



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA RESTAURADORA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA RESTAURADORA

SUEMY SIMPLÍCIO KITAYAMA

**Emprego de gel de quitosana com própolis para prevenção da erosão
dentinária.**

RIBEIRÃO PRETO

2023

SUEMY SIMPLÍCIO KITAYAMA

Emprego de gel de quitosana com própolis para prevenção da erosão dentinária.

Dissertação de Mestrado apresentado à
Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da
Universidade de São Paulo para obtenção do
Título de Mestre em Ciências junto ao Programa
de Odontologia Restauradora – Área de
Concentração: Dentística
Orientadora: Profa. Dra Regina Guenka Palma-
Dibb

RIBEIRÃO PRETO

2023

AUTORIZAÇÃO PARA REPRODUÇÃO

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Tratamento da Informação do Serviço de Biblioteca

Kitayama, Suemy Simplício

Emprego de gel de quitosana com própolis para prevenção da erosão dentinária. Estudo in vitro, 2023.

“A versão corrigida está disponível na unidade que aloja o programa”

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Área de Concentração: Odontologia Restauradora

Orientadora: Profa Dra Regina Guenka Palma

Dibb.

1. Gel de Quitosana 2. Gel de Própolis 3. Erosão dentária

FICHA DE APROVAÇÃO

Kitayama, Suemy Simplício. **Emprego de gel de quitosana com própolis para prevenção da erosão dentinária**. Estudo in vitro, Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Ciências. Programa: Odontologia Restauradora. Área de Concentração: Odontologia Restauradora. Opção: Dentística. Ribeirão Preto, 2023

Aprovada em: __/__/____

BANCA EXAMINADORA

Prof.Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof.Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof.Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Profa.Dra. Regina Guenka Palma Dibb - Orientadora e Presidente da Banca Examinadora.

Assinatura: _____

DADOS CURRICULARES

SUEMY SIMPLÍCIO KITAYAMA

Nascimento: 07 de outubro de 1993, Natal - Rio Grande do Norte

Filiação: Ana Brasilina Simplício Kitayama

Marco Aurélio Yasuo Kitayama

2012-2016 Graduação em Odontologia

Universidade Federal do Rio Grande do Norte

2016-2017 Aperfeiçoamento em Endodontia

Associação Brasileira de Odontologia

2017-2018 Especialização em Dentística

Academia Norte Rio Grandense de Odontologia

2019-2020 Especialização em Harmonização Orofacial

Fundação de Apoio à Pesquisa e Estudo na Área da Saúde

2019-2023 Mestrado em Odontologia Restauradora na área de Dentística

Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto -USP

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família, pelo apoio incondicional.

Às minhas colegas da sala D-15, pois sem vocês comigo, a trajetória seria muito mais árdua. Aos funcionários da odontologia restauradora que foram de extrema importância para a conclusão deste trabalho (Juliana Jendiroba Faraoni, Patricia, Carlos, Reginaldo). Em especial, a Gabriela M Goering que esteve ao meu lado em todos os momentos.

Por último, e ainda mais importante, à minha professora e orientadora Regina Guenka Palma Dibb, que mesmo diante de tantas dificuldades me incentivou, me ensinou e não me fez desistir dos meus objetivos.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, representado pelo Digníssimo Diretor Professor Dr. Paulo Nelson Filho e pelo Vice-diretor Prof. Dr. Ricardo Gariba Silva.

À coordenação geral de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, na pessoa do Prof. Dr. Antonio Miranda da Cruz Filho.

À coordenação do Curso de Pós-Graduação em Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, na pessoa do Prof. Dr. Antonio Miranda da Cruz Filho.

Ao chefe de Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, na pessoa do Prof. Dr. Manoel Damiano de Sousa Neto.

À Comissão de Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, na pessoa do Prof. Dr. Sérgio Luís Scombatti de Souza.

Ao Carlos Feitosa dos Santos, secretário do curso de Pós-Graduação do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo por toda a ajuda.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pelo apoio financeiro de meu trabalho.

.

RESUMO

Kitayama, S.S. Emprego de gel de quitosana com própolis para prevenção da erosão dentinária. Estudo in vitro. 2023. [Dissertação] Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto; 2023.

A erosão dentária é definida como uma condição multifatorial que leva à perda química de tecido duro do dente após a exposição a ácidos não derivados de bactérias orais. O objetivo do presente estudo foi avaliar a capacidade do gel experimental de quitosana com própolis na paralisação do desgaste proporcionado pelo processo erosivo e obliteração de túbulos. Foi um estudo com 1 fator: tratamentos, em 4 níveis: G1 – Controle – sem tratamento; G2 – Ms Coat - Hys Block Gel (Sun Medical) (Aplicada fina camada do produto na superfície do dente por 30 segundos, fricção por mais 5 segundos e lavagem) ; G3 - Solução Experimental (Gel de quitosana com própolis) (Aplicada com microbrush por 10 segundos, mantendo excesso em contato com a superfície durante 5 minutos e remoção do excesso com bolinha de algodão) e G4 - solução experimental + Laser de Diodo (0,7w/CW/20s) (Aplicada com microbrush por 10 segundos, mantendo excesso em contato com a superfície durante 1 minuto e então irradiação com laser de diodo no modo contato. As unidades experimentais foram 52 fragmentos de dentina radicular bovina com dimensão de 3x3x2 mm, divididos aleatoriamente nos 4 grupos experimentais (n=13). Para erosão dentinária simulou doença do refluxo, os espécimes foram imersos em ácido clorídrico a 0,01% por 2 minutos, sob agitação à temperatura ambiente, lavados com água destilada, secos cuidadosamente com papel absorvente e imersos em saliva artificial durante 1 hora em estufa. Aplicou-se os tratamentos e então ap Esse ciclo foi realizado três vezes ao dia. As variáveis de resposta quantitativa (contagem de túbulos, área, perímetro e diâmetro de túbulos) e qualitativa (análise morfológica) foram avaliadas em microscopia confocal a laser 3D da superfície de dentina para verificar as possíveis alterações superficiais.

Os dados foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis a nível de significância a 5%. Para contagem de túbulos (inicial $394,50 \pm 208,76$; final $106,50 \pm 46,01$) e diâmetro (inicial $2,50 \pm 0,60$; final $0,88 \pm 0,39$), o G4 apresentou obliteração importante e, morfológicamente, maiores alterações na dentina. O comercial apresentou valores intermediários na contagem de túbulos (inicial $352,70 \pm 99,85$; final $350,23 \pm 125,52$) e no diâmetro (inicial $2,38 \pm 0,51$; final $1,56 \pm 0,49$), inclusive observou-se morfológicamente que os túbulos se mantiveram abertos mesmo após o tratamento. Na análise dos dados da rugosidade após a erosão todos os grupos foram similares entre si ($p > 0,05$), porém após o tratamento apenas o G4 não teve aumento sendo semelhante ao após a erosão ($p > 0,05$) e diferente estatisticamente do G1 ($p < 0,001$). Pode-se concluir que a solução experimental a base de própolis proporcionou efetivo no fechamento dos túbulos. A solução associada ao Laser de Diodo foi eficaz em todos parâmetros analisados neste estudo.

Palavras Chave: 1. Gel de Quitosana 2. Gel de Própolis 3. Erosão dentária

ABSTRACT

Kitayama, SS. Use of chitosan gel with propolis to prevent dentin erosion. In vitro study. 2023. [Dissertation] Ribeirão Preto: University of São Paulo, Faculty of Dentistry of Ribeirão Preto; 2023.

Dental erosion is defined as a multifactorial condition that leads to chemical loss of tooth hard tissue after exposure to acids not derived from oral bacteria. The objective of the present study was to evaluate the capacity of the experimental gel of chitosan with propolis in stopping the wear caused by the erosive process and obliteration of tubules. It was a study with 1 factor: treatments, at 4 levels: G1 – Control – no treatment; G2 – Ms Coat - Hys Block Gel (Sun Medical) (Applied a thin layer of the product on the surface of the tooth for 30 seconds, friction for another 5 seconds and washing); G3 - Experimental Solution (Chitosan Gel with Propolis) (Applied with a microbrush for 10 seconds, keeping the excess in contact with the surface for 5 minutes and removing the excess with a cotton ball) and G4 - Experimental Solution + Diode Laser (0.7w/CW/20s) (Applied with a microbrush for 10 seconds, keeping the excess in contact with the surface for 1 minute and then irradiating with a diode laser in contact mode. The experimental units were 52 bovine root dentin fragments measuring 3x3x2 mm, randomly divided into 4 experimental groups (n=13). For dentin erosion simulated reflux disease, the specimens were immersed in 0.01% hydrochloric acid for 2 minutes, under agitation at room temperature, washed with distilled water, carefully dried with absorbent paper and immersed in artificial saliva for 1 hour in an oven. The treatments were applied and then ap This cycle was performed three times a day. The quantitative response variables (count of tubules, area, perimeter and diameter of tubules) and qualitative (morphological analysis) were evaluated in 3D confocal laser microscopy of the dentin surface to verify the possible surface alterations. Data were analyzed using the Kruskal-Wallis test at a 5% significance level. For tubule count

(initial 394.50 ± 208.76 ; final 106.50 ± 46.01) and diameter (initial 2.50 ± 0.60 ; final 0.88 ± 0.39), G4 showed significant obliteration and, morphologically, greater changes in dentin. The commercial showed intermediate values for tubule count (initial 352.70 ± 99.85 ; final 350.23 ± 125.52) and diameter (initial 2.38 ± 0.51 ; final 1.56 ± 0.49), it was even morphologically observed that the tubules remained open even after treatment. In the analysis of roughness data after erosion, all groups were similar to each other ($p > 0.05$), but after treatment, only G4 did not increase, being similar to after erosion ($p > 0.05$) and statistically different of G1 ($p < 0.001$). It can be concluded that the experimental solution based on propolis was effective in closing the tubules. The solution associated with Diode Laser was effective in all parameters analyzed in this study.

Keywords: 1. Chitosan Gel 2. Propolis Gel 3. Dental erosion

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. PROPOSIÇÃO.....	17
3. MATERIAIS E MÉTODOS	18
4. RESULTADOS.....	25
6. CONCLUSÃO	33
7. REFERÊNCIAS.....	34

1. INTRODUÇÃO

Com a melhoria da saúde e da qualidade de vida vem ocorrendo um aumento da expectativa de vida da população, e dentre essas melhorias tem-se a manutenção dos dentes por muito mais tempo na cavidade bucal, seja por melhora da higienização ou pela conscientização da saúde bucal. Assim, com o envelhecimento da população, doenças que eram pouco prevalentes, vem se tornando cada vez mais evidente, dentre elas o desgaste dentário e dessa maneira deve ser considerado no diagnóstico odontológico (Bartlett; O’Toole, 2019).

Desgaste dentário está relacionado a diversos fatores como hábitos alimentares e parafuncionais, ocupação, higiene bucal, doenças sistêmicas e oclusão e ocorre devido aos processos de abrasão, atrição e erosão sozinhos ou associados (Donavan *et al.*, 2021). A erosão dentária é definida como uma condição multifatorial que leva à perda química de tecido duro do dente após a exposição a ácidos não derivados de bactérias orais (Passos *et al.*, 2019; Schlueter *et al.*, 2020) e pode ser ocasionada por fatores intrínsecos (problemas crônicos, doença do refluxo gastro-esofágico - DRGE) e extrínsecos (ácidos provenientes do meio extern) (Bader *et al.*, 1996; Saads; Lussi, 2020) que se apresentam em alta prevalência devido ao estresse do dia-a-dia, alto consumo de alimentos e bebidas ácidas, os hábitos deletérios, entre outros. Dessa maneira, exigisse maior conhecimento do profissional quanto a etiologia, a progressão, e o quanto essa condição afeta o paciente são fatores fundamentais para a decisão de tratar esse tipo de lesão (Levitch *et al.*, 1994; Donavan *et al.*, 2021).

Em 1908, Black discutiu a etiologia problemática do que chamou de “erosões” e afirmou que “nossas informações sobre erosão estão longe de estarem completas e pode demorar muito tempo até que sua investigação dê resultados satisfatórios”. Esse estudo, identificou oito causas possíveis: falhas na formação dos dentes, atrito de um pó abrasivo para os dentes, ação de um ácido desconhecido, secreção de uma glândula salivar doente, reabsorção

fisiológica, como ocorre com os dentes decíduos, ação de fluidos alcalinos em sais de cálcio e ação de enzimas liberadas por microrganismos (Black GV, 1908). Todavia, apenas em 2019 ocorreu a padronização das terminologias (Schlueter *et al.*, 2020) e esses termos implicam uma etiologia específica das denominadas LCNC (lesões cervicais não cariosas), embora a etiologia exata não seja totalmente compreendida (Alvarez-Arenal *et al.*, 2018; Demarco *et al.*, 2022). O termo lesões cervicais não cariosas - LCNC descreve a perda de tecido dentário duro na junção cimento-esmalte sem a presença de bactéria (Teixeira *et al.*, 2020). As lesões cervicais são consideradas um fator cada vez mais importante quando se considera a saúde da dentição ao longo prazo pela extensa perda dentária (Abdalla; Mitchell; Fang Ren, 2017), esta extensa perda motivou estudo longitudinal para investigação morfológica e quantitativa da progressão de LCNC utilizando microscópio de varredura a laser (Hayashi *et al.*, 2022).

Estudos apontam que os primeiros sinais típicos de desgaste dentário erosivo incluem defeitos superficiais; afetam principalmente as superfícies lisas e a área coronal à junção cimento-esmalte com uma banda intacta na margem gengival. Nas superfícies oclusais, podem ser encontradas escavações e achatamentos da superfície. À medida que o desgaste erosivo dos dentes progride, a cor da dentina se torna mais visível e as restaurações podem sobressair do tecido dental duro circundante e perdendo a morfologia dos dentes sadios (Schlueter *et al.*, 2020). No esmalte, o processo erosivo leva a perda de tecido, deixando-o liso e polido, geralmente com ausência das periquimácias (Levitch *et al.*, 1994; Donovan *et al.*, 2021). Na dentina, promove dissolução inicial da dentina peritubular, ampliando a embocadura dos túbulos, desmineraliza a dentina intertubular, expõe a matriz orgânica que pode resultar em uma superfície mais rugosa e porosa (Ururahy *et al.*, 2017). Além disso, quando ocorre a exposição da dentina e assim, pode haver a ocorrência de hipersensibilidade, sendo o principal sintoma para a procura de tratamento, a continuidade da progressão da lesão pode propiciar a exposição pulpar (Abdalla; Mitchell; Fang Ren, 2017). Sendo que a erosão é um processo

insidioso, logo, aparece aos poucos e os pacientes não tomam conhecimento até atingir um estágio avançado; portanto, a detecção clínica precoce por profissionais de odontologia é de extrema importância (Donavan *et al.*, 2021).

A principal e primordial medida clínica no manejo e prevenção da erosão é a eliminação dos fatores etiológicos, assim o diagnóstico preciso é fundamental, além de se fazer uma análise cuidadosa do histórico médico do paciente e dos fatores predisponentes da dieta/comportamento (Passos *et al.*, 2019; Donavan *et al.*, 2021). Contudo, o processo erosivo é de difícil controle e a decisão de monitorar as LCNC em vez de intervir, deve basear-se na progressão das lesões e em como elas comprometem a vitalidade, a função e a estética do dente (Donavan *et al.*, 2021). Diferentes materiais/técnicas vêm sendo estudados na tentativa de paralisar ou minimizá-las, porém ainda são necessárias melhorias para atingir o sucesso (Chawhuaveang *et al.*, 2022; Picolo *et al.*, 2023; Reis *et al.*, 2023).

Estudos (Carey; Brown, 2017; Lussi *et al.*, 2019; Né *et al.*, 2022) sugerem que a aplicação prolongada de agentes altamente concentrados de fluoreto tem um efeito positivo na prevenção e progressão da erosão. A concentração de fluoreto aplicado topicamente é necessária para reduzir a desmineralização por erosão, difere da concentração recomendada para lesões de cárie, considerando as diferenças em sua patologia (Donavan *et al.*, 2021). Um dos primeiros sintomas que o paciente procura tratamento é devido a hipersensibilidade dentinária, devido a perda da estrutura de esmalte e exposição da dentina, nesses casos em função da sintomatologia pode-se empregar diferentes tipos de lasers. Em 1960 Maiman desenvolveu o equipamento a laser e com perspectivas promissoras na odontologia, sendo capaz de diminuir a hipersensibilidade dentinária através de sua capacidade de afetar a condução elétrica das fibras nervosas presentes na polpa dentária, e habilidade em obstruir túbulos dentinários por fusão e sinais de recristalização da superfície (Kimura *et al.*, 2000; Aranha *et al.*, 2012; Umana *et al.*, 2013), além de efeitos analgésico, anti-inflamatório e

bioestimulador da polpa dental, favorecendo a formação de dentina reacional (Pinheiro; Brugnera Junior, 1998; Arantes *et al.*, 2019). Outro efeito desejável do laser no tecido dental é a alteração do conteúdo mineral e o consequente aumento da resistência à desmineralização promovida pelo processo erosivo (Moura *et al.*, 2018).

O laser de diodo é um laser de baixa intensidade, foi usado pela primeira vez em um comprimento de onda de 780 por Matsumoto *et al.* em 1985 para tratar a hipersensibilidade, e seu efeito terapêutico é estimado em 85% a 100%, além de apresentar características favoráveis como versatilidade, menor custo e menores dimensões (Kimura *et al.*, 2000; Maenosono *et al.*, 2015; Garcia-Delaney *et al.*, 2017; Pereira *et al.*, 2017; Praveen *et al.*, 2018). Esse comprimento de onda pode atuar promovendo o selamento pela obliteração dos túbulos dentinários por irradiação da dentina exposta ao meio bucal que promove dissolução e a ressolidificação dos cristais de hidroxiapatita (Shwetha; Chandrasekhara; Sudhir, 2017).

Apesar de resultados promissores do laser, ainda não existem um material que apresente bioatividade com as estruturas dentárias, assim na tentativa de melhorar a interação dos materiais com as estruturas dentárias, vem se avaliando o uso de biopolímeros, como a quitosana com essa finalidade (Dash *et al.*, 2011; Beltrame *et al.*, 2018; Souza *et al.*, 2020; Musat *et al.*, 2021; Francese *et al.*, 2022; Reis *et al.*, 2023). A quitosana é um polissacarídeo de ocorrência natural obtido a partir da quitina, que apresenta excelente interatividade com a porção orgânica do dente, fortalecendo (Dash *et al.*, 2011) e estabilizando (Fawzy *et al.*, 2013; Bedran-Russo *et al.*, 2007) a rede de fibrilas de colágeno, produzindo arranjos microfibrilares com propriedades mecânicas superiores (Shrestha; Friedman; Kishen, 2011). Os grupos amino da quitosana, em ambiente ácido, interagem com os íons hidrogênio produzindo cargas positivas, resultando em capacidade bioadesiva contra os substratos carregados negativamente, como o colágeno (Markowitz; Rosenblum, 2010).

Entre os agentes antiinflamatórios de ocorrência natural mais promissores, tem-se a

própolis brasileira, considerada uma fonte rica de compostos bioativos conhecidos e inexplorados, com propriedades farmacológicas excelentes (Franchin *et al.*, 2018). A própolis inibe a produção de citocinas pelas células imunológicas pela diminuição da degradação da membrana extracelular através da inibição da expressão das metaloproteinases da matriz de remodelação (Hozzein *et al.*, 2015), sendo considerado um agente viável a ser empregado numa solução para tratar do processo erosivo (Kripal *et al.*, 2019; Murugesan *et al.*, 2021; Tavares *et al.*, 2021).

Apesar da existência de diversos materiais que vem sendo indicado para tratamento da hipersensibilidade dentinária, ainda não há ainda produtos que possam conter ou minimizar o processo erosivo, sendo necessário à busca de novas alternativas para prevenir e/ou paralisar a progressão da erosão dentária e diminuir a hipersensibilidade da dentina.

2. PROPOSIÇÃO

O objetivo do presente estudo foi avaliar a capacidade do gel experimental de quitosana com própolis associado ou não ao laser de diodo (970 μ m) em obliterar túbulos dentinários, diminuir a ação do processo erosivo nas embocaduras dos túbulos e na morfologia da dentina e compará-los a um produto comercial.

Hipótese

A hipótese nula testada foi que não houve diferença entre o produto comercial e o gel experimental associado ou não ao laser de diodo nas análises realizadas.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado de acordo com um delineamento em blocos completos casualizados. As variáveis de resposta quantitativa para o estudo in vitro foram: contagem de túbulos e diâmetro de túbulos, mensurados em micrômetros, no tempo inicial e final por meio de microscopia confocal a laser 3D; e qualitativa da morfologia da superfície da dentina para verificar as possíveis alterações desta após os diferentes tipos de tratamentos.

Este trabalho teve 1 fator de estudo: tratamentos preventivos/dessensibilizantes, em 4 níveis:

G1 – Controle – sem tratamento

G2 – MS Coat Hys Black Gel (Sun Medical CO., LTD, Japão) (Figura 1A).

G3 - Solução Experimental (Figura 1B).

G4 – Solução experimental + laser de diodo com comprimento de onda de 970 μ m.



Figura 1. Materiais empregados. A. MS Coat Hys Black Gel; B- Solução experimental

Fonte: Goering, GM 2023.

As unidades experimentais foram 52 fragmentos de dentina radicular bovina, divididos aleatoriamente nos 4 grupos experimentais (n=13). (TABELA 1)

Tabela 1. Grupos estudados

Grupos	Material	Composição	Aplicação
G1	Controle	Sem tratamento	Sem tratamento
G2	Ms Coat - Hys Block Gel (Sun Medical)	Co-polímero de metil metacrilato, ácido estireno sulfônico, ácido oxálico viscoso, água, fluoreto de sódio, ajustador de pH (sal de potássio), bloco de Hys revestido com MS.	Após a limpeza da superfície, passar uma fina camada do produto na superfície do dente, deixar por 30 segundos, esfregar por mais 5 segundos e lavar abundantemente para remover o excesso
G3	Solução Experimental (Gel de Quitosana com Própolis)	Própolis com gel de quitosana e outros ingredientes	Primeiramente foi separado 10 mL de água destilada/deionizada, adicionada 0,1mL de ácido acético glacial, e então adicionado 0,3 g de quitosana, levado em agitador magnético por 24 horas até obter um gel de boa viscosidade, em seguida Foi adicionada íons de cálcio e fosfato na solução e de própolis e agitada por mais 2 horas. Após finalizada a solução está foi acondicionada na geladeira até a sua utilização. A sua aplicação foi realizada com auxílio de um microbrush por 10 segundos, mantendo um excesso em de contato com a superfície durante 5 minutos e depois removeu-se o excesso com bolinha de algodão
G4	Solução Experimental + Laser de Diodo.	Própolis com gel de quitosana e outros ingredientes + Laser de diodo, 970 nm-0,7 W/10 Hz, 70mJ	A solução foi aplicada com auxílio de um microbrush por 10 segundos, mantendo um excesso em de contato com a superfície durante 1 minuto e então realizou a irradiação com laser de diodo sobre o gel no modo contato, com potência de 0,7 W (energia de 70 mJ) e frequência de 10 Hz durante 25 segundos, tendo uma densidade de energia de 222,82 J/cm ²

Preparo dos Espécimes

Foram selecionados incisivos (Figura 2) da espécie *Bos taurus* (Gado Bovino), macroscopicamente em bom estado, íntegros, sem manchas e trincas para obtenção dos espécimes.

Os dentes foram seccionados na junção amelo-cementária através de corte por disco diamantado refrigerado com auxílio de máquina de precisão (Buehler, IsoMet 1000, Precision Saw, Reino Unido) (Figura 2) que separou a coroa da raiz dentária. A seguir, foi realizado próximo à junção cimento-esmalte o corte das raízes para a obtenção de secções transversais de 3 mm de dentina radicular do terço cervical e a fixação destas em placas de plexiglas. Após a fixação, foi realizada uma nova secção para obtenção do fragmento 3x3x2 mm.

As superfícies externas dos fragmentos foram planificadas durante 20 segundos sob refrigeração em politriz (Arotec APL-4, Arotec Indústria e Comércio, São Paulo-SP, Brasil) (Figura 2) equipada com lixa de granulação # 600. Procedeu-se o polimento com disco de feltro e suspensão de alumina 0,3 e 0,05 μm (Arotec Sj 685 /A Ind. e Comércio, São Paulo/SP, Brasil). Ao final do polimento, os espécimes permaneceram imersos por 10 minutos em água deionizada para lavagem e remoção de resíduos sob ação de cuba ultrassônica (Ultrasonic Cleaner BioWash Bioart, São Carlos, São Paulo, Brasil) (Figura 2).

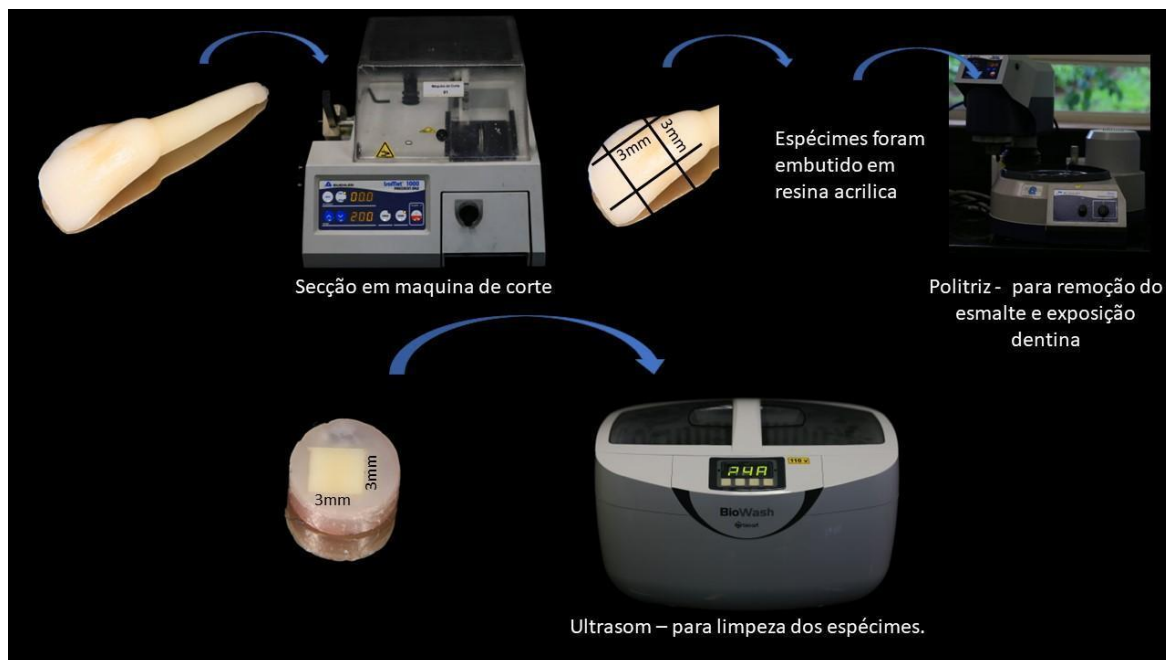


Figura 2. Sequência para obtenção dos espécimes de dentina.

Fonte: Goering, GM 2023.

Desafio Erosivo Inicial

Os espécimes foram individualmente imersos em 5ml de ácido clorídrico a 0,01%, $\text{pH} \approx 2,45$ durante 2 minutos, sob agitação (HAN, *et al.*, 2013; KIM *et al.*, 2013) (Mesa agitadora CT155, Cientec, Piracicaba, Brasil) (Figura 3) para exposição dos túbulos dentinários que foi confirmada pela análise inicial em microscopia confocal a laser 3D (Microscópio Laser Confocal LEXT OLS4000, Olympus), os espécimes que não ficarem com os túbulos expostos foram excluídos e substituídos. Nesta fase realizou-se apenas 1 desafio.



Figura 3. Mesa Agitadora

Fonte: Goering, GM 2023.

Após este procedimento, os espécimes tiveram metade da sua área superficial isolada com resina composta (Figura 4), sendo padronizado o lado esquerdo como controle e, portanto, isolada e o lado direito representando a área tratada. Na região lateral esquerda dos fragmentos foi realizada a uma marcação para identificação da mesma e para padronizar as leituras, e todos os corpos de prova foram armazenados em saliva artificial a 37°C por 2 horas em estufa (Estufa Bacteriológica, OdontoBrás, Brodowski, São Paulo, Brasil) para então iniciar o tratamento/ciclagem erosiva.

Os tratamentos foram realizados conforme descrito na Tabela 1, sendo que foi repetido mais 2 vezes a cada 72 horas, nos intervalos foi realizado a ciclagem erosiva seguindo os parâmetros a seguir.

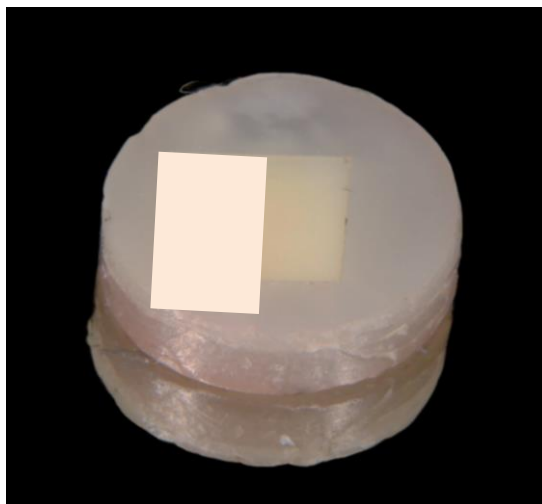


Figura 4. Espécime com metade da dentina isolada para controle.

Fonte: Goering, GM 2023.

Ciclagem Erosiva/Tratamento

Para simular a erosão dentinária durante a dieta ácida, os espécimes foram imersos em ácido clorídrico a 0,01% (pH 2,45) por 2 minutos, sob agitação à temperatura ambiente (em torno de 25°C). Em seguida, foram lavados com água destilada, secos cuidadosamente com papel absorvente e imersos em saliva artificial durante 1 hora em estufa. Esse ciclo foi realizado três vezes ao dia (SANCHEZ, 2017) por 9 dias e as superfícies foram analisadas quanto ao desgaste e morfologia no início do desafio erosivo e no último dia de tratamento.

Análise Superficial

Após os desafios erosivos, a resina composta foi removida delicadamente com auxílio de uma lâmina de bisturi expondo a área controlada. Para isso os espécimes foram posicionados paralelamente à mesa do microscópio confocal a laser 3D (Olympus LEXT OLS 4100[®]) e as imagens foram adquiridas com aumento de 216x e 2132x. Após a captura todos os espécimes foram analisados quanto a rugosidade superficial em micrometros (216x aumento), e realizou-se a contagem do número de túbulos a abertos e o seu diâmetro com imagens com o maior aumento.

Análise Morfológica

A análise morfológica da superfície dos espécimes foi realizada através de imagens obtidas das áreas mais representativas de cada região e seus respectivos grupos em relação as imagens de 216x e 2132x de aumento. Essa análise foi realizada nos três tempos, antes da erosão, após o processo erosivo inicial e ao final de 9 dias de ciclagem.

Análise dos Dados

Por meio do programa estatístico SigmaPlot 11.0 (Systat Software Inc. Palo Alto, CA 94303) foram tabulados os dados referentes à rugosidade (comparando os diferentes momentos), a quantidade e diâmetro dos túbulos dentinários (comparação entre o percentual da diferença (%dif= ((inicial-final)/inicial)*100) para os grupos e individualmente antes e depois do tratamento). A média e o desvio padrão de todos os espécimes dos diferentes grupos foram obtidos e foi realizada a verificação da normalidade e da homogeneidade da distribuição amostral. Para rugosidade superficial em relação aos diferentes tempos analisados, os dados apresentaram-se normais e homogêneos, realizando-se dessa forma ANOVA a 2 fatores com medidas repetidas e teste de Holm-Sidak para comparação das médias a nível de significância a 5%. Para os outros dados quantitativos empregou-se o teste de Kruskal-Wallis na comparação entre os grupos e testes Wilcoxon e “t” para a comparação internamente no grupo para avaliar o efeito antes e depois do tratamento. Todas as análises foram realizadas a nível de significância de 5%. A morfologia foi realizada a descrição dos achados visualizados.

4. RESULTADOS

Na análise dos dados da rugosidade superficial observou-se que para o fator tratamento houve diferença estatística entre os grupos, tendo o G1 apresentado maior rugosidade superficial e diferente dos demais ($p < 0,001$) e os grupos G2, G3 e G4 foram semelhantes entre si. No fator tempo, observou-se que a rugosidade aumentou significativamente ($p < 0,001$), sendo que os três momentos foram diferentes entre si ($p < 0,001$). Na interação dos fatores (Tabela 2) após a erosão todos os grupos foram similares entre si ($p > 0,05$) e apenas o G4 não aumentou a rugosidade após o tratamento, sendo semelhante no momento após a erosão ($p > 0,05$) e diferente estatisticamente do G1 ($p < 0,001$).

Tabela 2. Média e desvio padrão da rugosidade da superfície ($S_a - \mu\text{m}$) para a dentina nos diferentes tempos.

Grupo	Inicial	Após Erosão	Após tratamento
G1	7,50±3,46 bA	11,46±1,11 aB	13,20±0,96 bcC
G2	2,88±1,09 aA	10,54±0,55 aB	11,93±0,87 abC
G3	4,01±2,55 aA	10,71±0,77 aB	12,19±0,86 bcC
G4	3,19±2,83 aA	10,61±0,90 aB	10,96±0,89a B

Mesma letra similaridade estatística ($p > 0,05$), Letras minúsculas – comparação na coluna; Letras maiúsculas - comparação na linha

Na análise do número de túbulos foi observado que o G4 apresentou menor número de túbulos após o tratamento, foi diferente estatisticamente dos G1 e G2 ($p < 0,05$) e semelhante ao G3 (Tabela 3). Apenas o G3 e G4 promoveram uma diminuição significativa do número de túbulos abertos ($p < 0,05$), por sua vez os G1 e G2 apresentaram semelhança no número de

túbulos após erosão e após tratamento ($p>0,05$) (Tabela 4).

Tabela 3. Média, desvio padrão, mediana e os percentis do percentual da diferença do número dos túbulos dentinários expostos.

Grupo	Média	DP	Mediana	25%	75%
G1	78,40	38,89	85,61 b	40,91	109,69
G2	100,54	25,3	102,39 b	77,55	120,27
G3	65,62	49,57	53,96 ab	18,18	103,17
G4	19,06	37,41	0 a	0	33,13

Mesma letra similaridade estatística ($p>0,05$)

Tabela 4. Média e desvio padrão do número dos túbulos dentinários expostos após o ciclo erosivo e aplicação dos diferentes tratamentos.

	Controle	Comercial	Experimental	Experimental + Laser
Inicial	390,46 ± 28,78 aA	352,70 ± 99,85 aA	345,46 ± 82,42 aA	394,50 ± 208,76 aA
Final	297,69 ± 41,83 bC	350,23 ± 125,52 aC	215,00±156,15 bB	106,50 ± 46,01 bA

Mesma letra similaridade estatística ($p>0,05$), Letras minúsculas – comparação na coluna; Letras maiúsculas - comparação na linha

No diâmetro de túbulos observou-se que o G4 apresentou menor diâmetro após o tratamento e foi diferente estatisticamente dos G1 e G2 ($p<0,05$) e semelhante ao G3 (Tabela 5). Em relação ao percentual de alteração do diâmetro observou-se que o G4 apresentou menor diâmetro que o G1 e foi estatisticamente significativa ($p<0,05$). Todos os grupos promoveram uma diminuição significativa no diâmetro de túbulos abertos ($p<0,05$) (Tabela 6).

Tabela 5. Média, desvio padrão, mediana e os percentis do percentual da diferença diâmetro dos túbulos dentinários expostos.

Grupo	Média	DP	Mediana	25%	75%
G1	73,02	22,29	66,52 b	62,92	75,13
G2	67,45	22,23	61,13 ab	54,17	88,87
G3	69,31	25,42	59,92 ab	48,56	96,03
G4	28,34	46,02	0 a	0	67,37

Mesma letra similaridade estatística ($p>0,05$)

Tabela 6. Média e desvio padrão do diâmetro dos túbulos dentinários (μm) expostos nos diferentes momentos dos diferentes tratamentos.

	Controle	Comercial	Experimental	Experimental + Laser
Inicial	2,36 \pm 0,70 aA	2,38 \pm 0,51 aA	2,40 \pm 0,54 aA	2,50 \pm 0,60 aA
Final	1,72 \pm 0,65 bB	1,56 \pm 0,49 bB	1,61 \pm 0,55 bAB	0,88 \pm 0,39 bA

Mesma letra similaridade estatística ($p>0,05$), Letras minúsculas – comparação na coluna; Letras maiúsculas - comparação na linha

Na morfologia observa-se em todos os grupos que houve a abertura e ampliação dos túbulos com o processo erosivo, contudo apenas os grupos G3 e G4 reduziram visivelmente o número e a embocadura dos túbulos, sendo observado inclusive obliteração total da embocadura dos túbulos (Figura 5), sendo o G4 muito mais evidente.

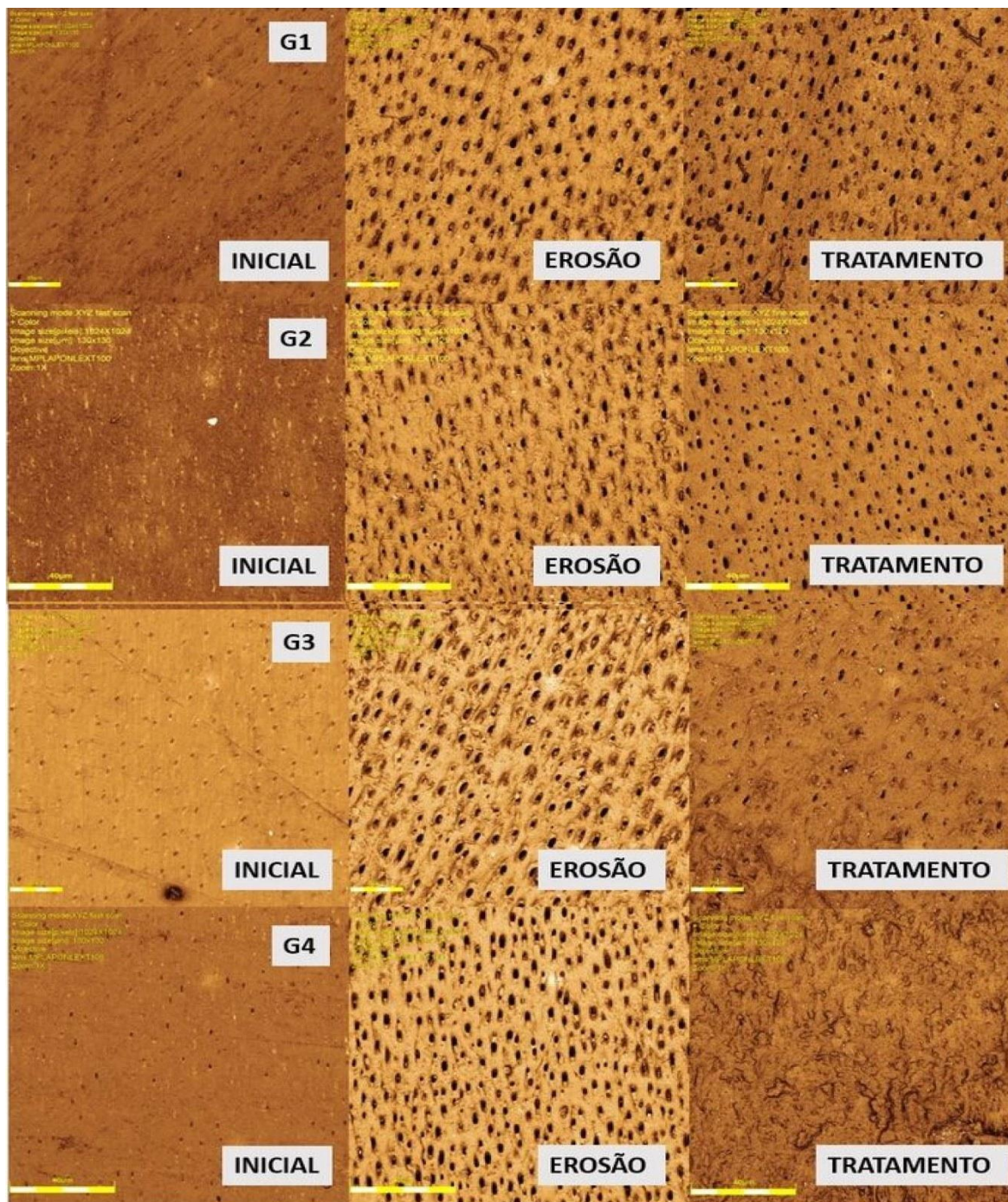


Figura 5. Análise morfológica das superfícies antes da erosão, erodidas e tratadas. G1 - Controle - Sem Tratamento, G2 - Ms Coat - Hys Block Gel (Sun Medical), G3 - Solução Experimental (Gel de Quitosana com Própolis), G4 - Solução Experimental + Laser de Diodo.

5. DISCUSSÃO

O presente estudo teve a intenção de explorar a heterogeneidade de múltiplos tratamentos sobre a dentina erodida, a fim de verificar a eficácia destes materiais no controle do processo de erosão, através do fechamento dos túbulos dentinários e alteração morfológica. Para tal finalidade, utilizou-se a microscopia confocal a laser de 3D para avaliar a rugosidade superficial, número e diâmetro de túbulos dentinários e morfologia do substrato.

Com objetivo de simular as condições encontradas na cavidade bucal de pacientes que apresentam processo de erosão dentinária, como os portadores da doença do refluxo gastroesofágico, decidiu-se empregar ácido clorídrico (HCl) a 0,01% para realizar o desafio erosivo inicial. (Borges *et al.*, 2020; Moretto *et al.*, 2017).

Pode-se observar que o comportamento do gel experimental com própolis associado ou não ao laser de diodo apresentou melhor comportamento que o comercial, principalmente no número e diâmetro de túbulos, desta forma a hipótese deste estudo foi rejeitada.

O Ms Coat - Hys Block Gel (Sun Medical), utilizado como tratamento comercial neste estudo, é um copolímero metacrilato de metila líquido, viscoso que contém ácido sulfônico estireno, ácido oxálico, água e fluoreto de sódio. Quando este material é aplicado, o copolímero contendo o grupo ácido sulfônico e o ácido oxálico reagem simultaneamente quimicamente com o componente de cálcio do dente para formar uma película protetora polimérica contendo cristais de oxalato de cálcio. Este revestimento forte, que também incorpora flúor e sais de potássio, sela firmemente a superfície do dente e o interior das microfissuras que levam aos túbulos dentinários. O bloqueio dos túbulos inibe o movimento do fluido intratubular, que é um fator causador da hipersensibilidade (Matsuda *et al.*, 2022). No presente estudo observou-se que o material não apresentou um bom comportamento de fechamento de túbulo ou diminuição das embocaduras do túbulo, provavelmente esse fato ocorreu devido as

características do material não sejam adequadas num substrato desmineralizado, pois precisa dos minerais dos dentes para ter uma ação mais efetiva, uma vez que o processo erosivo na dentina promove dissolução inicial da dentina peritubular, aumentando o diâmetro dos túbulos. (Del Carpio-Perochena et al., 2015). Além disso, por ser um estudo *in vitro* os túbulos dentinários não apresentam fluido intratubular, que pode ter afetado a interação para a formação de cristais para obliteração dos túbulos como visto na morfologia superficial que ocorreu insignificante diminuição das embocaduras dos túbulos.

Quando se comparou os géis experimentais associado ou não ao laser observou diferença de comportamento principalmente o grupo associado com laser de diodo, em que os túbulos praticamente foram obliterados e apresentando a maior eficácia no que diz respeito ao controle do processo erosivo. A literatura demonstra que a aplicação de laser no tecido dentário leva a alterações estruturais, por meio da irradiação de energia térmica que resulta na perda de água e carbonatos, o que pode explicar a facilitação da incorporação de estruturas no tecido, como a solução experimental. (Nanmour *et al.*, 2022) é vista nas imagens da morfologia superficial.

Seu mecanismo de ação se deve à interação do laser com a polpa dentária, que provoca um efeito fotobiomodulador, aumenta a atividade dos odontoblastos e assim destrói os túbulos dentinários devido ao aumento da produção de dentina terciária (George et al., 2019). A radiação do laser impede a despolarização das fibras aferentes C responsáveis pela transmissão lenta da dor, e seu efeito se deve às alterações na transmissão nervosa que ocorrem dentro da polpa através da transmissão neural (Tabatabaei et al., 2018).

A eficácia do laser de diodo (980µm) sozinho e em combinação com Gluma e cromóforo na obliteração de túbulos dentinários abertos e no tratamento da hipersensibilidade dentinária foi estudada por Khoubrouypak *et al.* 2020 que observou que o maior percentual médio de obliteração de túbulos dentinários foi o observado no grupo de laser de

diodo/cromóforo/Gluma, sugerindo que o cromóforo aumenta a eficácia do laser de diodo na obstrução dos túbulos dentinários. Assim como, o estudo desenvolvido por Fonseca et al., 2020 utilizou pioneiramente a Própolis como um agente fotossensibilizador na terapia fotodinâmica, visando atuar contra patógenos, inclusive os resistentes a antimicrobianos. Essa associação demonstrou que a Própolis como fotossensibilizador teve resultado promissor (Fonseca et al., 2020). Resultados esses, que corroboraram com os resultados obtidos neste trabalho através do tratamento com laser diodo e Gel experimental com quitosana e propólis demonstrado através da atuação intensa do laser sobre a superfície.

A solução experimental (Gel de quitosana com Própolis), quando comparada ao gel comercial Ms Coat - Hys Block Gel (Sun Medical CO., LTD, Japão) exibiu maior eficácia na obliteração dos túbulos dentinários e impedindo de aumentar a perda mineral, isso provavelmente ocorreu devido ao mecanismo, aparentemente, está relacionado à deposição de fosfato de cálcio nos túbulos dentinários após perda de prótons e reação de quelação. Além disso, o gel de quitosana possui íons em sua composição que aumentam a ação deste composto (Yamakami *et al.*, 2019). A quitosana ($C_6H_{11}NO_4$) é um copolímero de origem natural obtido por meio da desacetilação da quitina, utilizada há décadas como fibra alimentar, com o objetivo de controlar os níveis séricos de colesterol (Lorena *et al.*, 2017). Na odontologia, estudos recentes apontam a eficácia da quitosana para diminuir a ação bacteriana e maximizar a adesão do colágeno da dentina, além de que aumenta o processo de cicatrização por meio da ativação de macrófagos e subsequente liberação de mediadores inflamatórios, como a interleucina 1 (IL-1). Contudo, ainda não existem estudos conclusivos sobre a eficácia do gel de quitosana no controle da erosão dentinária, apesar de já existirem alguns estudos que sugerem fortemente a eficácia deste composto. Contudo, estudos comprovam o perfil de segurança da quitosana como princípio ativo odontológico (Tavaria *et al.*, 2013)

As própolis é um composto orgânico ototerápicos, atóxico, resinoso e balsâmico com

composição química complexa (Przybylek; Karpinski, 2008). Compostos derivados do própolis são utilizados da odontologia com a finalidade de promover a centralização de lesões orais, como as ulcerações aftosas, prevenir a cárie dentária, tratamento periodontal, uso em dentifrícios e enxaguantes bucais, tratamento da estomatite protética, tratamento da hipersensibilidade dentinária , capeamento pulpar e armazenamento de dentes avulsionados. Estudos demonstram o potencial do gel a base de própolis na oclusão de túbulos dentinários, levando a redução da permeabilidade e a vedação parcial dos túbulos, o que pode auxiliar na prevenção e tratamento da erosão dentinária e da hipersensibilidade, justificando, portanto, a utilização deste composto aliado a quitosana em forma de gel. (Almeida *et al.*, 2016). Todavia, convém reforçar que raramente alguns indivíduos podem apresentar algumas reações adversas relacionadas ao uso odontológico de própolis, sendo as principais as reações de hipersensibilidade que podem levar a erosão da gengiva. (Almeida, *et al.*, 2016). Portanto, os achados deste estudo podem servir de justificativa para novas pesquisas, uma vez que na análise demonstrou o potencial deste composto no manejo da erosão. (Ferreira *et al.*, 2017). Por fim, necessita-se de novos estudos que avaliem se há efeito no desgaste dental e como ocorre a interação no meio bucal.

6. CONCLUSÃO

Com base dos achados deste estudo, é possível concluir que:

A solução experimental de gel de quitosana com propolis principalmente associada ao Laser de Diodo, obteve melhor comportamento na análise final quando comparado aos demais grupos. Este grupo foi eficaz em todos os parâmetros analisados neste estudo, não obteve aumento na rugosidade após o tratamento, apresentou menor quantidade de túbulos expostos, obliterando a sua maioria e teve grande diminuição no diâmetro dos túbulos.

A solução experimental de gel de quitosana/própolis, isoladamente, obteve um resultado superior ao comercial na diminuição do número de túbulos.

Não foi possível verificar a eficácia do composto comercial Ms Coat - Hys Block Gel (Sun Medical) para o tratamento da erosão dentinária.

7. REFERÊNCIAS

Abdalla, R.; Mitchell, R. J.; Fang Ren, Yan. Non-cariou cervical lesions imaged by focus variation microscopy. *Journal of dentistry*, v. 63, p. 14-20, 2017.

Almeida DC. Própolis na odontologia: uma abordagem de suas diversas aplicabilidades clínicas. *Revista Fluminense de Odontologia*, Rio de Janeiro, v. 2, n. 46, p. 1-12, 17 fev. 2017.

Pro Reitoria de Pesquisa, Pós Graduação e Inovação - UFF.

Alvarez-Arenal A, et al. Non-cariou cervical lesions and risk factors: A case-control study. *J Oral Rehabil*. 2019 Jan;46(1):65-75. doi: 10.1111/joor.12721. Epub 2018 Oct 21. PMID: 30252966.

Aranha AC; Eduardo CDEP. In vitro effects of Er,Cr:YSGG laser on dentine hypersensitivity Dentine permeability and scanning electron microscopy analysis. *Lasers Med Sci*. 2012;27(4):827–34. doi: 10.1007/s10103-011-0986-y.

Arantes, Brenda F. et al. Influence of Er, Cr: YSGG laser, associated or not to desensitizing agents, in the prevention of acid erosion in bovine root dentin. *Lasers in medical science*, v. 34, n. 5, p. 893-900, 2019.

Bader, J.D.; McClure, F.; Scurria, M.S., Shugars, D.A.; Heymann, H.O. Case-control study of non-cariou cervical lesions. *Community Dent Oral Epidemiol* 1996;24:286–291.

Black GV. Um trabalho em odontologia operativa , vol. 1 , Pub Médico-Dental. Co, Chicago (1908) 39-59.

Bartlett D; O'Toole S. Tooth wear and aging. *Aust Dent J*. 2019 Jun;64 Suppl 1:S59-S62. doi: 10.1111/adj.12681. PMID: 31144323.

Beltrame APCA et al. Effect of Phosphorylated Chitosan on Dentin Erosion: An in vitro Study. *Caries Res*. 2018;52(5):378-386. doi: 10.1159/000486521. Epub 2018 Mar 6. PMID:

29510408.

Bedran-Russo, Ana Karina B. et al. Application of crosslinkers to dentin collagen enhances the ultimate tensile strength. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, v. 80, n. 1, p.268-272, 2007.

Borges, Maria HR; CARNEIRO, Reginna VTSM. Erosão dental em pacientes com doença do refluxo gastroesofágico Diagnóstico e abordagem multidisciplinar Uma revisão de literatura. *Rev. odontol. UNESP*, vol.49, n Especial, p.184, 2020.

Carey, Clifton M.; Brown, William. Dentin erosion: method validation and efficacy of fluoride protection. *Dentistry journal*, v. 5, n. 4, p. 27, 2017.

Chawhuaveang DD, et al. Topical Agents for Nonrestorative Management of Dental Erosion: A Narrative Review. *Healthcare (Basel)*. 2022 Jul 28;10(8):1413. doi: 10.3390/healthcare10081413. PMID: 36011070; PMCID: PMC9408325.

Dash, Mamoni et al. Chitosan—A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. *Progress in polymer science*, v. 36, n. 8, p. 981-1014, 2011.

Del Carpio-Perochena, A.; Bramante, C. M.; Duarte, M. A. H.; De Moura, M. R.; Aouada, F. A.; Kishen, A. Chelating and antibacterial properties of chitosan nanoparticles oan dentin. *Restorative dentistry & endodontics*, 40(3), 195-201, 2015.

Demarco FF et al. Non-carious cervical lesions (NCCLs) and associated factors: A multilevel analysis in a cohort study in southern Brazil. *J Clin Periodontol*. 2022 Jan;49(1):48-58. doi: 10.1111/jcpe.13549. Epub 2021 Oct 26. PMID: 34545588.

Donavan, T. et al. Contemporary diagnosis and management of dental erosion. *J Esthet Restor Dent*. 2021 Jan;33(1):78-87. doi: 10.1111/jerd.12706. Epub 2021 Jan 6. PMID: 33410255.

Fawzy, Amr S. et al. Chitosan/Riboflavin-modified demineralized dentin as a potential

substrate for bonding. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, v. 17, p. 278-289, 2013.

Ferreira AC et al. Os diferentes usos da Quitosana na Odontologia: uma revisão de literatura.. *Jornada Odontológica dos Acadêmicos da Católica, Quixadá*, v. 3, n. 1, p. 1-4, fev. 2017.

Fonseca AMV, et al. Photodynamic Therapy With Propolis: Antibacterial Effects on *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* and *Escherichia coli* Analysed by Atomic Force Microscopy. *J Lasers Med Sci*. 2020 Fall;11(Suppl 1):S107-S112. doi: 10.34172/jlms.2020.S17. Epub 2020 Dec 30. PMID: 33995978; PMCID: PMC7956024.

Francese MM. The protective effect of the experimental TiF₄ and chitosan toothpaste on erosive tooth wear in vitro. *Sci Rep*. 2022 Apr 30;12(1):7088. doi: 10.1038/s41598-022-11261-1. PMID: 35490193; PMCID: PMC9056515.

Franchin, Marcelo et al. The use of Brazilian propolis for discovery and development of novel anti-inflammatory drugs. *European journal of medicinal chemistry*, v. 153, p. 49-55, 2018.

García-Delaney C, et al. Evaluation of the effectiveness of the photobiomodulation in the treatment of dentin hypersensitivity after basic therapy. A randomized clinical trial. *J Clin Exp Dent*. 2017;9:e694–702.

George AA, Muruppel AM, Supeed S, Dinesh N, Sandeep L. A Comparative Evaluation of the Effectiveness of Three Different Modalities in Occluding Dentinal Tubules: An In Vitro Study. *The Journal of Contemporary Dental Practice*. April, 2019, v. 20, p. 454 – 459.

Hozzein, Wael N. et al. Topical application of propolis enhances cutaneous wound healing by promoting TGF-beta/Smad-mediated collagen production in a streptozotocin-induced type I diabetic mouse model. *Cellular Physiology and Biochemistry*, v. 37, n. 3, p. 940-954, 2015.

Khoubrouypak Z, et al.. Evaluation of the Effects of 810 nm Diode Laser Alone and in Combination With Gluma© and Chromophore on Dentinal Tubule Occlusion: A Scanning Electron Microscopic Analysis. *J Lasers Med Sci*. 2020 Summer;11(3):268-273. doi:

10.34172/jlms.2020.45. Epub 2020 Jun 21. PMID: 32802286; PMCID: PMC7369560.

Kimura Y, et al.. Treatment of dentine hypersensitivity by lasers: a review. *J Clin Periodontol*. 2000;27(10):715–21. doi: 10.1034/j.1600-051x.2000.027010715.x.

Kripal K, et al. Treatment of dentinal hypersensitivity using propolis varnish: A scanning electron microscope study. *Indian J Dent Res*. 2019 Mar-Apr;30(2):249-253. doi: 10.4103/ijdr.IJDR_400_18. PMID: 31169158.

Levitch, L. C. et al. Non-carious cervical lesions. *Journal of Dentistry*, v. 22, n. 4, p. 195-207, 1994.

Lorena, Felipe et al. Quitosana: Da Química Básica à Bioengenharia. *Química Nova na Escola*, São Paulo, v. 39, n. 4, p. 312-320, 1 nov. 2017. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). <http://dx.doi.org/10.21577/0104-8899.20160089>.

Lussi A, et al. The use of fluoride for the prevention of dental erosion and erosive tooth wear in children and adolescents. *Eur Arch Paediatr Dent*. 2019 Dec;20(6):517-527. doi: 10.1007/s40368-019-00420-0. Epub 2019 Feb 14. PMID: 30762211.

Maenoso RM, et al. A irradiação com laser de diodo aumenta a resistência de união à microtração da dentina. *Braz Oral Res*. 2015; 29 (1):1–5.

Markowitz, Kenneth; Rosenblum, Marc A. The effect of cationic polymer treatment on dye staining and on the adhesion of charged particles to dentin. *Archives of oral biology*, v. 55, n. 1, p. 60-67, 2010.

Matsuda Y, et al. Inhibition of Demineralization of Dentin by Fluoride-Containing Hydrogel Desensitizers: An In Vitro Study. *J Funct Biomater*. 2022 Nov 16;13(4):246. doi: 10.3390/jfb13040246. PMID: 36412887; PMCID: PMC9680291.

Moretto M. J., Pedra, F. P. G., Carvalho, M. O., Silva, J. P. P., & Fernandes, S. L. (2017). Erosão dentária provocada por bebidas ácidas. *Revista Saúde Multidisciplinar - FAMA Mineiros/GO - Vol. IV*, p. 98-107 – Março de 2017.

Moura, Sandra K. et al. Effects of different treatments on chemical and morphological features of eroded dentin. *Lasers in medical science*, v. 33, n. 7, p. 1441-1446, 2018.

Musat V et al. A Chitosan-Agarose Polysaccharide-Based Hydrogel for Biomimetic Remineralization of Dental Enamel. *Biomolecules*. 2021 Aug 2;11(8):1137. doi: 10.3390/biom11081137. PMID: 34439803; PMCID: PMC8392529.

Nanmour S et al. Twelve-Month Follow-Up of Different Dentinal Hypersensitivity Treatments by Photobiomodulation Therapy, Nd: yag and nd. *Life*, [S.L.], v. 12, n. 12, p. 1996, 30 nov. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/life12121996>.

Né YGS et al. Treatment for dental erosion: a systematic review of in vitro studies. *PeerJ*. 2022 Nov 8;10:e13864. doi: 10.7717/peerj.13864. PMID: 36389398; PMCID: PMC9651041.

Passos, VF et al.. Current Concepts and Best Evidence on Strategies to Prevent Dental Erosion. *Compend Contin Educ Dent*. 2019 Feb;40(2):80-86. PMID: 30767547.

Pereira FC, et al. Antinociceptive effects of low-level laser therapy at 3 and 8 j/cm² in a rat model of postoperative pain: Possible role of endogenous opioids. *Lasers Surg Med*. 2017;49:844–51.

Piccolo MZD, et al. Effects of gastric acid and mechanical toothbrushing in CAD-CAM restorative materials: Mechanical properties, surface topography, and biofilm adhesion. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2023 Feb;138:105606. doi: 10.1016/j.jmbbm.2022.105606. Epub 2022 Dec 7. PMID: 36525873.

Murugesan S, et al. Novel Management of Hypersensitive Dentin Using Propolis-based Herbal Desensitizing Agents: An In Vitro Scanning Electron Microscopic Study. *J Contemp Dent Pract*. 2021 Sep 1;22(9):1030-1034. PMID: 35000948.

Pinheiro ALB; Brugnera Junior, A. *Lasers na odontologia moderna*. São Paulo: Pancast, p. 45-62, 1998.

Praveen R, et al. Comparative evaluation of a low-level laser and topical desensitizing agent

for treating dentinal hypersensitivity: A randomized controlled trial. *J Conserv Dent.* 2018;21:495–9.

Przybyłek I; Karpinski T. Antibacterial Properties of Propolis. *Molecules*, [S.L.], v. 24, n. 11, p. 2047, 29 maio 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules24112047>.

Reis FN, et al. Gels containing statherin-derived peptide protect against enamel and dentin erosive tooth wear in vitro. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2023 Jan;137:105549. doi: 10.1016/j.jmbbm.2022.105549. Epub 2022 Nov 3. PMID: 36356421.

Saads CT; Lussi A. Chapter 9: Acidic Beverages and Foods Associated with Dental Erosion and Erosive Tooth Wear. *Monogr Oral Sci.* 2020;28:91-98. doi: 10.1159/000455376. Epub 2019 Nov 7. PMID: 31940633.

Schlueter N, et al. Terminology of Erosive Tooth Wear: Consensus Report of a Workshop Organized by the ORCA and the Cariology Research Group of the IADR. *Caries research*, v. 54, n. 1, p. 1-5, 2020.

Shrestha A; Friedman S; Kishen A. Photodynamically crosslinked and chitosan-incorporated dentin collagen. *Journal of dental research*, v. 90, n. 11, p.1346-1351, 2011.

Souza BM, et al. Effect of chitosan solutions with or without fluoride on the protection against dentin erosion in vitro. *Eur J Oral Sci.* 2020 Dec;128(6):495-500. doi: 10.1111/eos.12740. Epub 2020 Oct 15. PMID: 33058288.

Shwetha S, Chandrasekhara R, Sudhir KM. Effectiveness of laser therapy over tropical desensitising agents in the treatment of dentinal hypersensitivity – A systematic review. *International Journal of Scientific Research and Management (IJSRM)*, v.5, n.9, p. 6983 6990, set. 2017.

Tabatabaei MH, Chiniforush N, Hashemi G, Valizadeh S. Efficacy Comparison of Nd:YAG laser, diode laser and dentine bonding agent in dentine hypersensitivity reduction: a clinical trial. *Journal for Laser Surgery.* Dec, 2018. 27(4) : 265-270.

Tavares J, et al. The effectiveness of propolis extract in reducing dentin hypersensitivity: A systematic review. *Arch Oral Biol.* 2021 Nov;131:105248. doi: 10.1016/j.archoralbio.2021.105248. Epub 2021 Aug 27. PMID: 34534811.

Tavaria FK et al. A quitosana como biomaterial odontológico: estado da arte. *Revista Brasileira de Engenharia Biomédica* [online]. 2013, v. 29, n. 1, pp. 110-120. <<https://doi.org/10.4322/rbeb.2013.002>>. Epub 15 Abr 2013. ISSN 1517-3151.

Teixeira DNR et al. Prevalence of noncarious cervical lesions among adults: A systematic review. *J Dent.* 2020 Apr;95:103285. doi: 10.1016/j.jdent.2020.103285. Epub 2020 Jan 30. PMID: 32006668.

Umana M, et al. Dentinal tubules sealing by means of diode lasers (810 and 980 nm): a preliminary in vitro study. *Photomed Laser Surg.* 2013 Jul;31(7):307-14. doi: 10.1089/pho.2012.3443. Epub 2013 Jun 11. PMID: 23756100.

Ururahy MS, et al. Wettability and surface morphology of eroded dentin treated with chitosan. *Archives of oral biology*, v. 75, p. 68-73, 2017.

Yamakami SA, et al. Effect of an experimental chitosan/casein gel on demineralized enamel under a cariogenic challenge. *Dent Med Probl.* 2022 Oct-Dec;59(4):531-538. doi: 10.17219/dmp/146038. PMID: 36484481.