lasers de Er:YAG e Nd:YAG (CAKAR *et al.*, 2008; DE MAGALHÃES *et al.*, 2004), a associação destes poderia trazer resultados favoráveis para o vedamento de túbulos dentinários.

Proposição

O objetivo do presente estudo foi avaliar *in vitro* o efeito da associação do verniz fluoretado aos lasers de Er: YAG e Nd: YAG em dentina radicular erodida por meio da análise de permeabilidade.

*Materiais e
Método*

Delineamento experimental

Os fatores em estudo foram *Tratamento com verniz* em 2 níveis (fluoretado e placebo-sem flúor) e *Irradiação com laser* em 3 níveis (laser de Er:YAG; laser de Nd:YAG; não-irradiado - controle). A amostra do experimento foi composta por 60 fragmentos de dentina radicular bovina divididos aleatoriamente entre 6 grupos (n=10). A variável de resposta foi permeabilidade dentinária. A figura 1 mostra o fluxograma deste experimento.

Seleção dos dentes

Para a realização do estudo, foram selecionados incisivos bovinos recém-extraídos armazenados em solução timol 0,1% a 4°C (DOMICINI *et al.*, 2001), que foram limpos com o auxílio de pasta de pedra pomes e água com escovas de Robinson e examinados através de estéreo-microscópio (Leica S6 D Stereozoom, Leica Microsystems AG, Suíça) com aumento de 40x, descartando-se aqueles com trincas ou anomalias de estrutura.

Preparo dos fragmentos de dentina radicular

Para obtenção dos fragmentos de dentina radicular, foi descartada a coroa por meio de um corte na junção amelocementária. Do terço cervical da raiz, obteve-se dois fragmentos de dimensão 2 x 2 x 2 mm, com disco diamantado (15HC, Buehler, Alemanha) em cortadeira de precisão (Isomet 1000, Buehler, Alemanha) refrigerada à água.

As dimensões dos fragmentos foram checadas com auxílio de um paquímetro digital (Mitutoyo Sul-americana, Suzano, SP, Brasil), totalizando 60 amostras (n= 10). A camada de cimento de cada espécime foi removida com lixas abrasivas #1200 (Saint-Gobain Abrasivos Ltda, Igarassú, Pernambuco, Brasil) (GANNS *et al.*, 2000).

Os espécimes foram isolados com esmalte para unha ácido-resistente (Colorama, São Paulo, SP, Brasil) em duas camadas, exceto na face vestibular que ficou exposta aos desafios ácidos.

Formação das lesões de erosão

Para formação das lesões de erosão, os espécimes foram submetidos a um desafio com ácido cítrico a 0,3% (pH = 3,2) e levados à máquina de agitação (CT155, Cientec, Piracicaba, SP, Brasil) por 2 horas (VANUSPONG *et al.*, 2002), com velocidade de agitação 100 rpm. Este desafio consistiu na imersão individual em 20 mL do referido ácido em um frasco erlenmeyer. Após o desafio erosivo inicial, os espécimes foram enxaguados por 10 segundos com água deionizada e armazenados em 10 mL de saliva artificial, por 24 horas a temperatura de 37°C.

A saliva utilizada foi a descrita por McKnight-Hanes e Whitford (1992) e modificada por Amaechi *et al.* (1999). A saliva apresentava em sua composição metilhidroxibenzoato (2,0 g), carboximetilcelulose (10,0 g), KCl (0,625 g); MgCl₂.6H₂O (0,059 g); CaCl₂.2H₂O (0,166 g); K₂HPO₄ (0,804 g); e KH₂PO₄ (0,326 g) em 1000 mL de solução aquosa.

Tratamento Superficial

Após a formação das lesões de erosão, os espécimes foram divididos da seguinte forma: tratamento com verniz (fluoretado ou placebo), e subdivididos de acordo com a irradiação com laser: Er:YAG, Nd:YAG e não-irradiado. A composição dos vernizes empregados é mostrada na tabela 1.

Foi realizada a aplicação de aproximadamente 0,1 g (ATTIN, 2005) do verniz (fluoretado ou placebo) por meio de um aplicador descartável (Microbrush Regular 2 mm, Vigodent AS Indústria e Comércio, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) em superfície seca. Um minuto

após a aplicação dos vernizes (MAGALHÃES *et al.*, 2008), os espécimes foram imersos em saliva artificial durante 24 horas, a 37°C. Passado este período, a camada de verniz foi removida com lâmina de bisturi nº 15.

Tabela 1. Vernizes utilizados e sua composição.

Material	Composição	Fabricante	Lote
Verniz fluoretado (Duraphat®)	Fluoreto de sódio a 5%, 22.600 ppm de flúor em base de resina, álcool 33,1%, resina natural, cera, sacarina e aromatizante (pH 4,5)	Colgate-Palmolive, SP, Brasil	08.09-02
Verniz sem fluor (Fórmula & Ação®)	Xilitol, resina hidrogenada, espessante, conservante, aromatizante, água deionizada e polímero acrílico	Fórmula & Ação, SP, Brasil	211 828/1

Para irradiação dos espécimes, inicialmente esses foram fixados em resina de poliéster (Milflex Indústria Química, São Bernardo do Campo, Brasil) usando cilindros de policloreto de vinil (PVC) de 2 cm de diâmetro e 1 cm de altura com a superfície de dentina voltada para cima com cera para escultura (Asper Indústria Química Ltda, São Caetano do Sul, SP, Brasil). Nos espécimes que receberam irradiação com laser de Er:YAG (Twin Light, Fidelis plus Fotona, Ljubljana, Eslovênia), foi empregada a energia de 100 mJ e frequência de 3 Hz, comprimento de onda de 2940 nm, no modo não-contato, desfocado a uma distância de 17 mm do substrato (BIRANG *et al.*, 2007), sob refrigeração, utilizando spray de água de 1,5 mL/min (COLUCCI *et al.*, 2009). A irradiação foi realizada de maneira homogênea, por meio da varredura da área da dentina radicular empregando-se um dispositivo que promove a fixação da caneta do laser. O tempo total de irradiação foi de aproximadamente 10 segundos por espécime.

Para irradiação com laser de Nd:YAG (SmartFile, Deka, Firenze, Itália), foram utilizados os parâmetros 1,05 W, 70 mJ, 15 Hz, fibra de quartzo de 300 µm de diâmetro,

comprimento de onda 1064 nm no modo contato (BIRANG *et al.*, 2007) de maneira uniforme em toda superfície. A cada três fragmentos irradiados a fibra óptica do laser de Nd:YAG foi clivada.

Os espécimes que não receberam irradiação permaneceram em umidade relativa, à temperatura de 4°C.

Desafios ácidos

Após 24 horas do tratamento da superfície de dentina foram realizados novos desafios erosivos, por meio da imersão em 50 mL de ácido cítrico a 0,3% (pH: 3,2) (WEST *et al.*, 2000), quatro vezes ao dia (8, 10, 14, 16h) durante 1 minuto, por 5 dias (MAGALHÃES *et al.*, 2010). Após cada desafio erosivo, os espécimes foram enxaguados durante 10 segundos e armazenados em saliva artificial a 37°C. Antes do primeiro desafio de cada dia a saliva era trocada.

Método de Coloração

Finalizados os desafios, os espécimes de dentina de cada grupo experimental, foram individualmente imersos em 1 mL de solução aquosa de sulfato de cobre a 10%, por 30 minutos. A seguir, os fragmentos foram secos em gaze e imersos em 1 mL de solução alcoólica de ácido rubeânico a 1%, por 30 minutos, armazenados a 37°C. O referido ácido reage com os íons cobre, formando rubeanato de cobre, de coloração verde escuro (CARRASCO *et al.*, 2003). Após a coloração, os corpos-de-prova foram lavados com água destilada por 15 segundos, secos e mantidos individualmente em um recipiente vedado, com algodão embebido em amônia por 7 dias. Protocolo semelhante de coloração histoquímica foi descrito por Carrasco *et al.* (2003).

Os espécimes foram incluídos em resina de poliéster para serem seccionados com disco diamantado (15HC, Buehler, Alemanha) transversalmente em cortadeira de precisão (Isomet 1000, Buehler, Alemanha) refrigerada à água. Foram obtidas três secções com espessura média de 400 µm. Estas foram reduzidas com lixa d'água em ordem decrescente, de #600 e #1200 até se obter a espessura aproximada de 200 µm.

Avaliação da permeabilidade

As imagens para as análises da permeabilidade foram obtidas com auxílio de câmera fotográfica digital (Sony, Carl AxioCam Zeiss, Japão) acoplada ao microscópio óptico (AxioStar Plus, Carl Zeiss-Jena, Alemanha). A avaliação da permeabilidade foi realizada utilizando-se o software (Axiovision 4.6, Carl Zeiss, Alemanha) para captura e análise de imagem, que permitiu a mensuração da extensão da penetração dos íons cobre. Em cada uma das três secções obtidas, foram realizadas cinco avaliações de maior penetração da solução traçadora. A média desses cinco valores representou a permeabilidade em cada secção. Para cada espécime foram obtidos, portanto, quinze valores de permeabilidade relativa, calculada pela seguinte fórmula: permeabilidade = [(extensão da penetração da solução) / (espessura da dentina) x 100].

Análise estatística

Após checar a homogeneidade de variância pelo teste de Levene, os dados de permeabilidade foram analisados pela ANOVA dois critérios. O teste de Tukey, com nível de significância de 5%, foi empregado para detectar as diferenças. O software Statgraphics Centurion XV (StatPoint Technologies Inc., USA) foi empregado para realizar a análise estatística.

Figura 1. Fluxograma

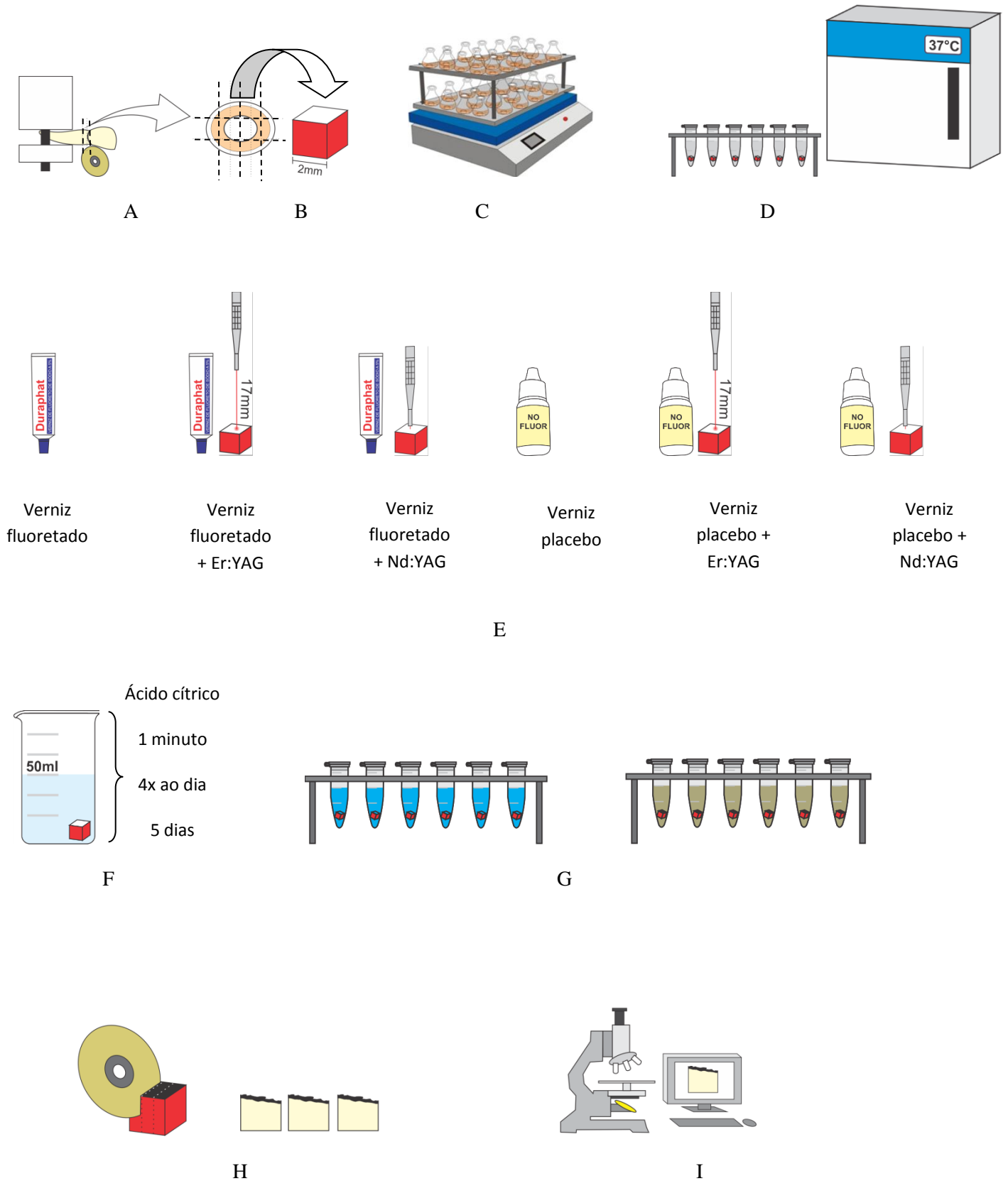


Figura 1. A. Secção dos espécimes. B. Obtenção dos fragmentos. C. Desafio erosivo inicial. D. Armazenamento dos espécimes em estufa. E. Divisão dos espécimes em seis grupos, de acordo com o tratamento. F. Formação das lesões de erosão. G. Método de coloração histoquímica. H. Secção dos espécimes em 3 partes. I. Digitalização das imagens e medidas de penetração.

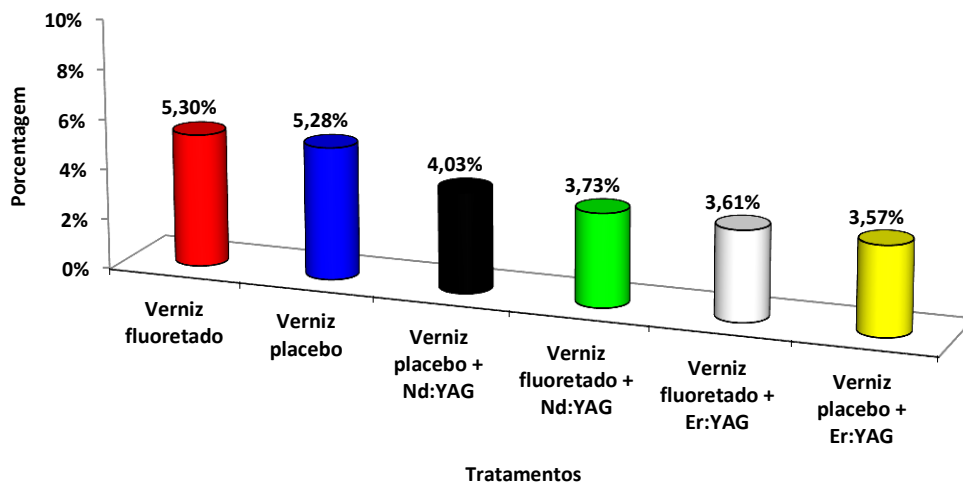
Resultados

A ANOVA a dois critérios revelou que não houve efeito significativo da interação entre os fatores *Laser* e *Verniz* ($p = 0,858$). Para o fator *Verniz* ($p = 0,768$) não se observou efeito significativo. Constatou-se efeito significativo para o fator *Laser* ($p < 0,001$). O teste de Tukey mostrou que os valores de permeabilidade na dentina radicular irradiada com os lasers de Er:YAG e Nd:YAG não diferiram entre si e que ambos foram significativamente inferiores àqueles observados para o grupo não irradiado (Tabela 2). A figura 2 mostra a permeabilidade da dentina erodida após diferentes tratamentos.

Tabela 2. Médias (desvio padrão) da porcentagem da permeabilidade em dentina após desafios erosivos para os diferentes grupos experimentais (%).

	Laser Ausente	Er:YAG	Nd:YAG
Verniz Placebo	5,28 (1,39)	3,57 (0,60)	4,03 (0,87)
Verniz Fluoretado	5,30 (1,39)	3,61 (0,90)	3,73 (1,09)

Figura 2. Porcentagem da permeabilidade em dentina após desafios erosivos para os diferentes grupos experimentais



Discussão

Substâncias ácidas são capazes de remover a *smear layer* e promover abertura dos túbulos dentinários, levando ao aumento da permeabilidade dentinária (PRATI *et al.*, 2003). É provável que bebidas ácidas sejam responsáveis por alterações na permeabilidade dentinária e para a hipersensibilidade (PRATI *et al.*, 2002). O verniz fluoretado embora não oclua totalmente os túbulos dentinários, promove diminuição da permeabilidade em dentina radicular (PINTO *et al.*, 2010). Além disso, estudos com lasers de Er:YAG (ARANHA, 2005; SCHWARZ, 2002; BIRANG, 2007) e de Nd:YAG (LIU, 1997; KARA, 2009; LIER, 2002) em dentina radicular também têm mostrado resultados favoráveis na diminuição da permeabilidade e da sintomatologia dolorosa. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a associação do verniz fluoretado aos lasers de Er:YAG ou Nd:YAG em dentina radicular erodida por meio de análise de permeabilidade.

Ao aplicar verniz fluoretado a 5% seguido da aplicação do laser de Nd:YAG (30 mJ, 10 pulsos por segundo) em dentina, Lan *et al.* (1999) observaram que mais de 90% dos túbulos dentinários estavam ocluídos, com remanescentes de verniz em dentina peritubular, ao redor dos orifícios dos túbulos; concluíram que os resquícios de verniz fluoretado foram provavelmente queimados na entrada dos túbulos dentinários pela irradiação e estes não poderiam ser removidos com escovação.

Não há na literatura estudos que avaliaram a associação do verniz fluoretado ao laser de Er:YAG. Em estudos de associação do gel de fluoreto de sódio 2% ao laser de Er:YAG (30 Hz, 60 mJ por pulso, 10 segundos, sem refrigeração) em dentina radicular erodida (CAKAR *et al.*, 2008), a superfície apresentou-se com orifícios dos túbulos dentinários claramente ocluídos e achatados para o interior das crateras.

Embora haja na literatura relatos de que tenha efeitos positivos, os achados deste estudo mostraram que a interação dos fatores *Verniz e Laser* não foi estatisticamente significativa.

Isso pode ser explicado pelo fato do verniz fluoretado utilizado ser consistente e espesso, o que leva à dificuldade de penetração em dentina (ARENDS *et al.*, 1997). Após a aplicação e remoção, o verniz penetra menos de 5 μm (ARENDS *et al.*, 1997). Considerando-se que o tamanho dos cristais de fluoreto de cálcio formados é de 0,05 μm (ABSI, 1987; LIU, 1997), uma única aplicação de verniz fluoretado não vedaria o diâmetro total do túbulo.

Conforme analisado por Magalhães *et al.* (2011), fragmentos de esmalte tratados com laser de Nd:YAG e verniz fluoretado tiveram os precipitados de flúor completamente dissolvidos após sucessivos desafios erosivos. Provavelmente, o revestimento de fluoreto de cálcio que é mantido em pH neutro foi perdido durante os desafios ácidos, e ocorreu um aumento da taxa de dissolução do fluoreto de cálcio (LAGERLOF *et al.*, 1988).

Para o fator *Verniz* não se observou efeito significativo, ou seja, não houve diferença nos valores de permeabilidade quando da aplicação do verniz fluoretado ou sem flúor. Possivelmente, isso pode ser atribuído ao fato de que uma única aplicação de verniz não foi suficiente para vedar os túbulos dentinários (PAES LEME *et al.*, 2004). A liberação de flúor do verniz fluoretado ocorre principalmente na primeira semana, e aumenta consideravelmente se aplicado três vezes por semana (CASTILLO *et al.*, 2004). A aplicação de fluoretos cria uma barreira pela precipitação de cristais de fluoreto de cálcio que são formados especialmente no interior dos túbulos dentinários. Esses precipitados são lentamente solúveis em saliva, o que explica a ação transitória desta barreira (PORTO *et al.*, 2009).

Magalhães *et al.* (2010) observaram que o verniz fluoretado a 5% (2,26% F) reduziu significativamente o desgaste em dentina submetida a desafios erosivos (30 mL de Sprite Zero por 90 segundos, 4 vezes ao dia, durante 5 dias) apenas no primeiro dia em comparação com o verniz sem flúor. Depois disso, os resultados entre os dois vernizes foram similares, assemelhando-se aos resultados obtidos neste estudo.

Para o fator *Laser*, os valores de permeabilidade dos grupos irradiados foram significativamente inferiores àqueles observados para os grupos não-irradiados, sugerindo que

os lasers de Er:YAG e Nd:YAG podem contribuir para o controle da erosão da dentina radicular submetida a desafios ácidos.

O potencial efeito do laser de Er:YAG no controle da permeabilidade dentinária é baseado na evaporação da água da dentina, o que leva à degranulação ou coagulação dos elementos orgânicos, bloqueando assim a entrada dos túbulos dentinários (WATANABE *et al.*, 2003; DILSIZ *et al.*, 2010). O laser de Nd:YAG pode derreter a estrutura de hidroxiapatita que, sob refrigeração, pode ressolidificar formando cristais maiores que a estrutura inicial, como relatado por Lee *et al.* (2002). Em estudos clínicos, o sucesso obtido no controle da hipersensibilidade dentinária (YONAGA *et al.*, 1999; KARA *et al.*, 2009) pode ter ocorrido devido o efeito térmico que promove o vedamento de túbulos dentinários (HE *et al.*, 2009).

O aumento da temperatura gerado pelos lasers resulta em fusão da dentina, com decomposição de hidroxiapatita, carbonização do colágeno e proteínas (YAMADA *et al.*, 2004). Alterações químicas podem ter levado ao aumento da resistência ácida devido à redução do conteúdo de carbonato (FEATHERSTONE *et al.*, 1987). Essa redução leva à baixa solubilidade da apatita (FEATHERSTONE, 2004).

O emprego do laser de Nd:YAG (60, 90 ou 120 mJ, 10 pulsos por segundo) em dentina radicular e posteriormente submetida a um desafio erosivo (ácido fosfórico 32%, por 60 segundos) mostraram menores valores de permeabilidade nas amostras irradiadas em relação ao grupo controle (sem irradiação), causando mudanças que resultaram em diminuição da dissolução em ácido (SCHALLER *et al.*, 1997). Em dentina radicular erodida irradiada com laser de Nd:YAG (0,6 W, 10 Hz, 60 mJ, 85 mJ/cm²) e posteriormente submetida a desafios com bebidas ácidas (suco de limão, suco de maracujá, refrigerante de cola e vinho), a dentina manteve o aspecto da superfície fusionada, com túbulos parcialmente obliterados (NAYLOR *et al.*, 2006).

Neste estudo, foi utilizada a dentina bovina, que é um potencial substituto da dentina radicular humana, uma vez que é facilmente obtida devido o abatimento de bovinos para consumo humano e não há propósitos comerciais em relação a seus dentes (TANAKA *et al.*, 2008). Uma vez que a dentina tem baixo conteúdo mineral em relação ao esmalte, é mais susceptível à erosão durante os desafios (MAGALHÃES *et al.*, 2010). O cimento foi removido com lixas abrasivas (GANSS *et al.*, 2000) a fim de certificar a exposição dentinária e simular desafio erosivo mais agressivo.

A quantidade de desafios erosivos aos quais os espécimes foram imersos em ácido cítrico (quatro vezes ao dia, durante cinco dias) simularam o tempo de ingestão de bebidas ácidas. A escolha do ácido cítrico foi devido este ser um dos principais ácidos em frutas, vegetais e sucos prontos para beber (WEST *et al.*, 2000).

O verniz fluoretado (fluoreto de sódio a 5%, 22.300 ppm de flúor) foi escolhido por ser frequentemente usado em clínicas odontológicas (MAGALHÃES *et al.*, 2010) e recomendado como terapia para oclusão de túbulos dentinários (ORCHARDSON *et al.*, 2006). Além disso, atende alguns dos critérios do agente dessensibilizante ideal (GROSSMAN *et al.*, 1934): não é irritante à polpa, é indolor e de fácil aplicação. O verniz sem flúor simula a proteção do verniz fluoretado, formando apenas uma barreira mecânica, sem os efeitos químicos da ação do flúor.

Os parâmetros utilizados para os lasers de Er:YAG e Nd:YAG foram baseados no estudo de Birang *et al.* (2007), cujos resultados clínicos apresentaram-se satisfatórios por 6 meses. A análise de permeabilidade tem sido usada como um método de avaliação para estudos de erosão em dentina após irradiação dos lasers de Er:YAG e Nd:YAG (SCHALLER *et al.*, 1997; ARANHA *et al.*, 2005).

O controle da permeabilidade da dentina radicular erodida por meio da irradiação com os lasers de Er:YAG e Nd:YAG pode sofrer influência de forças abrasivas, como a escovação dental. Assim, novos estudos devem ser

conduzidos para que o efeito protetor frente a desafios ácidos seja mantido ao longo do tempo.

Conclusão

Considerando os resultados obtidos e a metodologia utilizada neste estudo, pode-se concluir que lasers de Er:YAG e Nd:YAG controlam a permeabilidade em dentina radicular erodida, independente da aplicação de verniz.

*Referências
bibliográficas*

1. Absi EG, Addy M, and Adams D. Dentine hypersensitivity. A study of the patency of dentinal tubules in sensitive and non-sensitive cervical dentine. *J Clin Periodontol.* 1987;14:280-284.
2. Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM. Techniques for the production of dental eroded lesions *in vitro*. *J of Oral Rehabil.*1999;26:97-102.
3. Aranha ACC, Domingues FB, Franco VO, Gutknecht N, Eduardo CP. Effects of Er:YAG and Nd:YAG lasers on dentin permeability in root surfaces: a preliminary *in vitro* study. *Photomed Laser Surg.* 2005; 23(5):504-508.
4. Arends J, Duschner H, Ruben JL. Penetration of varnishes into demineralized root dentine *in vitro*. *Caries Res.* 1997; 31:201-205.
5. Attin T, Grieme R, Paqué F, Hannig C, Buchalla W, Attin R. Enamel fluoride uptake of a novel water-based fluoride varnish. *Arch Oral Biol.* 2005;50(3):317-322.
6. Auad SM, Waterhouse PJ, Nunn JH, Steen N, Moynihan PJ. Dental erosion among 13- and 14-year-old Brazilian schoolchildren. *Int Dent J.* 2007;57(3):161-167.
7. Badran Z, Boutigny H, Struillou X, Baroth S, Laboux O, Soueidan A. Tooth desensitization with an Er:YAG laser: *in vitro* microscopical observation and a case report. *Laser Med Sci.* 2011;26:139-142.

8. Barbour ME, Rees Js. The laboratory assessment of enamel erosion: a review. *J Dent.* 2004;32(8):591-602.
9. Birang R, Poursamimi J, Gutknecht N, Lampert F, Mir M. Comparative evaluation os the effects od Nd:YAG and Er:YAG laser in dentin hyersensitivity treatment. *Lasers Med Sci.* 2007;22:21-24.
10. Cakar G, Kuru B, Ipci SD, Aksoy ZM, Okar I, Yilmaz S. Effect of Er:YAG and CO2 lasers with and without sodium fluoride gel on dentinal tubules: A scanning electron microscope examination. *Photomed Laser Surg.* 2008;26(6):565-571.
11. Canadian Advisory Board on Dentin Hypersensitivity. Consensus-based recommendations for the diagnosis and management of dentin hypersensitivity. *J Can Dent Assoc.* 2003;69(4):221.226.
12. Carrasco LD, Fröner IC, Corona SAM, Pécora JD. Effect of internal bleaching agents on dentinal permeability of non-vital teeth: quantitative assessment. *Dent Traumatol.* 2003;19:85-89.
13. Castillo JL, Milgrom P. Fluoride release from varnishes in two *in vitro* protocols. *J Am Dent Assoc.* 2004;135(12):1696-1699.

14. Ciaramicoli MT, Carvalho RC, Eduardo CP. Treatment of cervical dentin hypersensitivity using neodymium:yttrium-aluminum-garnet laser. *Lasers Surg Med.* 2003;33:358–362.
15. Colucci V, Do Amaral FL, Pécora JD, Palma-Dibb RG, Corona AS. Water flow on erbium:yttrium-aluminum-garnet laser irradiation: effects on dental tissues. *Lasers Med Sci.* 2009; 24(5):811-818.
16. Corona SAM, Nascimento TN, Catirse ABE, Lizarelli RFZ, Dinelli W, Palma-Dibb RG. Clinical evaluation of low-level laser therapy and fluoride varnish for treating cervical dentinal hypersensitivity. *J Oral Rehab.* 2003;30:1183-1189.
17. Corrêa MC, Lerco MM, Henry MA. Study in oral cavity alterations in patients with gastroesophageal reflux disease. *Arq Gastroenterol.* 2008;45(2):132-136.
18. Correr GM, Alonso RC, Correa MA, Campos EA, Baratto-Filho F, Puppini-Rontani RM. Influence of diet and salivary characteristics on the prevalence of dental erosion among 12-year-old schoolchildren. *J Dent Child.* 2009;76(3):181-187.
19. Cox CJM, Pearson GJ, Palmer G. Preliminary *in vitro* investigation of the effects of pulsed Nd:YAG laser radiation on enamel and dentine. *Biomaterials.* 1994;15(14):1145-1151.

20. Dababneh RH, Khouri AT, Addy M. Dentine hypersensitivity- an enigma? A review of terminology, epidemiology, mechanisms, aetiology and management. *Br Dent J.* 1999;187(11):606-611.
21. De Magalhães MF, Matson E, De Rossi W, Alves JB. A morphological *in vitro* study of the effects of Nd:YAG laser on irradiated cervical dentin. *Photomed Laser Surg.* 2004;22(6):527-532.
22. Dilsiz A, Aydin T, Canakci V, Gungormus M. Clinical evaluation of Er:YAG, Nd:YAG, and diode laser therapy for desensitization of teeth with gingival recession. *Photomed and Laser Surg.* 2010;28(2):11-17.
23. Domicini JT, Eleazer PD, Clark SJ, Staat RH, Scheetz JP. Disinfection/sterilization of extracted teeth for dental student use. *J Dent Educ.* 2001;65(11):1278-1280.
24. Dugmore CR, Rock WP. A multifactorial analysis of factors associated with dental erosion. *Braz Dent J.* 2004;19(5):283-286.
25. Ehlen LA, Marshall TA, Qian F, Wefel JS, Warre JJ. Acidic beverages increase the risk of *in vitro* tooth erosion. *Nutrition Res.* 2008;28(5):299-303.
26. Eisenburger M, Addy M. Erosion and attrition of human enamel *in vitro*. Part I: Interaction effects. *J Dent.* 2002;30:341-347.

27. Featherstone JD, Nelson DG. Laser effect on dental hard tissues. *Adv Dent Res.* 1987;1:21-26.
28. Featherstone JD. The continuum of dental caries- evidence for a dynamic disease process. *J Dent Res.* 2004;83:39-42.
29. Gaffar A. Treating hypersensitivity with fluoride varnish. *Compend Contin Educ Dent.* 1999;20(suppl 1):27-33.
30. Ganss C, Klimek J, Schwarz N. A comparative profilometric in vitro study of the susceptibility of polished and natural human enamel and dentine surfaces to erosive demineralization. *Arch Oral Biol.* 2000;45:897-902.
31. Greenhill JD, Pashley DH. The effects of desensitizing agents on the hydraulic conductance of human dentin in vitro. *J Dent Res.* 1981;60:686-98.
32. Grossman LI. A systematic method for the treatment of hypersensitive dentin. *J Am Dent Assoc.* 1935;22:592-602.
33. Gurgel CV, Rios D, Buzalaf MA, da Silva SM, Araújo JJ, Pauletto AR, de Andrade Moreira Machado MA. Dental erosion in a group of 12- and 16-year-old Brazilian schoolchildren. *Pediatr Dent.* 2011;33(1):23-28.

34. He Z, Otsuki M, Sadr A, Tagami J. Acid resistance of dentin after erbium:yttrium-aluminum-garnet laser irradiation. *Lasers Med Sci.* 2009;24:507-513.
35. Honório HM, Rios D, Junior ES, De Oliveira DS, Fior FA, Buzalaf MA. Effect of acidic challenge preceded by food consumption on enamel erosion. *Eur J of Dent.* 2010;4(4):412-417.
36. Ipci SD, Cakar G, Kuru B, Yilmaz S. Clinical evaluation of lasers and sodium fluoride gel in the treatment of dentine hypersensitivity. *Photomed Laser Surg.* 2009;27(1):85-91.
37. Jarvinen V, Rytomaa I, Heinonen OP. Risk factors in dental erosion. *J Dent Res.* 1991;70(6):942-947.
38. Kara C, Orbak R. Comparative evaluation of Nd:YAG laser and fluoride varnish for the treatment of dentinal hypersensitivity. *J Endod.* 2009;35:971-974.
39. Kumar NG, Mehta DS. Short-term assessment of the Nd:YAG laser with and without sodium fluoride varnish in the treatment of dentin hypersensitivity-a clinical and scanning electron microscopy study. *J Periodontol.* 2005;76(7):1140-1147.

40. Lagerlof F, Saxegaard E, Barkvoll P, Rolla G. Effects of inorganic orthophosphate and pyrophosphate on dissolution of calcium fluoride in water. *J Dent Res.* 1988;67:447-449.
41. Lan WH, Liu HC, Lin CP. The combined occluding effect of sodium fluoride varnish and Nd:YAG laser irradiation on human dentinal tubules. *J Endod.* 1999;25(6):424-426.
42. Lee WC, Eakle WS. Stress-induced cervical lesions: review of advances in the past 10 years. *J Prosthet Dent* 1996;75(5):487-494.
43. Lier BB, Rosing CK, Aass AM, Gjermo P. Treatment of dentin hypersensitivity by Nd:YAG laser. *J Clin Periodontol.* 2002;29:501-506.
44. Liu HC, Lin CP, Lan WH. Sealing depth of Nd:YAG laser on human dentinal tubules. *J Endod.* 1997;23(11):691-693.
45. Magalhães AC, Rios D, Machado MAAM, Bonifácio da Silva SM, Lizarelli RFZ, Bagnato VS, *et al.* Effect of Nd:YAG irradiation and fluoride application on dentine resistance to erosion *in vitro*. *Photomed Laser Surg.* 2008;26(6):559-563.
46. Magalhães AC, Rios D, Honório HM, Jorge Junior AM, Delbem ACB, Buzalaf MAR. Effect of 4% titanium tetrafluoride solution on dental erosion by a soft drink: an *in situ/ex vivo* study. *Arch of Oral Biol.* 2008;53:399-404.

47. Magalhães AC, Levy FM, Rios D, Buzalaf MAR. Effect of a single application of TiF₄ and NaF varnishes and solutions on dentin erosion *in vitro*. *J of Dentistry*. 2010;38:153-157.
48. Magalhães AC, Romanelli AC, Rios D, Comar LP, Navarro RS, Grizzo LT, Aranha ACC, Buzalaf MAR. Effect of a single application of TiF₄ and F_nF varnishes and solutions combined with Nd:YAG laser irradiation on enamel erosion *in vitro*. *Photomed Laser Surg*. 2011; 1-8.
49. Marshall Jr GW, Marshall SJ, Kinney JH, Balooch M. The dentin substrate: structure and properties related to bonding. *J of Dent*. 1997;25(6):441-458.
50. McKnight-Hanes C, Whitford GM. Fluoride release from three glass ionomer materials and the effect of varnishing with or without finishing. *Caries Res*. 1992;26(5):345-350.
51. Naylor FV, Aranha ACC, Eduardo CP, Arana-Chavez VE, Sobral MAP. Micromorphological analysis of dentinal structure after irradiation with Nd:YAG laser and immersion in acidic beverages. *Photomed Laser Surg*. 2006;24(6):745-753.
52. Ogaard B, Seppa L, Rolla G. Professional topical fluoride applications- clinical efficacy and mechanism of action. *Adv in Dent Res*. 1994;8:190-201.

53. Orchardson R, Gillam D. Managing dentin hypersensitivity. *J Am Dent Assoc.* 2006;137:990-998.
54. Osborne-Smith KL, Burke FJ, Wilson NH. The aetiology of the non-carious cervical lesion. *Int Dent J.* 1999;49:139-143.
55. Paes Leme AF, Gabriel dos Santos JCR, Giannini M, Wada RS. Occlusion of dentin tubules by desensitizing agents. *Am J Dent.* 2004;17:368-372.
56. Peres KG, Armênio MF, Peres MA, Traebert J, de Lacerda JT. Dental erosion in 12-year-old schoolchildren: a cross-sectional study in Southern Brazil. *Int J Paediatr Dent.* 2005;15(4):249-255.
57. Pinto SCS, Pochapski MT, Wambier DS, Pilatti GL, Santos FA. *In vitro* and *in vivo* analyses of the effects of desensitizing agents on dentin permeability and dentinal tubule occlusion. *J Oral Sci.* 2010;52(1):23-32.
58. Porto ICCM, Andrade AKM, Montes MAJR. Diagnosis and treatment of dentinal hypersensitivity. *J Oral Sci.* 2009;51(3):323-332.
59. Prati C, Venturi L, Valdrè G, Mongiorgi R. Dentin morphology and permeability after brushing with different toothpastes in the presence and absence of smear layer. *J Periodontol.* 2002;73(2):183-190.

60. Prati C, Montebugnoli L, Suppa P, Valdrè G, Mongiorgi R. Permeability and morphology of dentin after erosion induced by acidic drinks. *J Periodontol.* 2003;74:428-436.
61. Ritter AV, Dias WL, Miguez P, Caplan DJ, Swift EJ. Treating cervical dentin hypersensitivity with fluoride varnish: a randomized clinical study. *J Am Dent Assoc.* 2006; 137:1013-1020.
62. Rong WS, Hu DY, Feng XP, Tai BJ, Zhang JC, Ruan JP. A national survey on dentin hypersensitivity in Chinese urban adults. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi.* 2010;45(3):141-145.
63. Schaller HG, Wehling T, Strub JR. Permeability of dentine after Nd:YAG laser treatment: an *in vitro* study. *J Oral Rehab.* 1997;24:274-281.
64. Scheutzel P. Etiology of dental erosion-intrinsic factors. *Eur J Oral Sci.* 1996.104(2):178-190.
65. Schlueter N, Hardt M, Klimek J, Ganns C. Influence of the digestive enzymes trypsin and pepsin *in vitro* in the progression of erosion in dentine. *Arch Oral Biol.* 2010;55(4):294-299.
66. Schwarz F, Arweiler N, Georg T, Reich E. Desensitizing effects of an Er:YAG laser on hypersensitive dentine. *J Clin Periodontol.* 2002;29:211–215.

67. Tanaka JLO, Medici Filho E, Salgado JAP, Salgado MAC, De Moraes LC, De Moraes MEL, Castilho JCM. Comparative analysis of human and bovine teeth: radiographic density. *Braz Oral Res.* 2008;22(4):346-351.
68. Vanuspong W, Eisenburger M, Addy M. Cervical tooth wear and sensitivity: erosion, softening and rehardening of dentine; effects of pH, time and ultrasonication. *J Clin Periodontol.* 2002;29:351-357.
69. Vargas-Ferreira F, Praetzel JR, Ardenghi TM. Prevalence of tooth erosion and associated factors in 11-14-year-old Brazilian schoolchildren. *J Public Health Dent.* 2010;17 [Epub ahead of print].
70. Watanabe, H., Kataoka, K., Iwami, H., Shinoki, T., Okagami, Y., Ishikawa, I.). *In vitro* and *in vivo* studies on application of erbium:YAG laser for dentine hypersensitivity. *Int Congr Ser.* 2003;1248:455-457.
71. West NX, Hughes JA, Addy M. Erosion of dentine and enamel *in vitro* by dietary acids: the effect of temperature, acid character, concentration and exposure time. *J Oral Rehab.* 2000;27:875-880.
72. Yamada MK, Ohkawa S, Akasaka T, Watari F. Three-dimensional topographic scanning electron microscope and Raman spectroscopic analyses of the irradiation effect on teeth by Nd:YAG, Er:YAG and CO₂ lasers. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2004, 71:7-15.

73. Yonaga K, Kimura Y, Matsumoto K. Treatment of cervical dentin hypersensitivity by various methods using pulsed Nd:YAG laser. *J Clin Laser Med Surg.* 1999;17:205-210.
74. Zapletalová Z, Perina J, Novotny R, Chmelínková H. Suitable conditions for sealing of open dentinal tubules using a pulsed Nd:YAG laser. *Photomed Laser Surg.* 2007;25(6):495-499.
75. Zero Dt. Etiology of dental erosion-extrinsec factors. *Eur J Oral Sci.* 1996;104-162-177.