



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ

**ESCOLA DE SAÚDE E BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO DENTÍSTICA**

GABRIELA DAMKE CANALI

**AVALIAÇÃO DA PERMEABILIDADE DENTINÁRIA COM
DIFERENTES AGENTES DESSENSIBILIZANTES E O
EFEITO DE CICLOS DE EROSÃO E ABRASÃO**

Curitiba

2015

GABRIELA DAMKE CANALI

**AVALIAÇÃO DA PERMEABILIDADE DENTINÁRIA COM
DIFERENTES AGENTES DESSENSIBILIZANTES E O
EFEITO DE CICLOS DE EROÇÃO E ABRASÃO**

**Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Odontologia da
Pontifícia Universidade Católica do
Paraná, como parte dos requisitos para
obtenção do título de Mestre em
Odontologia, Área de Concentração em
Dentística.**

**Orientador: Prof. Dra. Evelise Machado de
Souza**

Curitiba

2015

Dados da Catalogação na Publicação
Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/PUCPR
Biblioteca Central

C212
2015

Canali, Gabriela Damke

Avaliação da permeabilidade dentinária com diferentes agentes
dissensibilizantes e o efeito de ciclos de erosão e abrasão / Gabriela Damke
Canali ; orientadora, Evelise Machado de Souza. – 2015.
53 f. : il. ; 30 cm

Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Paraná,
Curitiba, 2015

Inclui bibliografias

Texto em português e inglês

1. Sensibilidade da dentina. 2. Fluoreto de sódio. 3. Dessensibilizantes
dentinários. I. Souza, Evelise Machado de. II. Pontifícia Universidade Católica
do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Odontologia. III. Título.

CDD 20. ed. – 617.6

TERMO DE APROVAÇÃO

GABRIELA DAMKE CANALI

AVALIAÇÃO DA PERMEABILIDADE DENTINÁRIA COM DIFERENTES AGENTES DESSENSIBILIZANTES E O EFEITO DE CICLOS DE EROÇÃO E ABRASÃO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, como parte dos requisitos parciais para a obtenção do Título de **Mestre em Odontologia**, Área de Concentração em **Dentística**.

Orientador(a):


Profª Drª Evelise Machado de Souza
Programa de Pós-Graduação em Odontologia, PUCPR


Prof. Dr. Rui Fernando Mazur
Programa de Pós-Graduação em Odontologia, PUCPR


Profª Drª Carla Castiglia Gonzaga
Programa de Pós-Graduação em Odontologia Clínica, UP

Curitiba, 08 de abril de 2015.

DEDICATÓRIA

A Deus, pai, mãe, minha irmã Júlia, meu namorado, amigos, colegas do mestrado e a minha orientadora. Sem eles nada disso seria possível.

AGRADECIMENTOS

- A minha família, por sua capacidade de acreditar e investir em mim. Pai, sua presença significou segurança e certeza de que nunca estarei sozinha. Mãe, seu cuidado e dedicação me deram a esperança para seguir. Jujú, sua alegria me ajudou a superar todos os dias difíceis. Amo vocês.
- Julio, obrigada pelo carinho, paciência e por sua capacidade de me trazer paz na correria de cada semestre. Amo você.
- A minha orientadora, por todo o incentivo, paciência e dedicação na realização desse trabalho, por ser exemplo de profissional e de mulher.
- A Capes pela taxa para o mestrado.
- Aos professores da banca que cederam uma parte de seu tempo para poder contribuir com meu trabalho.
- Aos professores Sergio Vieira, Rui Fernando Mazur, Rodrigo Nunes Rached e Andrea Freire de Vasconcelos pelos conhecimentos transmitidos.
- Ao professor Sergio Aparecido Ignácio pela análise estatística dos dados da pesquisa.
- Às secretárias do programa de Pós-Graduação, Sra. Neide e Sra. Flávia, muito obrigada por toda a atenção.
- À funcionária da clínica da Pós-Graduação, Sra. Nilce, por sua paciência e ajuda.
- Às minhas colegas Berthyelle, Rachel, Viviane, Marta e Elisa, meu sincero agradecimento pela paciência, amizade, pelas inúmeras risadas e incentivo para a realização deste trabalho. Desejo que todas tenham sucesso profissional e trilhem o caminho que tanto almejam.

SUMÁRIO

ARTIGO EM PORTUGUÊS	1
Página título	1
Resumo.....	1
Introdução	3
Materiais e Método.....	5
Resultados	10
Discussão	16
Conclusão	39
ARTIGO EM INGLÊS.....	22
Title page.....	22
Abstract	23
Introduction	24
Material and Methods.....	26
Results	30
Discussion	36
Conclusion	40
References.....	41
ANEXOS	46
Parecer de comitê de ética.....	46
Normas para publicação.....	49

ARTIGO EM PORTUGUÊS

Página título

TÍTULO: Avaliação da permeabilidade dentinária com diferentes agentes dessensibilizantes e o efeito de ciclos de erosão e abrasão.

TÍTULO CURTO: Permeabilidade dentinária de dessensibilizantes sob erosão e abrasão.

AUTORES:

Gabriela Damke Canali, C.D., Mestranda em Odontologia

Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Área de Concentração Dentística, Escola de Saúde e Biociências, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil.

Imaculada Conceicao 1155

80215-901 Curitiba - PR - Brazil

Evelise Machado Souza C.D., Especialista, Mestre e Doutora em Odontologia

Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Área de Concentração Dentística, Escola de Saúde e Biociências, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil.

Imaculada Conceicao 1155

80215-901 Curitiba - PR - Brazil

E-mail: evelise.souza@pucpr.br

Resumo

O objetivo do estudo foi avaliar o efeito oclusivo de agentes de dessensibilização dentinária quando submetidos a ciclos de desgaste abrasivo e desafio ácido por meio de alterações na permeabilidade da dentina (Lp). Discos de dentina com 1 mm de espessura foram obtidos a partir de 42 terceiros molares humanos hígidos. Uma *smear layer* padronizada foi criada em cada espécime para a mensuração da Lp mínima, enquanto a Lp máxima foi medida após a imersão em solução de EDTA 0,5M. Os espécimes (n=9) foram submetidos ao tratamento com os dessensibilizantes Fluor Protector (FP), Desensibilize Nano-P (NP), Clinpro XT Varnish (CV) e Oxa-Gel (OG). A Lp de cada espécime foi medida em 5, 10 e 15 minutos. Os discos foram submetidos a um ciclo de erosão/abrasão durante 7 dias, com imersão em solução de ácido cítrico 0,5% 6x ao dia e desafio abrasivo com escovação por 5 segundos após a primeira, terceira e a última erosão de cada dia. Os espécimes foram armazenados em saliva artificial a 37°C nos intervalos. A mensuração da Lp foi realizada no 1º, 4º e 7º dias. Os dados foram submetidos à ANOVA a 3 critérios com medidas repetidas e ao teste de Games-Howell ($\alpha=5\%$). ANOVA detectou diferenças significantes para "material" e "condições experimentais", bem como interação significativa entre esses fatores ($p<0,05$). Os dessensibilizantes FP e CV não apresentaram diferenças significantes na Lp quando comparada à Lp mínima desde a aplicação até o sétimo dia de desafio ($p<0,05$). OG apresentou aumento significativo na Lp após o quarto e sétimo dias com relação à Lp mínima e imediatamente após a aplicação ($p<0,05$). Imediatamente após a aplicação e após o primeiro dia de desafio erosivo/abrasivo, o dessensibilizante NP apresentou permeabilidade significativamente maior do que os demais materiais ($p<0,05$). Somente os dessensibilizantes Clinpro XT e Fluor Protector foram capazes de manter a permeabilidade dentinária semelhante à mínima após os ciclos de desafio erosivo/abrasivo.

Palavras-chave: Sensibilidade dentinária, Fluoreto de sódio, Oxalato de potássio, Verniz fluoretado, Cimento de ionômero de vidro e Fosfato de cálcio.

Significância clínica: O tratamento da hipersensibilidade dentinária com agentes dessensibilizantes na forma de verniz se mostrou mais eficaz na manutenção do efeito oclusivo frente a desafios de erosão e abrasão.

1 **Introdução**

2 O desconforto causado pela hipersensibilidade dentinária é uma das
3 queixas mais comuns nos consultórios odontológicos. Estudos epidemiológicos
4 demostram que a prevalência da hipersensibilidade dentinária varia de 2,8% a
5 74%, dependendo da população estudada e da configuração do estudo¹.

6 A hipersensibilidade dentinária ocorre quando os túbulos dentinários são
7 expostos ao ambiente oral² como resultado da perda do esmalte pela abrasão,
8 erosão, abfração ou exposição da superfície radicular, causada por recessão
9 gengival ou tratamentos periodontais³. A hipersensibilidade é caracterizada por
10 uma resposta exagerada, na qual o paciente apresenta dor aguda, de intensidade
11 variável e de curta duração, em resposta a estímulos como mudanças térmicas,
12 táteis, osmóticas ou químicas que não podem ser atribuídas a qualquer outro tipo
13 de afecção odontológica^{3,4}.

14 Várias teorias têm sido apresentadas para explicar a hipersensibilidade
15 dentinária, mas a Teoria Hidrodinâmica proposta por Brännström na década de
16 60⁵ ainda é a mais aceita. Essa teoria afirma que quando um estímulo é aplicado
17 na dentina exposta há um aumento na movimentação de fluido no interior dos
18 túbulos dentinários e, conseqüentemente, uma alteração na pressão osmótica da
19 polpa, desencadeando uma ativação sensorial das células. O resultado é a
20 percepção de uma dor aguda e curta, que geralmente só persiste enquanto o
21 estímulo é aplicado ou por pouco tempo após a sua remoção⁵.

22 Com base nessa teoria, duas estratégias de tratamento para a
23 hipersensibilidade dentinária têm sido propostas: a primeira propõe a modificação
24 ou bloqueio nervoso da resposta pulpar e a segunda, a oclusão dos túbulos
25 dentinários com conseqüente redução da permeabilidade dentinária e da
26 movimentação do fluido intratubular^{1,6}.

27 Para o tratamento da hipersensibilidade dentinária por meio da oclusão
28 dos túbulos dentinários, produtos de uso caseiro ou de consultório podem ser
29 empregados. Os caseiros constituem comumente dentifrícios e, em menor
30 escala, géis e enxaguatórios bucais. Os agentes dessensibilizantes aplicados
31 profissionalmente podem se apresentar como cimentos, vernizes, géis, pastas ou
32 ainda sistemas adesivos. Estes produtos podem conter fluoretos, oxalatos, nitrato
33 de potássio e fosfato de cálcio e são os mais comumente empregados para esta

1 finalidade⁷. Durante os períodos entre as aplicações, as barreiras formadas
2 podem estar sujeitas à remoção ou dissolução devido ao desgaste abrasivo
3 promovido pela escovação dental com dentífrico ou devido à presença de dieta
4 ácida⁸.

5 Alguns dessensibilizantes que contendo veículos resinosos como os
6 cimentos de ionômero de vidro modificados por resina agem na estrutura
7 dentinária se infiltrando nos túbulos dentinários, demonstrando assim potencial
8 para reduzir a sensibilidade na dentina exposta⁹. Produtos a base de fosfato de
9 cálcio demonstraram ser capazes de obliterar os túbulos pela formação de um
10 mineral amorfo similar à apatita promovendo uma redução mecânica e
11 físicoquímica no diâmetro dos túbulos dentinários^{10,11}. A utilização de
12 dessensibilizantes a base de oxalato de potássio pode provocar a despolarização
13 neural e também a oclusão dos túbulos pela formação de cristais de oxalato de
14 cálcio¹². Vernizes a base de flúor, quando em contato com as estruturas dentárias
15 mineralizadas, reagem quimicamente com os íons de cálcio e fosfato da dentina,
16 levando à precipitação de cristais de fluoreto de cálcio na embocadura dos
17 túbulos dentinários. Porém, existem evidências de que os cristais formados são
18 instáveis e se dissociam rapidamente¹³.

19 Independente do tratamento selecionado, o grande desafio é a sua
20 efetividade em longo prazo. Portanto, seria importante avaliar o comportamento
21 dos precipitados formados pela aplicação destes agentes dessensibilizantes
22 quando expostos ao meio oral com todas as suas condições e variação de pH.

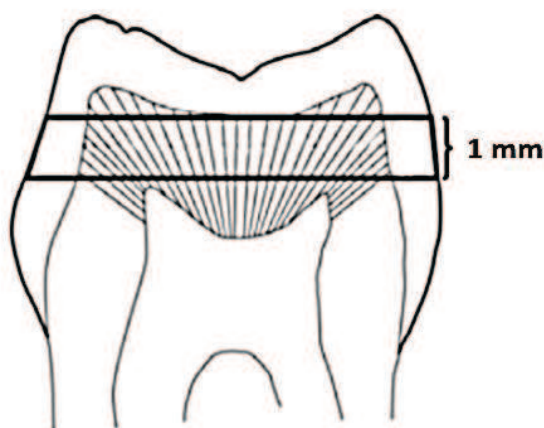
23 O objetivo do estudo foi avaliar o efeito oclusivo de agentes de
24 dessensibilização dentinária quando submetidos ao desgaste abrasivo promovido
25 pela escovação dental com dentífrico e a sua manutenção frente a um desafio
26 ácido por meio das alterações na permeabilidade da dentina. Adicionalmente, as
27 alterações na morfologia e na microestrutura dentinária foram visualizadas por
28 meio da microscopia eletrônica de varredura (MEV).

29 As hipóteses nulas testadas no estudo foram de que: 1) não haveria
30 diferença entre os diferentes agentes dessensibilizantes com relação à
31 permeabilidade dentinária e 2) não haveria diferença na permeabilidade da
32 dentina tratada com os diferentes agentes dessensibilizantes antes e após o
33 desafio erosivo/abrasivo.

1 **Materiais e Método**

2 *Preparo dos espécimes*

3 Quarenta e dois terceiros molares humanos hígidos foram obtidos a partir
4 do Banco de Dentes da Pontifícia Universidade Católica do Paraná após a
5 aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa (Parecer nº 632.162/2014) e
6 mantidos em cloramina T 0,5% a 4°C, por um período máximo de seis meses. Os
7 dentes foram seccionados perpendicularmente ao seu longo eixo, com disco de
8 corte diamantado acoplado em uma cortadeira de precisão (Isomet 1000, Buehler
9 Inc., Lake Bluff, IL, EUA) com baixa rotação (250 rpm) sob irrigação constante.
10 Espécimes em forma de disco (Figura 1) com $1,0 \pm 0,2\text{mm}$ de espessura foram
11 obtidos a partir da porção média da coroa de cada dente. A espessura de todos
12 os discos foi verificada com um paquímetro digital (Modelo CD 6"CS, Mitutoyo
13 Corp., Tóquio, Japão). Os discos foram limpos com banho em ultrassom com
14 água destilada por 10 minutos. A ausência de remanescentes de esmalte e
15 exposições pulpares foram avaliadas com microscópio ótico com $40\times$ de
16 aumento (Olympus BX60, Olympus Corp, Tóquio, Japão).



17
18 Figura 1: Imagem esquemática do corte para obtenção do disco de dentina
19 (Adaptado de Santiago et al., 2006).

20

21 *Tratamento das superfícies*

22 Para a obtenção da permeabilidade mínima (L_p mín) de cada espécime
23 uma *smear layer* padronizada foi criada na superfície oclusal utilizando lixas SiC
24 de granulação 600 (3M do Brasil, Sumaré, SP, Brasil) por 30 segundos. A
25 permeabilidade máxima (L_p máx) foi obtida com a imersão dos discos de dentina

em solução de EDTA 0,5 M por 2 minutos¹⁴ em ultrassom (Metason 60T, Struers Inc., Ballerup, Dinamarca) para abertura total dos túbulos dentinários.

Os espécimes foram distribuídos aleatoriamente em 4 grupos contendo 9 discos cada, os quais receberam o tratamento com os diferentes agentes dessensibilizantes de acordo com a Tabela 1. Após a aplicação, um tempo de espera de 45 minutos foi utilizado, no qual os espécimes permaneceram em umidade relativa previamente ao início dos testes de permeabilidade dentinária.

Dispositivo e cálculos para obtenção de permeabilidade dentinária

Cada disco foi conectado a um sistema de filtração modificado¹⁵ (Figura 2) para simular a pressão intrapulpar de 10 psi (703.1 cm H₂O). O disco de dentina foi fixado por um par de anéis de borracha conectados a uma placa de PMMA (2 cm de diâmetro × 0,5 cm de espessura) contendo um orifício com uma área padronizada de 0,38 cm² disponível para a difusão da água destilada.

As medidas de permeabilidade foram executadas a partir da movimentação de uma bolha de ar no interior de um capilar de vidro de 25 µL fixado sobre uma escala milimetrada. Para cada espécime, o fluxo de fluido através dos discos de dentina (filtração) foi calculado a partir da seguinte fórmula:

$$Q = \frac{25\mu\text{L} \cdot (x)\text{mm}}{(y)\text{mm} \cdot (z)\text{min}}$$

Onde Q é a filtração dentinária, x é a distância percorrida pela bolha em mm, y é o comprimento do capilar em mm (130 mm) e z é o tempo em min.

A condutividade hidráulica da dentina, Lp (µL.min⁻¹. cm H₂O⁻¹. cm⁻²), foi calculada com base na seguinte fórmula:

$$L_p = \frac{Q}{P \cdot A}$$

Onde Q é a taxa de filtração (µL.min⁻¹), P é a pressão de água (703.1 cmH₂O) e A é a área de dentina exposta (0,38 cm²).

A permeabilidade de cada espécime foi expressa como a porcentagem (Lp%) de fluxo de fluido comparado a Lp máx. A mensuração da permeabilidade

1 dos discos de dentina em todos os tratamentos foi realizada nos tempos de 5, 10
2 e 15 minutos sob pressão constante.



3
4 Figura 2: Desenho esquemático do sistema de filtração utilizado para mensurar a
5 condução hidráulica da dentina (Santiago et al., 2006).
6

7 *Ciclo de desafio ácido e escovação*

8 Todos os espécimes foram submetidos a um ciclo de desafio ácido durante
9 7 dias em uma solução de ácido cítrico 0,5% com pH de 2,5, seis vezes ao dia
10 durante 2 minutos sob agitação em um aparelho de ultrassom. Entre os tempos
11 de imersão, os espécimes eram armazenados em saliva artificial a 37°C. Após a
12 primeira, a terceira e a última imersão do dia, os espécimes foram submetidos à
13 escovação dental durante 5 segundos, utilizando uma escova elétrica (Oral-B
14 Pro-Saúde Power, The Procter & Gamble Company, Cincinnati, Ohio, USA)
15 acoplada a um suporte fixo com carga de 200g^{16,17}. Após a escovação durante 5
16 segundos, os discos permaneceram em contato com uma suspensão de
17 dentífrico (Colgate Total 12, Colgate-Palmolive Company, Toronto, Ontario,
18 Canada) e água destilada por 2 minutos. Em seguida, os discos foram lavados
19 em água destilada por 10 segundos em ultrassom, e então armazenados em
20 saliva artificial ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,167; KH_2PO_4 , 0,123g; KCl, 11,2g; $(\text{HOCH}_2)_3\text{CNH}_2$,
21 2,42g; água destilada, 1.000 ml; pH ajustado para 7,0) a 37°C.

22 A permeabilidade da dentina foi mensurada no 1º, 4º e 7º dias, nos tempos
23 pré-determinados.
24

Tabela 1: Descrição dos grupos e composição dos agentes dessensibilizantes a serem utilizados no estudo.

Grupo	Material	Composição	Modo de Aplicação * (Classificação)
FP	Fluor Protector, IVOCLAR VIVADENT AG, Schaan, Liechtenstein	acetato de etila, isoamil propionato, verniz de poliuretano e difluorsilano	Aplicação do verniz com microaplicador.
CV	Clinpro XT Varnish, 3M ESPE, St Paul, MN, EUA	Parte A: partículas de vidro de fluoro-aluminosilicato silanizado, HEMA, água, BIS-GMA, sílica silanizada. Parte B: copolímero do ácido polialcenóico, água, HEMA, glicerofosfato de cálcio.	Mistura das duas pastas por 15 seg, aplicação do verniz na superfície de uma fina camada e fotoativação por 20 seg, limpeza da superfície com algodão umidecido.
OG	Oxa-Gel, Kota Import's LTDA., São Paulo, SP, Brasil	Oxalato de potássio monohidratado e gel de carboximetilcelulose.	Aplicação do gel com microaplicador ativamente por 2 min.
NP	Dessensibilize Nano-P, FGM, Produtos Odontológicos, Joinville, SC, Brasil	Fosfato de Cálcio nanométrico, fluoreto de sódio, nitrato de potássio.	Fricção da pasta por 10 seg com disco de feltro em baixa rotação, espera de 5 min, remoção com algodão seco.

*Recomendação do fabricante.

Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Seis molares humanos hígidos foram preparados adicionalmente para análise morfológica da dentina. Discos de dentina foram obtidos e seccionados em 4 partes. Cada parte foi atribuída a uma das fases de tratamento da dentina, a saber, *smear layer*, abertura dos túbulos com EDTA, aplicação dos dessensibilizantes em cada tempo de avaliação do ciclo abrasivo/erosivo.

Os espécimes foram fixados em solução de glutaraldeído 2,5% tamponado com solução de fosfato de sódio 0,1 M (pH 7,4) sob temperatura de 4°C por 24

1 horas. Em seguida, foram lavados com solução de fosfato de sódio 0,2 M (pH
2 7,4), por uma hora com três trocas. A desidratação das estruturas foi então
3 realizada com banhos sucessivos de etanol em concentrações crescentes de
4 25%, 50%, 75%, 95% e 100%. A desidratação final foi realizada utilizando o
5 processo de ponto crítico, onde as amostras foram transferidas para a câmara do
6 aparelho e recobertas por dióxido de carbono líquido (BAL-TEC CPD 030 Critical
7 Point Dryer, Balzers, Liechtenstein). As amostras foram metalizadas com liga de
8 ouro/paládio (Balzers SCD 050, Balzers, Liechtenstein) e observadas em
9 microscópio eletrônico de varredura (TESCAN VEGA3 LMU, Tescan Orsay
10 Holding, Brno-Kohoutovice, República Tcheca) com aumento de 5000x.

11 *Análise estatística*

12 As médias e desvios-padrão de Lp% foram calculados e os dados obtidos
13 foram submetidos ao teste de Kolmogorov-Smirnov e Lèvene para verificar os
14 preceitos de normalidade de distribuição e homogeneidade de variância. ANOVA
15 a 3 critérios (material, tempo e condição experimental) com medidas repetidas e o
16 teste de Games-Howell foram realizados para as comparações múltiplas entre os
17 grupos. Todos os testes foram realizados com nível de significância de 5%. A
18 análise dos dados foi realizada com o programa SPSS 22.0 (SPSS Inc., Chicago,
19 IL, EUA).

Resultados

Uma vez que não foram detectadas diferenças significantes no fator "tempo" (5, 10 e 15 min), e não foram detectadas interações entre "tempo" e os outros dois fatores, a análise foi feita somente para os fatores "material" e "condições experimentais", agrupando os três tempos de avaliação. ANOVA detectou diferenças significantes para "material" e "condições experimentais", bem como interação significativa entre esses fatores ($p < 0,05$).

Tabela 2: Média e desvio padrão do percentual de permeabilidade dentinária (Lp%) nos diferentes momentos de avaliação.

Condições	Fluor Protector	Clinpro	Oxa-Gel	Nano-P
Lp min	5,67 $\pm$ 2,35 Aa	6,49 $\pm$ 4,47 Aa	7,33 $\pm$ 3,37 Aa	8,41 $\pm$ 4,81 Aa
Imediato	5,79 $\pm$ 2,50 Aa	5,55 $\pm$ 1,90 Aa	4,52 $\pm$ 2,28 Aa	13,17 $\pm$ 4,73 ABb
1º dia	6,14 $\pm$ 2,29 Aa	4,99 $\pm$ 3,39 Aa	9,68 $\pm$ 6,73 ABa	14,89 $\pm$ 6,90 Bb
4º dia	6,77 $\pm$ 2,42 Aa	4,22 $\pm$ 3,70 Aa	14,64 $\pm$ 7,53 Bb	15,57 $\pm$ 6,12 Bb
7º dia	6,41 $\pm$ 1,92 Aa	5,62 $\pm$ 5,82 Aa	15,30 $\pm$ 6,37 Bb	16,29 $\pm$ 7,62 Bb

Grupos conectados por letras distintas maiúsculas apresentam diferenças significantes na mesma coluna e os conectados por letras distintas minúsculas não apresentam diferenças significantes na mesma linha ($p > 0,05$).

Na avaliação da permeabilidade mínima (Lp min), com a presença de *Smear Layer*, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p > 0,05$). Imediatamente após a aplicação e após o primeiro dia de desafio erosivo/abrasivo, o dessensibilizante Nano-P apresentou permeabilidade significantemente maior do que os demais materiais ($p < 0,05$). Após 4 e 7 dias de ciclo, a médias de permeabilidade obtidas com o Fluor Protector e Clinpro se mostraram significantemente menores que as obtidas com Oxa-Gel e Nano-P ($p < 0,05$).

Os dessensibilizantes Fluor Protector e Clinpro mantiveram as médias de permeabilidade semelhantes à permeabilidade mínima em todas as condições em que foram avaliados ($p > 0,05$). Oxa-Gel não demonstrou diferenças na permeabilidade logo após a aplicação e após o primeiro dia quando comparado à permeabilidade mínima ($p > 0,05$). Houve um aumento significativo na

1 permeabilidade após o quarto e sétimo dias com relação ao período
2 imediatamente após a aplicação ($p<0,05$). A aplicação do Nano-P resultou em
3 permeabilidade semelhante à mínima ($p>0,05$). Porém, após o primeiro dia de
4 ciclo, houve um aumento significativo com relação à Lp mínima, que se manteve
5 até o sétimo dia ($p<0,05$).

6 A análise das superfícies dentinárias em MEV estão apresentadas nas
7 Figuras 3 a 7. Na Figura 3 estão apresentadas micrografias da superfície
8 dentinária coberta com *Smear Layer* e após a sua remoção e abertura dos
9 túbulos com EDTA. O verniz fluoretado Fluor Protector (Figura 4) resultou em
10 uma obliteração parcial dos túbulos dentinários após a aplicação, observando-se
11 uma camada não uniforme que, com o desafio erosivo/abrasivo, foi sendo
12 gradualmente removida da superfície dentinária. Na Figura 5 observa-se o
13 aspecto da dentina tratada com o verniz Clinpro XT varnish com total obliteração
14 dos túbulos dentinários e degradação gradual da matriz resinosa e
15 desprendimento das partículas de vidro a partir do 4º dia após o desafio
16 erosivo/abrasivo. O dessensibilizante Oxa-Gel (Figura 6) proporcionou somente
17 uma oclusão parcial dos túbulos com uma deposição de cristais de oxalato de
18 cálcio no seu interior, apresentando desmineralização da dentina intertubular
19 mais evidente a partir do 7º dia. A dentina tratada com o Desensibilize Nano-P
20 (Figura 7) demonstra túbulos ocluídos parcial e totalmente com partículas de
21 fosfato de cálcio que se tornam ausentes após a ação dos ciclos de erosão e
22 abrasão.

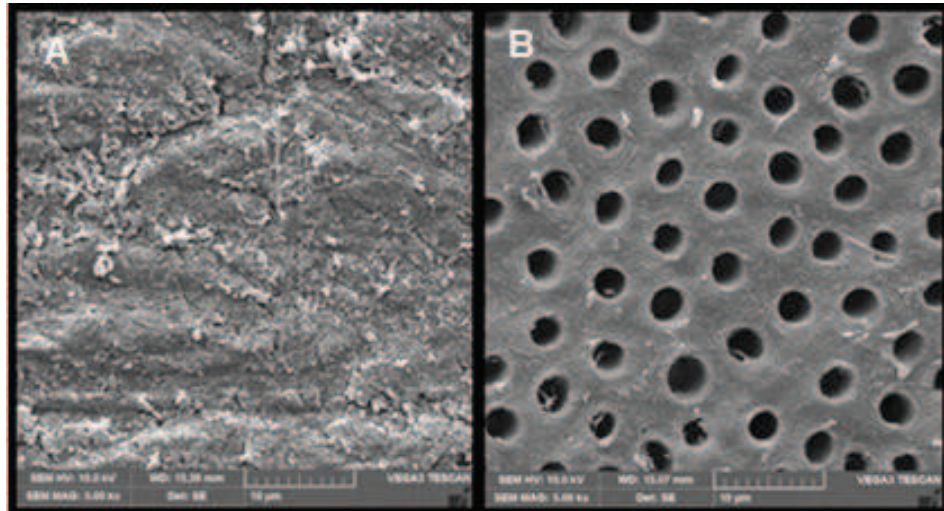


Figura 3: A) Fotomicrografia representativa da superfície de dentina com presença de *Smear Layer* obliterando os túbulos dentinários; B) Dentina tratada com EDTA mostrando total abertura dos túbulos dentinários (5000x).

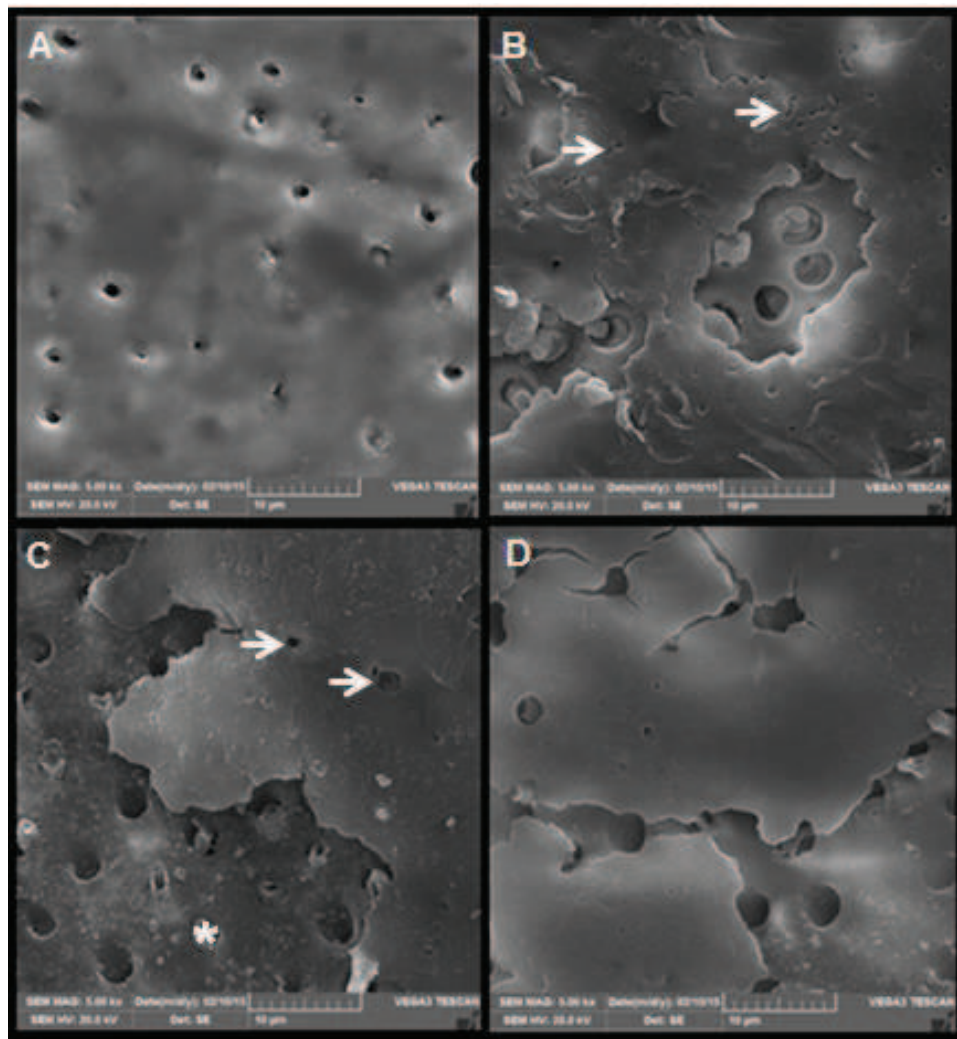
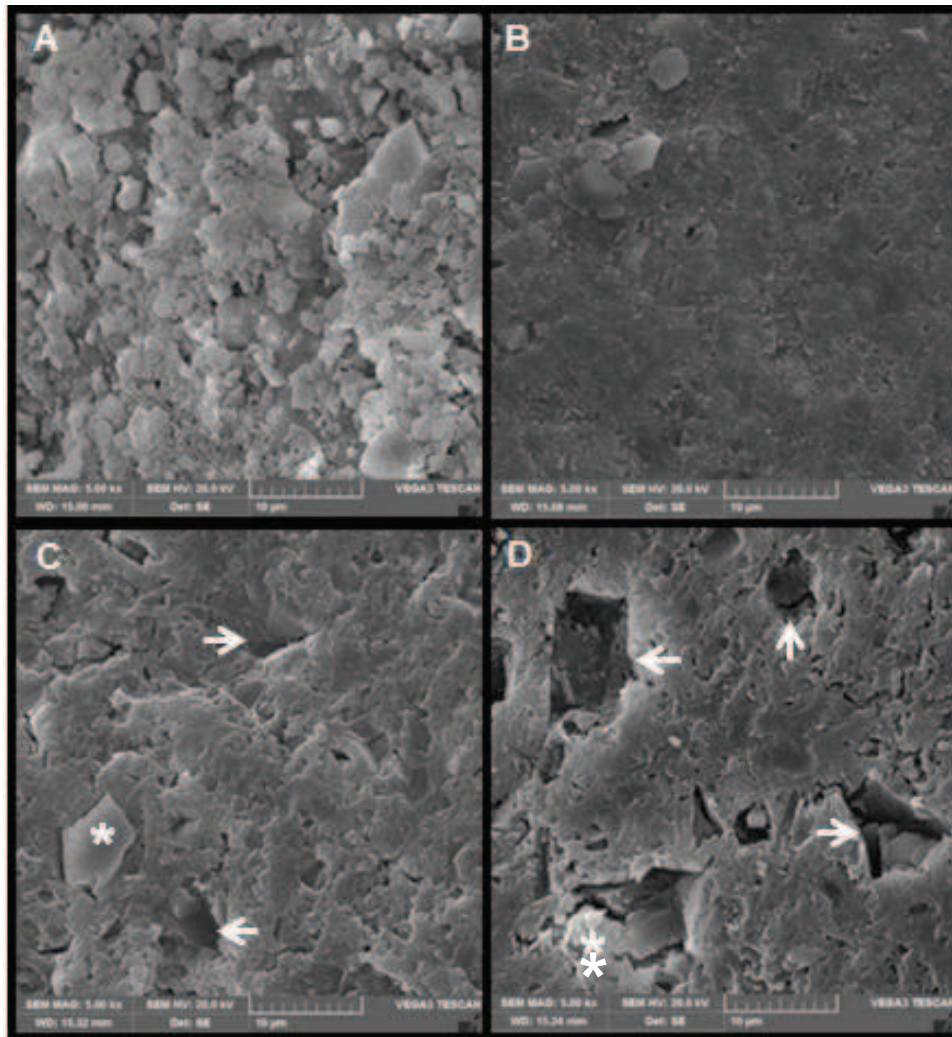
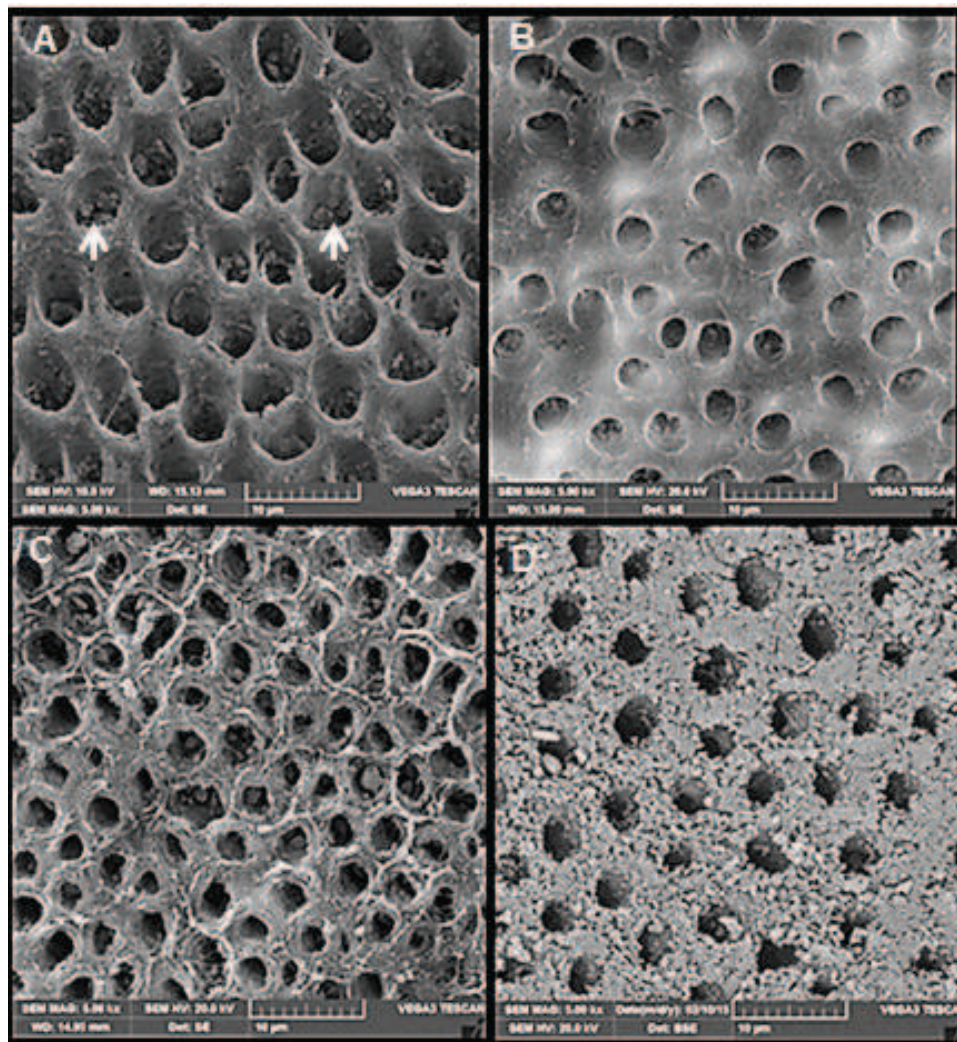


Figura 4: Fotomicrografia representativa da superfície de dentina tratada com Fluor Protector (5000x). A) Após aplicação do verniz observa-se uma camada não uniforme obliterando parcialmente os túbulos dentinários; B e C) 1º e 4º dias de ciclo erosivo/abrasivo: observa-se a presença de porosidades (setas) na camada de verniz e áreas de exposição tubular com deposição de cristais de fluoreto de cálcio (asterisco); D) 7º dia de ciclo erosivo/abrasivo: camada de verniz visivelmente desgastada e com rachaduras.



1
2 Figura 5: Fotomicrografia representativa da superfície de dentina tratada com
3 Clinpro XT Varnish (5000x). A) Após aplicação do verniz observam-se partículas
4 de vidro de fluoro-aluminosilicato; B) 1º dia de ciclo erosivo/abrasivo: observam-
5 se poucas partículas e a matriz resinosa exposta e planificada; C e D) 4º e 7º dias
6 de ciclo erosivo/abrasivo: partículas expostas (asterisco), presença de poros
7 correspondentes à remoção de partículas de carga (seta) e matriz resinosa
8 irregular.



1

2 Figura 6: Fotomicrografia representativa da superfície de dentina tratada com
 3 Oxa-Gel (5000x). A) Após aplicação do gel observam-se cristais de oxalato de
 4 cálcio depositados no interior dos túbulos dentinários (seta); B) 1º dia de ciclo
 5 erosivo/abrasivo: observam-se túbulos abertos e parcialmente obliterados por
 6 cristais; C e D) 4º e 7º dias de ciclo erosivo/abrasivo: dentina intertubular irregular
 7 devido ao efeito do ciclo de abrasão e erosão e túbulos dentinários abertos.

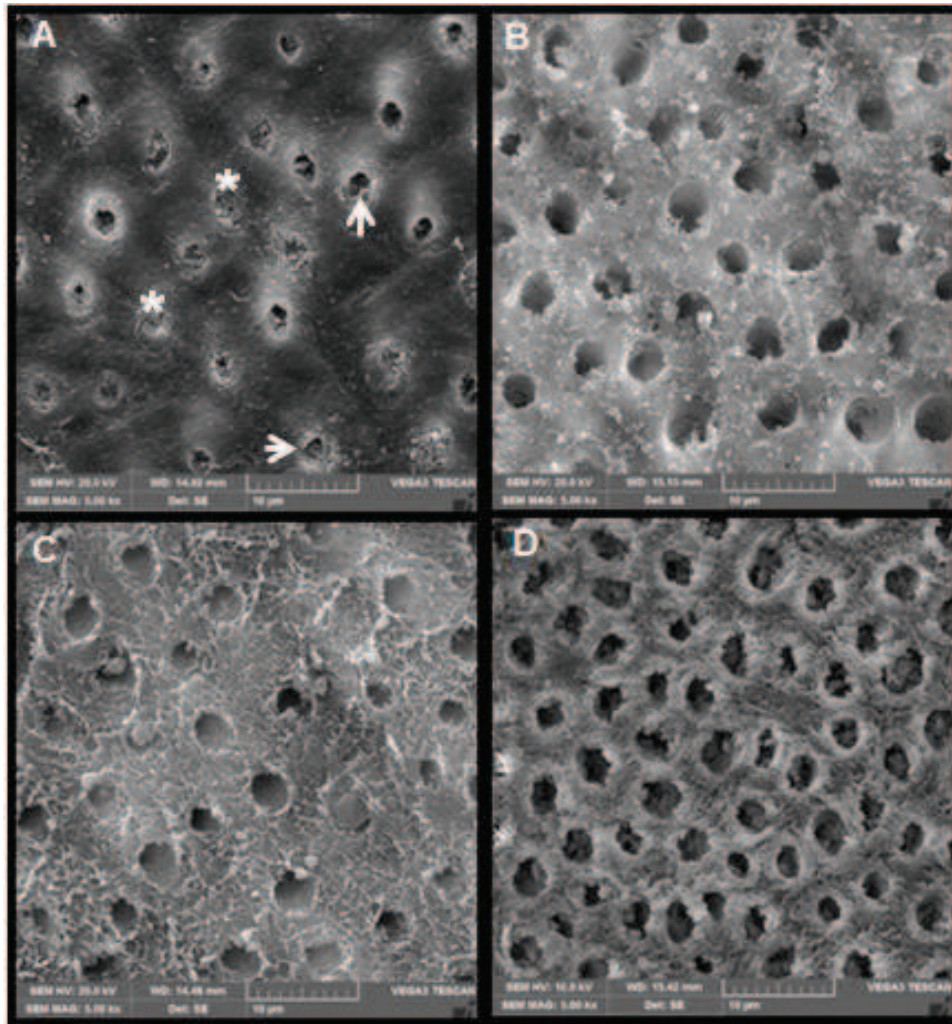


Figura 7: Fotomicrografia representativa da superfície de dentina tratada com Desensibilize Nano-P (5000x). A) Após aplicação da pasta observam-se túbulos dentinários ocluídos parcial (seta) e totalmente (asterisco) com partículas de fosfato de cálcio; B) 1º dia de ciclo erosivo/abrasivo: observam-se túbulos abertos e resíduos, provavelmente do dentífrico utilizado; C e D) 4º e 7º dias de ciclo erosivo/abrasivo: túbulos dentinários expostos com dentina intertubular irregular devido ao efeito do ciclo de abrasão e erosão.

Discussão

As hipóteses nulas formuladas para o estudo foram rejeitadas, uma vez que houve diferença entre os agentes de dessensibilização dentinária na permeabilidade da dentina tanto antes quanto após o desafio erosivo/abrasivo.

Os agentes dessensibilizantes Clinpro XT Varnish e Fluor Protector apresentaram resultados semelhantes de permeabilidade dentinária em todas as fases do estudo e semelhantes à manutenção da *Smear layer*. O Clinpro XT Varnish apresenta o copolímero do ácido polialcenóico, encontrado também nos cimentos de ionômero de vidro modificados por resina Vitrebond™ e Vitremer™, o que confere adesividade química à dentina por meio de ligações iônicas ao cálcio da hidroxiapatita, o componente mineral da dentina¹⁸. Além disso, o Clinpro apresenta o glicerofosfato de cálcio que promove a formação de cálcio e fosfato biodisponíveis na saliva¹⁹. No presente estudo, durante os intervalos do desafio erosivo/abrasivo as amostras permaneceram em saliva artificial o que, provavelmente, permitiu a liberação de cálcio e fosfato da saliva para a dentina após cada queda de pH promovida pela ação do ácido cítrico no ciclo erosivo.

Entre os estudos utilizando o Clinpro XT Varnish, alguns investigam a sua ação remineralizadora^{20,21} e outros, a sua ação como dessensibilizante^{9,19,22,23}. Em uma comparação *in vitro* do uso do verniz Clinpro com um sistema adesivo convencional (Single Bond Plus), ambos apresentaram habilidade de reduzir a permeabilidade dentinária e selar a dentina, com ou sem a presença de *smear layer*⁹. Estudos clínicos comparando Clinpro com um dessensibilizante a base de glutaraldeído constataram uma maior redução da hipersensibilidade, além de uma ação mais prolongada após 2²² e 4 semanas²³. No presente estudo, além da manutenção da permeabilidade mesmo após um desafio erosivo/abrasivo *in vitro*, a efetividade do Clinpro pôde ser comprovada pelas fotomicrografias realizadas, onde uma camada contínua é observada obliterando os túbulos dentinários e mantida com os ciclos de erosão/abrasão realizados ao longo de 7 dias, apesar da degradação superficial da camada com desprendimento de algumas partículas de carga.

O verniz Fluor Protector contém uma base de poliuretano que permite um contato íntimo com a superfície dentária após a evaporação do solvente e o flúor se encontra na forma de difluorsilano 1%, o que equivale a 1.000 ppm²⁴. O

1 mecanismo de ação dos vernizes fluoretados ocorre pela reação entre o NaF e
2 íons de cálcio, levando à formação de pequenos cristais de fluoreto de cálcio
3 (0,05 μm), que são depositados no interior dos túbulos dentinários abertos²⁵. Um
4 estudo recente²⁶ encontrou permeabilidade semelhante à mínima com um verniz
5 de fluoreto de sódio 5,42% antes e após desafio ácido, o que concorda com os
6 resultados do presente estudo. Um estudo clínico comparou a eficiência de um
7 verniz fluoretado com um gel de nitrato de potássio e encontrou maior redução
8 nos escores de sensibilidade e um efeito mais prolongado nos pacientes tratados
9 com o verniz²⁷. Outros estudos têm relatado efetividade clínica dos vernizes
10 fluoretados na redução da hipersensibilidade dentinária^{28,29} por um período de até
11 8 semanas³⁰.

12 A base de poliuretano encontrada no Fluor Protector apresenta a
13 vantagem de se aderir mais firmemente do que as bases de resina sintética
14 comumente encontradas em vernizes fluoretados³¹. Este fato pode ter sido
15 responsável pela baixa permeabilidade obtida pelo Fluor Protector no presente
16 estudo. Apesar de sua concentração de flúor ser muito menor do que a do verniz
17 fluoretado Duraphat, que tem 23.600 ppm, sua habilidade de se manter na
18 superfície dental foi comprovada em um estudo *in vitro* que simulou desafios
19 erosivos com vinho³¹. De fato, no presente estudo, uma camada de verniz foi
20 observada sobre a dentina obliterando os túbulos dentinários com manutenção
21 parcial após o desafio erosivo/abrasivo.

22 Ambos os agentes dessensibilizantes na forma de vernizes, apesar de
23 serem compostos por substâncias distintas, apresentaram um padrão de
24 obliteração semelhante que pode ser atribuído mais a base resinosa utilizada nos
25 compostos do que à disponibilidade de íons flúor para a redução da
26 permeabilidade dentinária. As fotomicrografias de ambos os materiais
27 demonstram que a matriz resinosa se mostrou resistente aos ciclos erosivos e
28 abrasivos. Um estudo prévio comprovou que os vernizes se mantêm por mais
29 tempo sobre a superfície dental do que as soluções e pastas²⁶.

30 Imediatamente após a aplicação, os dessensibilizantes avaliados não
31 apresentaram diferenças na permeabilidade dentinária, com exceção do
32 Desensibilize Nano-P. Na microscopia eletrônica de varredura pode-se notar que
33 este material, composto por fosfato de cálcio nanométrico organizado de forma

1 cristalina, resultou em um padrão de obliteração heterogêneo, uma vez que
2 podem ser observados túbulos abertos, parcialmente e totalmente obliterados por
3 precipitados. No primeiro dia de ciclo, a dentina tratada com Desensibilize Nano-
4 P apresentou maior permeabilidade do que os demais dessensibilizantes. Porém,
5 no quarto e no sétimo dias, houve uma semelhança na permeabilidade quando
6 comparada ao Oxa-Gel, com ambos apresentando na análise microscópica, uma
7 provável desmineralização da dentina intertubular devido à erosão ácida e uma
8 grande quantidade de túbulos abertos. Apesar do fabricante do Desensibilize
9 Nano-P afirmar que a forma de cristais de hidroxiapatita torna este material
10 altamente estável e mais resistente ao desafio ácido, no presente estudo foi
11 possível observar por meio de MEV a remoção de precipitados e ainda uma
12 desmineralização da dentina intertubular.

13 A literatura é ainda bastante escassa sobre o Desensibilize Nano-P. Até o
14 momento, os estudos publicados apresentam apenas o seu efeito remineralizante
15 no esmalte^{32,33}. O efeito oclusivo do fosfato de cálcio nanoestruturado não se
16 mostrou efetivo, ao contrário de outras formas avaliadas em outros estudos,
17 como o tetracálcio fosfato e o dicálciofosfato anidro, que demonstram boa
18 penetração nos túbulos dentinários¹⁴. Um estudo prévio demonstrou que um
19 dessensibilizante contendo fosfato de cálcio anidro reduziu significativamente a
20 permeabilidade dentinária mesmo após desafio ácido, apresentando ainda
21 depósitos de cristais ao longo da dentina e dos túbulos dentinários após um
22 período de 4 semanas³⁴.

23 O oxalato de potássio é considerado na literatura como um
24 dessensibilizante eficiente na redução da permeabilidade da dentina^{26,35-37}.
25 Estudos realizados para avaliar as características de oclusão dos túbulos
26 dentinários mostraram que o oxalato de potássio foi capaz de penetrar nos
27 túbulos dentinários e reagir com os íons de cálcio para formar cristais de oxalato
28 de cálcio^{36,38,39}. Porém, a estabilidade desses cristais ainda é controversa.
29 Enquanto alguns autores afirmam que os cristais de oxalato de cálcio são
30 insolúveis^{26,39,40}, outros afirmam que os cristais formados pela reação entre o
31 oxalato de potássio e a hidroxiapatita são dissolvidos com o tempo^{34,41}. As
32 micrografias no presente estudo demonstram um efeito oclusivo limitado do Oxa-
33 Gel após a sua aplicação e ausência de cristais de oxalato do primeiro ao sétimo

1 dias de ciclo erosivo/abrasivo. Estes resultados corroboram com os encontrados
2 por um estudo prévio³⁶, que constatou a dissolução dos cristais de oxalato de
3 cálcio e abertura dos túbulos após o desafio erosivo com ácido cítrico.

4 O desafio ácido mais comumente utilizado nos estudos *in vitro* se baseia
5 em uma única aplicação de ácido cítrico por um tempo que varia de 1 a 5 min<sup>26,34-
6 36,42</sup>. O desafio erosivo/abrasivo durante 7 dias utilizado no presente estudo teve
7 um efeito muito mais agressivo e clinicamente mais relevante, simulando um alto
8 consumo de bebidas ácidas associado à escovação dental regular 3 vezes ao
9 dia.

10 Os resultados de permeabilidade dentinária não devem ser diretamente
11 extrapolados para situações clínicas. O teste utiliza um aparato laboratorial que
12 se baseia na movimentação do fluido dentro de um capilar sob pressão simulada
13 próxima aquela da polpa e o resultado é obtido por meio de uma fórmula que
14 prediz a permeabilidade ou condutividade hidráulica da dentina dentro de uma
15 área pré-estabelecida. Outras limitações ainda envolvem a heterogeneidade dos
16 espécimes, uma vez que os dentes podem apresentar diferentes quantidades e
17 diâmetros de túbulos dentinários por área, além das alterações de pressão e
18 temperatura no ambiente em que o teste é realizado, que podem influenciar
19 diretamente os resultados. Desta forma, estudos clínicos randomizados devem
20 ser realizados para confirmar a eficácia de agentes dessensibilizantes sob
21 condições intra-orais fisiológicas e sujeitas a desafios mecânicos e químicos.

1 **Conclusão**

2 Todos os dessensibilizantes foram capazes de reduzir a permeabilidade
3 dentinária imediatamente após a aplicação. Porém, os vernizes Clinpro XT
4 Varnish e Fluor Protector mantiveram a permeabilidade dentinária semelhante à
5 mínima mesmo após sete dias de desafio erosivo/abrasivo.

ARTICLE IN ENGLISH

Title page

TITLE: Dentin permeability using different desensitizing agents and the effect of an erosion/abrasion challenge on the maintenance of tubule occlusion.

RUNNING TITLE: Dentin permeability of desensitizers under erosion/abrasion challenge.

AUTHORS:

Gabriela Damke Canali, DDS, MSD candidate

Graduate Program in Dentistry, School of Health and Biosciences,
Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, Paraná, Brazil.

R. Imaculada Conceição, 1155

80215-901 Curitiba - PR - Brazil

Evelise Machado Souza, DDS, MSD, PhD

Graduate Program in Dentistry, School of Health and Biosciences,
Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, Paraná, Brazil.

R. Imaculada Conceição, 1155

80215-901 Curitiba - PR - Brazil

E-mail Addresses: evelise.souza@pucpr.br

Abstract

The objective of this study was to evaluate the occlusive effect of desensitizing agents subjected to abrasive and erosive cycles by changes in dentin permeability (Lp). Dentin discs (1 mm thick) were obtained from 42 healthy human third molars. A standardized smear layer was produced in each specimen for the measurement of the minimum Lp, whereas the maximum Lp was measured after immersion in 0.5 M EDTA solution for 2 min. The specimens (n = 9) were treated with the following desensitizers: Fluor Protector (FP), Desensibilize Nano-P (NP), Clinpro XT Varnish (CV), and Oxa-Gel (OG). The Lp of each specimen was measured at 5, 10, and 15 minutes. The discs were subjected to an erosion/abrasion cycle for 7 days, where erosive action was achieved by immersing the discs in 0.5% citric acid solution (6 times/day), while the abrasive challenge was performed by a 5 sec toothbrushing after the first, third, and last erosive challenge. The specimens were stored in artificial saliva at 37°C during the intervals. Lp was measured on the first, fourth, and seventh days. The data was analyzed by three-way analysis of variance (ANOVA) with repeated measurements, and by a Games-Howell test ($\alpha=5\%$). The ANOVA detected significant differences for the factors “material” and “conditions”, as well as a significant interaction between both factors ($p < 0.05$). The Lp observed with FP and CV did not show any significant differences from immediately after application until the seventh day ($p<0.05$). OG showed a significant increase in Lp after the fourth and seventh days, compared to the minimum Lp and immediately after application ($p<0.05$). Immediately after the application and after the first day of challenge, NP resulted in a significantly higher permeability compared to that of the other materials ($p<0.05$). Only the varnish desensitizers showed dentin permeability comparable to the minimum value following the erosion/abrasion challenge cycles.

Keywords: dentin sensitivity, sodium fluoride, potassium oxalate, fluoride varnish, glass ionomer cement, calcium phosphate.

Clinical significance: The dentin hypersensitivity treatment with varnishes desensitizing agents was capable of maintaining their occlusive effect under erosive and abrasive challenge.

1 Introduction

2 The discomfort caused by dentin hypersensitivity is one of the most
3 common dental complaints. Epidemiological studies have demonstrated that the
4 prevalence of dentin hypersensitivity varies from 2.8% to 74% depending on the
5 population studied and the study design¹.

6 Dentin hypersensitivity occurs when the dentinal tubules are exposed to the
7 oral environment² as a result of enamel loss by abrasion, erosion, abfraction, or
8 any exposure of the root surface caused by gum recession or periodontal
9 treatments³. Hypersensitivity is characterized by an exaggerated response,
10 wherein the patient displays acute pain (variable intensity, short duration) in
11 response to stimuli, such as thermal, tactile, osmotic, or chemical changes, that
12 cannot be attributed to any other dental condition^{3,4}.

13 Several theories have been advanced to explain dentin hypersensitivity.
14 However, the hydrodynamic theory proposed by Brännström in the 1960s⁵
15 continues to be the most widely accepted theory. According to this theory, the
16 application of a stimulus to the exposed dentin leads to an increase in the
17 movement of fluid within the dentinal tubules. This causes a change in osmotic
18 pressure inside the pulp chamber, which triggers sensory cell activation, resulting
19 in the perception of short bursts of acute pain, which usually persists only as long
20 as the stimulus is applied or shortly after it is removed⁵.

21 Two treatment strategies have been proposed for dentin hypersensitivity
22 based on this theory: the first proposes the nerve blocking or modification of the
23 pulp response, while the second involves the occlusion of dentinal tubules with
24 consequent reduction in dentin permeability and movement of the intratubular
25 fluid^{1,6}.

26 Home-based or dental clinic products can be employed for the treatment of
27 dentin hypersensitivity by occlusion of dentinal tubules. Home-based products
28 include toothpaste and, to a lesser extent, gels and mouthwash solutions.
29 Professionally applied desensitizing agents include sealers, varnishes, gels,
30 pastes, or adhesive systems. These products generally contain fluorides,
31 oxalates, potassium nitrate and calcium phosphate, and are commonly employed
32 for this purpose⁷. The barriers formed may be subjected to removal or dissolution

1 between or shortly after applications, caused by the abrasive wear promoted by
2 toothbrushing or by an acidic diet⁸.

3 Some resin-contained desensitizers, such as resin modified glass ionomer
4 cements, act on the dentin structure by infiltrating the dentinal tubules, thereby
5 reducing the sensitivity of the exposed dentin⁹. Calcium phosphate-based
6 products are capable of occluding the tubules through the formation of an
7 amorphous mineral similar to apatite, which promotes a mechanical and
8 physicochemical reduction in dentin tubule diameter^{10,11}. The use of potassium
9 oxalate-based desensitizers causes neural depolarization, as well as occlusion of
10 the tubules, through the formation of oxalate calcium crystals¹². Fluoride-based
11 varnishes, when in contact with mineralized dental structures, chemically react
12 with the calcium and phosphate ions of dentin, leading to the precipitation of
13 calcium fluoride crystals at the mouth of dentinal tubules. However, the crystals
14 thus formed are known to be unstable, and therefore undergo rapid dissociation¹³.

15 Regardless of the selected treatment method, the biggest challenge lies in
16 achieving long-term effectiveness. Therefore, the behavior of the precipitates
17 formed by the application of these desensitizing agents, when exposed to the
18 varying conditions and pH of the oral environment, must be evaluated.

19 The objective of this study was to evaluate the occlusive effect of dentin
20 desensitizing agents when subjected to abrasive wear promoted by toothbrushing,
21 and their maintenance when subjected to an acid challenge, through changes in
22 dentin permeability. Additionally, changes in morphology and dentin
23 microstructure were visualized by scanning electron microscopy (SEM).

24 This study tested two null hypotheses: 1) there would be no difference in
25 dentin permeability when different desensitizing agents were applied, and 2) there
26 would be no difference in the permeability of dentin treated with these
27 desensitizing agents, before and after the erosion/abrasion challenge.

Materials and Methods

Specimen preparation

Thirty-six healthy human third molars were stored in 0.5% chloramine-T at 4°C for no more than six months after extraction (approved by Research Ethics Committee No. 632.162/2014). The teeth were sectioned perpendicularly at the long axis, using a diamond-cutting disc attached to a precision saw (Isomet 1000; Buehler Inc., Lake Bluff, IL, USA) at low speed (250 rpm) under constant irrigation. Disc-shaped specimens (1.0 ± 0.2 mm thick) were obtained from the middle portion of the crown of each tooth. The thickness of all discs was measured using a digital caliper (Model CD 6"CS; Mitutoyo Corp., Tokyo, Japan). The discs were cleaned in an ultrasonic distilled water bath for 10 minutes. The absence of enamel remnants and dental pulp exposure was evaluated using an optical microscope at 40× magnification (Olympus BX60; Olympus Corp., Tokyo, Japan).

Surface treatment

The minimum permeability (Min Lp) of each specimen was obtained by creating a standardized smear layer in the occlusal surface of the dentin disc using a 600-grit SiC sandpaper for 30 seconds. The maximum permeability (Max Lp) was obtained by immersion the dentin discs in 0.5 M EDTA solution for 2 minutes¹⁴ in ultrasonic bath (Metason 60T; Struers Inc., Ballerup, Denmark) in order to completely expose the dentinal tubules.

The specimens were randomly distributed into 4 groups containing 9 discs each, which were treated with different desensitizing agents as detailed in Table 1. The specimens were incubated in relative humidity for 45 minutes after the desensitizers' application, prior to the dentin permeability tests.

Dentin permeability test and calculations

Each disc was attached to a modified filtration system¹⁵ in order to simulate a 10 psi (703.1 cm H₂O) intrapulpal pressure. The dentin disc was attached to a PMMA plate (2 cm diameter; 0.5 cm thick) by a pair of rubber rings. The plate had a central hole (0.38 cm² area) for the diffusion of distilled water.

The permeability was measured based on the movement of an air bubble within a 25µL glass tube mounted over a millimeter scale. The fluid flowing through the dentin discs (filtration rate Q) was calculated for each specimen using the following formula:

$$Q = \frac{25\mu\text{L} \cdot (x)\text{mm}}{(y)\text{mm} \cdot (z)\text{min}}$$

Where, x is the distance traveled by the bubble in mm, y is the capillary length (130 mm) and z is the time in minutes.

The hydraulic conductivity of dentin, L_p ($\mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{cm H}_2\text{O}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$), was calculated using the following formula:

$$L_p = \frac{Q}{P \cdot A}$$

Where, Q is the obtained filtration rate ($\mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$), P the water pressure (703.1 cm H₂O), and A is the area of exposed dentin (0.38 cm²).

The permeability of each specimen was expressed as the percentage of fluid flow (% L_p) compared to the L_p max of the same specimen. The permeability of the dentin discs subjected to each treatment was measured at 5, 10, and 15 minutes under constant pressure.

Erosion/abrasion challenge

All specimens were subjected to an acid challenge cycle for 7 days in 0.5% citric acid solution (pH 2.5). The samples were immersed in the solution six times a day for 2 minutes under agitation in an ultrasonic device. Between immersion times, the specimens were stored in artificial saliva at 37°C. The specimens were abraded for 5 seconds after the first, third, and sixth immersion every day, using an electric toothbrush (Oral-B Pro-Health Power; The Procter & Gamble Company, Cincinnati, OH, USA) attached to a fixed mount under a 200g load^{16,17}. The discs remained in contact with a suspension made of toothpaste (Colgate Total 12; Colgate-Palmolive Company, Ontario, Canada) and distilled water for 2 minutes after brushing. The discs were then rinsed with distilled water in an ultrasound bath for 10 seconds and stored in artificial saliva at 37°C.

Dentin permeability was measured on the first, fourth, and seventh days, at 5, 10 and 15 min.

Table 1: Description of the groups and composition of desensitizing agents used in this study.

Group	Material	Composition	Application Mode * (classification)
FP	Fluor Protector, IVOCAR VIVADENT AG, Schaan, Liechtenstein	ethyl acetate, isoamyl propionate, polyurethane varnish, and difluoride silane	Varnish application with a microbrush.
CV	Clinpro XT Varnish, 3M ESPE, St Paul, MN, USA	Part A: glass particles of silanized fluoroaluminosilicate, HEMA, water, BIS-GMA, and silanized silica. Part B: copolymer of polyalkenoic acid, water, HEMA, and calcium glycerophosphate.	Mixing of the two pastes for 15 sec, application of the varnish in a thin layer, light- curing for 20 sec and surface cleaning with moistened pellet.
OG	Oxa-Gel, Kota Imports LTDA., São Paulo, SP, Brazil	Potassium oxalate monohydrate and carboxymethyl cellulose gel.	Active application of the gel with a microbrush for 2 min.
NP	Desensibilize Nano-P, FGM, Dental Products, Joinville, SC, Brazil	Nanometric calcium phosphate, sodium fluoride, and potassium nitrate.	Active application for 10 sec with felt disc at low speed; 5 min waiting and excess removal.

* Manufacturer-recommended protocol

Scanning Electron Microscopy (SEM)

Six healthy human molars were also prepared for morphological analysis of the dentin. Dentin discs were obtained and sectioned into 4 parts. Each part was

1 allocated to one of the dentin treatment stages, i.e., smear layer, opening of
2 tubules with EDTA, and application of the desensitizers at each evaluation time of
3 the abrasion/erosion cycle.

4 The specimens were fixed in 2.5% glutaraldehyde solution buffered with
5 0.1 M sodium phosphate (pH 7.4) at 4°C for 24 hours, rinsed in 0.2 M sodium
6 phosphate solution (pH 7.4) for one hour with three solution changes. The
7 specimens were dehydrated in successive baths of increasing concentrations of
8 ethanol (25%, 50%, 75%, 95%, and 100%). The critical point dryer was used for
9 final drying, where the samples were transferred to the device chamber and
10 covered with liquid carbon dioxide (CPD 030, Bal-Tec AG, Balzers, Liechtenstein).
11 The samples were covered with a gold/palladium alloy and observed in a
12 scanning electron microscope with a 5000x magnification (VEGA3 LMU, Tescan
13 Orsay Holding, Brno-Kohoutovice, Czech Republic).

14 15 *Statistical Analysis*

16 The means and standard deviations of %Lp were calculated. The data was
17 analyzed by Kolmogorov-Smirnov and Levene tests to determine the normality
18 distribution and homogeneity of variance precepts. Multiple comparisons between
19 the groups were analyzed by three-way ANOVA with repeated measurements,
20 and the Games-Howell test. All tests were performed at a significance level of 5%.
21 Data analysis was performed using the SPSS v.22.0 software platform (SPSS
22 Inc., Chicago, IL, USA).

Results

No significant differences were detected for the “time” variable, as well as significant interactions between “time” and the other two variables. Therefore, the analysis was conducted only for the “material” and “experimental conditions” factors, by grouping the three times of evaluation (5, 10, and 15 min). There were found significant differences between groups based on the material and experimental conditions used, as well as a significant interaction between these factors ($p < 0.05$).

Table 2: Mean and standard deviation of the dentin permeability percentage (%Lp) at different time points.

Conditions	Fluor Protector	Clinpro	Oxa-Gel	Nano-P
Min Lp	5.67 ± 2.35 Ba	6.49 ± 4.47 Ba	7.33 ± 3.37 Ba	8.41 ± 4.81 Ba
Immediate	5.79 ± 2.50 Ba	5.55 ± 1.90 Ba	4.52 ± 2.28 Ba	13.17 ± 4.73 BCb
1 st day	6.14 ± 2.29 Ba	4.99 ± 3.39 Ba	9.68 ± 6.73 BCa	14.89 ± 6.90 Cb
4 th day	6.77 ± 2.42 Ba	4.22 ± 3.70 Ba	14.64 ± 7.53 Cb	15.57 ± 6.12 Cb
7 th day	6.41 ± 1.92 Ba	5.62 ± 5.82 Ba	15.30 ± 6.37 Cb	16.29 ± 7.62 Cb

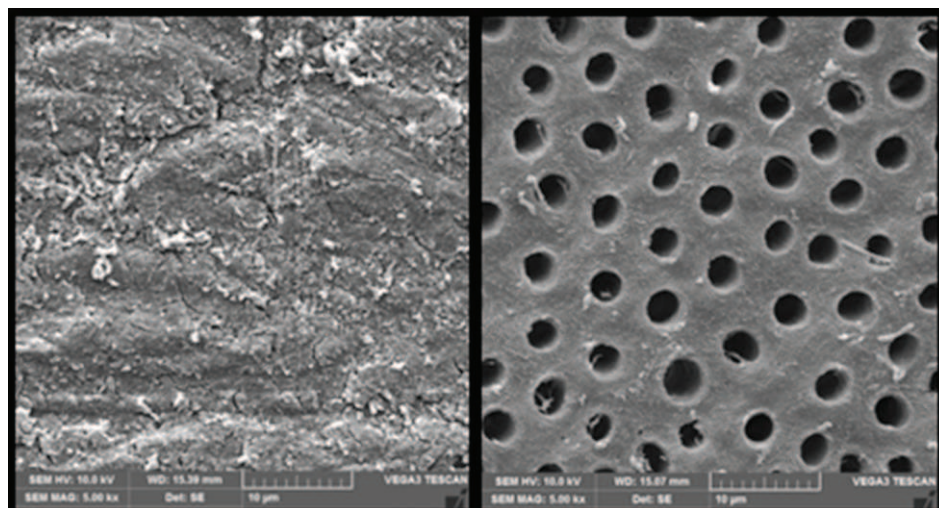
Groups connected by distinct upper case letters displayed significant differences in the same column, and those connected by different lower case letters did not show any significant differences in the same row ($p > 0.05$).

The assessment of the minimum permeability (Min Lp) with the presence of a smear layer revealed no statistically significant differences between the groups ($p > 0.05$). Immediately after the application and after the first day of challenge, Desensibilize Nano-P resulted in a significantly higher permeability compared to that of the other materials ($p < 0.05$). The mean permeability of Fluor Protector and Clinpro was significantly lower from that of Oxa-Gel and Nano-P ($p < 0.05$) after the 4th and 7th days of challenge.

The mean dentin permeability obtained with Fluor Protector and Clinpro desensitizers was similar to the minimum permeability, under all evaluated conditions ($p > 0.05$). Oxa-Gel showed no difference in permeability immediately after application and after the first day of cycle, compared to the minimum permeability ($p > 0.05$). In the other hand, there was a significant increase in

1 permeability with this material after the fourth and seventh days, compared to the
2 period immediate after application ($p<0.05$). The application of Nano-P resulted in
3 permeability similar to the minimum value ($p>0.05$). However, the permeability
4 increased significantly in relation to the minimum L_p after the first day of the
5 erosion/abrasion cycle, which was maintained up to the seventh day ($p<0.05$).

6 Figures 1 to 5 show the SEM micrographs of dentin surfaces. Figure 1a
7 shows the dentin surface covered with smear layer, and Figure 1b shows the
8 same surface after tubule opening with EDTA. The Fluor Protector fluoride varnish
9 (Figure 2) resulted in a partial obliteration of dentinal tubules after application, and
10 showed an uneven layer that was gradually removed from the dentin surface after
11 the erosion/abrasion challenge. Figure 3 demonstrates the appearance of dentin
12 treated with the Clinpro XT Varnish, with total obliteration of the dentinal tubules,
13 gradual degradation of the resin matrix, and detachment of glass particles four
14 days after the erosion/abrasion challenge. The Oxa-Gel desensitizer (Figure 4)
15 provided only a partial occlusion of the tubules with the presence of calcium
16 oxalate crystals within, and evidences of demineralization of the intertubular
17 dentin from the first to the seventh day. The dentin treated with Desensibilize
18 Nano-P (Figure 5) showed partially- and totally-occluded tubules with calcium
19 phosphate particles that disappeared after the erosion/abrasion cycles.



21
22 Figure 1: A) Representative photomicrograph of the dentin surface with the
23 presence of a smear layer obliterating dentinal tubules. B) Dentin treated with
24 EDTA showing full opening of the dentinal tubules.

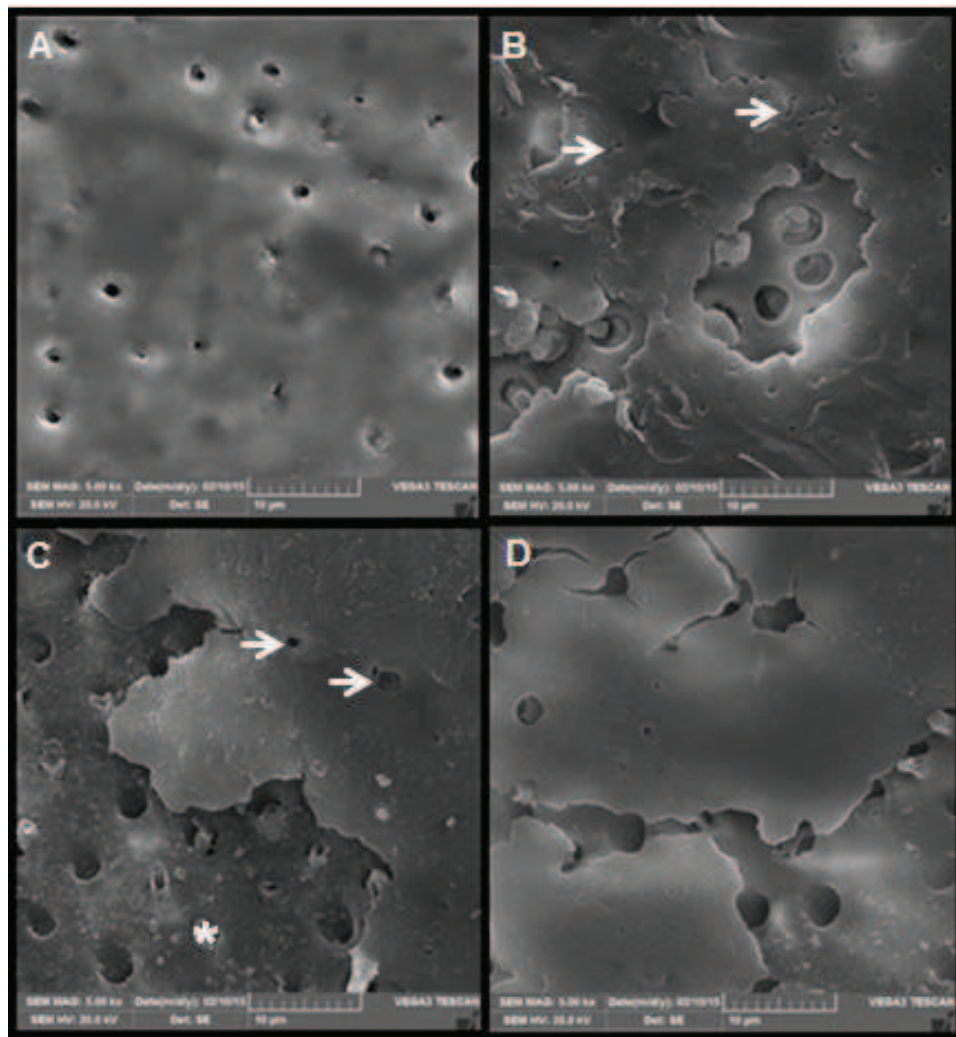


Figure 2: Representative photomicrographs of the dentin surface treated with Fluor Protector. A) After the application of the varnish, an uneven layer is observed partially obliterating the dentinal tubules. B) and C) First and fourth days of the erosion/abrasion cycle: the presence of pores (arrows) is observed in the varnish layer and tubular exposure areas, with the deposition of calcium fluoride crystals (asterisk). D) Seventh day of the erosion/abrasion cycle, showing a visibly worn varnish layer with cracks.

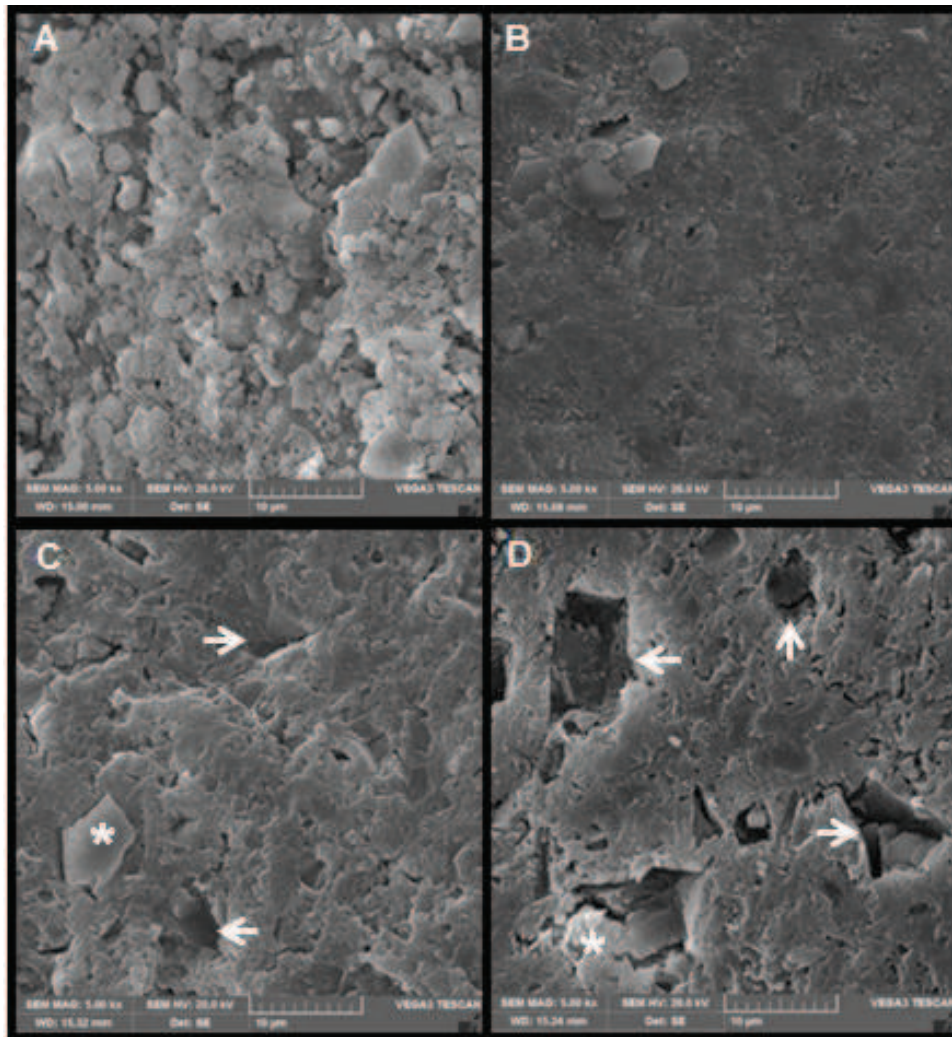


Figure 3: Representative photomicrographs of the dentin surface treated with Clinpro XT Varnish. A) Fluoroaluminosilicate glass particles observed after the application of the varnish. B) First day of the erosion/abrasion cycle, where few particles are observed with the exposed and flattened resin matrix. C) and D) Exposed particles (asterisk), pores corresponding to the removal of load particles (arrow), and an irregular resin matrix observed on the fourth and seventh days of the challenge.

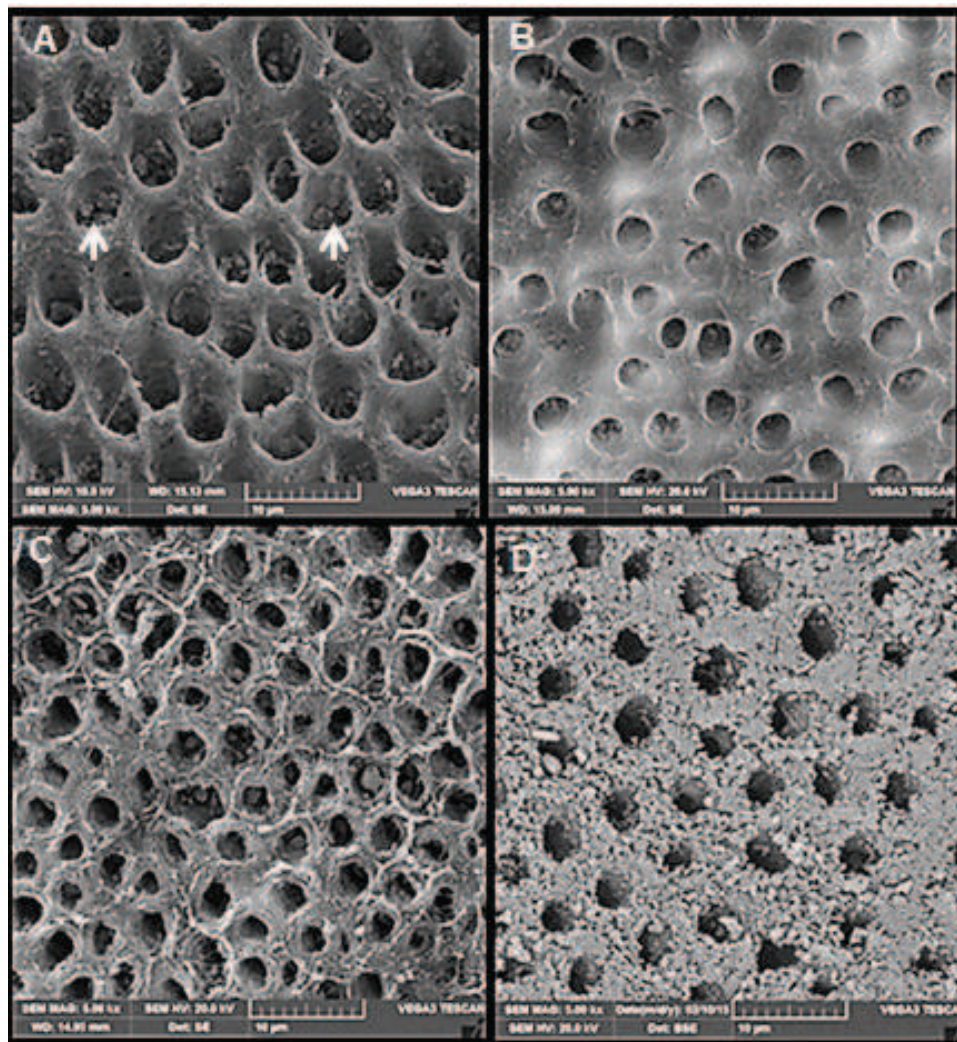


Figure 4: Representative photomicrograph of the dentin surface treated with Oxa-Gel. A) Calcium oxalate crystals were observed within the dentinal tubules (arrow) after application of the gel. B) Open and partially obliterated tubules observed on the first day of the erosion/abrasion cycle. C) and D) Open dentinal tubules and irregular intertubular dentin observed on the fourth and seventh days of the erosion/abrasion challenge.

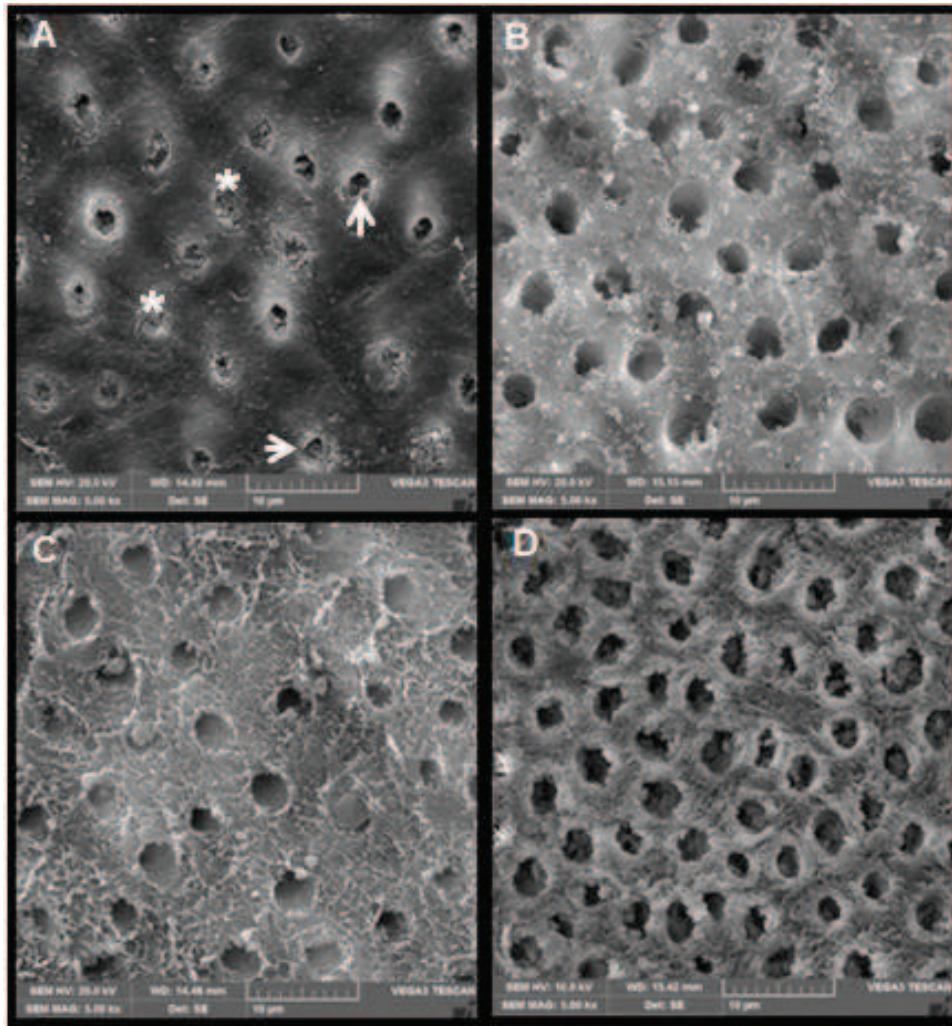


Figure 5: Representative photomicrographs of the dentin surface treated with Desensibilize Nano-P. A) Dentinal tubules partially (arrow) and fully (asterisk) occluded by calcium phosphate particles observed after the application of the paste. B) Open tubules and residue (probably from the toothpaste) observed on the first day of the erosion/abrasion cycle. C) and D) Exposed dentinal tubules with irregular intertubular dentin observed on the fourth and seventh days probably because of the effect of the erosive and abrasive cycles.

Discussion

The tested null hypotheses were rejected, because of the observed difference in dentin permeability affected by the different dentin-desensitizing agents before and after the erosion/abrasion challenge.

The Clinpro XT Varnish and Fluor Protector desensitizing agents showed similar dentin permeability rates during all phases of the study and similar to the dentin permeability obtained with the presence of a smear layer. The Clinpro XT Varnish is composed of polyalkenoic acid copolymer, also found in the resin modified glass ionomer cements Vitrebond™ and Vitremer™, which provides chemical adhesion to dentin by ionic bonding with the hydroxyapatite calcium, the prevalent mineral component of dentin¹⁸. Furthermore, Clinpro XT Varnish contains calcium glycerophosphate, which allows the increase of bioavailable calcium and phosphate in saliva¹⁹. In this study, the samples were maintained in artificial saliva during the intervals of the erosion/abrasion challenge, which might have allowed the release of calcium and phosphate from the saliva to the dentin after each pH drop promoted by the citric acid action in the erosion cycle.

Some of the studies evaluating the Clinpro XT Varnish have investigated its remineralization activity^{20,21}, while others have focused on its desensitizing activity^{9,19,22,23}. An *in vitro* comparison between the use of the Clinpro and a conventional adhesive system (Single Bond Plus) revealed that both reduced dentin permeability and sealed dentin, with or without the presence of a smear layer⁹. Clinical trials comparing Clinpro to a glutaraldehyde-based desensitizer observed a greater reduction in hypersensitivity and a more prolonged action after 2 weeks²² and 4 weeks²³. In this study, in addition to the maintenance of dentin permeability even after an erosion/abrasion challenge *in vitro*, the effectiveness of Clinpro was proven by the SEM photomicrographs, which displayed a continuous layer obliterating the dentinal tubules over the duration of the cycles (seven days), despite the mild surface layer deterioration caused by the detachment of some load particles.

The Fluor Protector varnish contains a polyurethane base that allows an intimate contact with the tooth surface after evaporation of the solvent. In addition, this varnish contains 1% silane fluoride, equivalent to 1,000 ppm²⁴. The action of a fluoride varnish is based on the reaction between NaF and calcium ions resulting

1 in the formation of small calcium fluoride crystals (0.05 μm), which are deposited
2 in the open dentinal tubules²⁵. A recent study²⁶ observed that a 5.24% sodium
3 fluoride varnish imparted similar permeability to the minimum value before and
4 after acid challenge, which is in line with the results of the present study. A clinical
5 trial comparing the efficacy of a fluoride varnish with that of a potassium nitrate gel
6 found a greater reduction in sensitivity and a more prolonged effect in patients
7 treated with the varnish²⁷. Other studies have reported the clinical efficacy of
8 fluoride varnish in reducing dentinal hypersensitivity^{28,29} for up to 8 weeks³⁰.

9 The polyurethane base of Fluor Protector has the advantage of a more
10 efficient adhesion, compared to the synthetic resin base commonly seen in
11 fluoride varnishes³¹. This may have been responsible for the low permeability of
12 Fluor Protector observed in this study. Despite a much lower fluoride
13 concentration compared to that of the Duraphat fluoride varnish (23,600 ppm), an
14 *in vitro* study³¹ simulating an erosive challenge using wine proved the ability of
15 Fluor Protector to remain on the dentin surface. Indeed, SEM in the present study
16 showed a layer of varnish on the dentin surface, obliterating the dentinal tubules
17 with partial maintenance after the erosion/abrasion challenge.

18 Both desensitizing varnishes, despite being composed of different
19 substances, showed a similar obliteration pattern, which could be attributed more
20 to the presence of resin compounds in the base, than the fluoride ion availability
21 for the reduction of dentin permeability. Photomicrographs of the two materials
22 showed the resistance of the resin matrix to the erosive and abrasive cycles. A
23 previous study has demonstrated that varnish remains longer on the tooth surface
24 compared to solutions and pastes²⁴.

25 Immediately after application, the evaluated desensitizing agents showed
26 no differences in dentin permeability, except Desensibilize Nano-P that
27 demonstrated higher rates. SEM revealed that this material, which consists of
28 nanometric calcium phosphate organized in a crystalline form, resulted in a
29 heterogeneous pattern of obliteration, based on the visualization of open tubules,
30 partially and fully obliterated by precipitates. The dentin treated with Desensibilize
31 Nano-P showed a higher permeability on the first day of the erosive and abrasive
32 cycle compared to the other desensitizing agents. However, Desensibilize Nano-P
33 showed similarities in dentin permeability to Oxa-Gel on the fourth and seventh

1 days, with the microscopic analysis of both agents showing intertubular dentin
2 demineralization (probably caused by acid erosion) and a large number of open
3 tubules. Despite the manufacturer's suggestions that Desensibilize Nano-P
4 imparts greater stability and resistance to the acid challenge because of the
5 crystalline form of its mineral content, SEM in the present study revealed that
6 precipitates were scarce and that the acid and abrasive cycles led to a
7 demineralization of the intertubular dentin.

8 The comprehensive efficacy of Desensibilize Nano-P as a desensitizing
9 agent remains to be elucidated. The studies published so far have only
10 established its remineralizing effect on the enamel^{32,33}. The tubule occlusion effect
11 of the nanostructured calcium phosphate was not effective, compared to other
12 forms of calcium phosphate evaluated in other studies, such as tetracalcium
13 phosphate and anhydrous dicalcium phosphate, which show good dentinal tubule
14 penetration¹⁴. A previous study has demonstrated that a desensitizer containing
15 anhydrous calcium phosphate caused a significant reduction in dentin
16 permeability even after an acid challenge, and also demonstrated crystal
17 precipitation along the dentin and dentinal tubules after a period of 4 weeks³⁴.

18 Potassium oxalate is considered to be an effective desensitizing agent for
19 the reduction of dentin permeability^{14,26,35–37}. Studies evaluating the occlusion
20 characteristics of dentinal tubules have demonstrated the penetration of
21 potassium oxalate into the dentinal tubules, and subsequent reaction with calcium
22 ions to form calcium oxalate crystals^{36,38,39}. However, the stability of these crystals
23 remains controversial. While some authors assert calcium oxalate crystals to be
24 insoluble^{26,39,40}, others claim that the crystals formed as a result of the reaction
25 between potassium oxalate and hydroxyapatite are dissolved over time^{34,41}. The
26 micrographs in this study demonstrate the limited occlusive effect of Oxa-Gel after
27 application, and the absence of oxalate crystals from the first through the seventh
28 day of the erosion/abrasion cycle. These results corroborate the results of a
29 previous study³⁶, which confirmed the dissolution of calcium oxalate crystals and
30 open tubules after erosive challenge with citric acid.

31 The most common acid challenge used in *in vitro* studies is based on a
32 single application of citric acid for 1 to 5 minutes^{26,34–36,42}. The 7-day
33 erosion/abrasion challenge performed in this study showed a more aggressive

1 and clinically relevant effect, simulating the high consumption of acidic beverages
2 (6 times a day) combined with regular brushing of the teeth thrice a day.

3 The results of the dentin permeability test should not be directly
4 extrapolated for clinical situations. This test utilizes a laboratory apparatus, which
5 is based on the movement of fluid within a simulated capillary tube under pressure
6 (similar to that on the pulp). In addition, the results of this test are obtained using a
7 formula, which predicts the hydraulic conductivity or dentin permeability within a
8 pre-established area. More limitations of this study include specimen
9 heterogeneity (as teeth can have different dentinal tubule quantities and
10 diameters per area), and pressure and temperature changes in the testing
11 environment, which can directly influence the results. Therefore, randomized
12 clinical trials are the best way to verify the efficacy of desensitizing agents under
13 physiological intraoral conditions, when subjected to mechanical and chemical
14 challenges.

1 **Conclusions**

2 All the desensitizers reduced dentin permeability immediately after
3 application. However, only the evaluated varnishes Clinpro XT Varnish and Fluor
4 Protector were able to maintain it even after 7 days of erosion/abrasion challenge.

References

1. Lin PY, Cheng YW, Chu CY, Chien KL, Lin CP & Tu YK (2013) In-office treatment for dentin hypersensitivity: a systematic review and network meta-analysis. *Journal of Clinical Periodontology* **40(1)** 53-64.
2. Al-Sabbagh M, Brown A & Thomas MV (2009) In-office treatment of dentinal hypersensitivity *Dental Clinics North America* **53(1)** 47-60.
3. Bissada NF (1994) Symptomatology and clinical features of hypersensitive teeth *Archives Oral Biology* (**Supplement 39**) S31-S32.
4. Bartold PM (2006) Dentinal hypersensitivity: a review *Australian Dental Journal* **51(3)** 212-218.
5. Brännström M. (1966) Sensitivity of dentin *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology* **21(4)** 517-526.
6. Akca T, Yazici AR, Çelik Ç, Özgünaltay G & Dayangaç B (2007) The effect of desensitizing treatments on the bond strength of resin composite to dentin mediated by a self-etching primer *Operative Dentistry* **32(5)** 451-456.
7. Arisu HD, Dalkihç E & Üçtaşlı MB (2011) Effect of desensitizing agents on the microtensile bond strength of a two-step self-etch adhesive to dentin *Operative Dentistry* **36(2)** 153-161.
8. Petersson LG (2013) The role of fluoride in the preventive management of dentin hypersensitivity and root caries *Clinical Oral Investigations* (**Supplement 1**) S63-S71.
9. Rusin RP, Agee K, Suchko M & Pashley DH (2010) Effect of a new desensitizing material on human dentin permeability *Dental Materials* **26(6)** 600-607.
10. Dolci G, Mongiorgi R, Prati C & Valdrè G (1999) Calcium phosphates produced by physical methods in the treatment of dentin hypersensitivity *Minerva Stomatologica* **48(10)** 463-476.
11. Suge T, Ishikawa K, Kawasaki A, Suzuki K, Matsuo T, Noiri Y, Imazato S & Ebisu S (2002) Calcium phosphate precipitation method for the treatment of dentin hypersensitivity *American Journal of Dentistry* **15(4)** 220-226.

12. Aranha AC, Pimenta LA & Marchi GM (2009) Clinical evaluation of desensitizing treatments for cervical dentin hypersensitivity *Brazilian Oral Research* **23(3)** 333-339.
13. Sieck B, Takagi S & Chow LC (1990) Assessment of loosely-bound and firmly- bound fluoride uptake by tooth enamel from topically applied fluoride treatments *Journal of Dental Research* **69(6)** 1261-1265.
14. Thanatvarakorn O, Nakashima S, Sadr A, Prasansuttiporn T, Thitthaweerat S & Tagami J (2013) Effect of a calcium-phosphate based desensitizer on dentin surface characteristics *Dental Materials Journal* **32(4)** 615-621.
15. Pashley DH & Galloway SE (1985) The effects of oxalate treatment on the smear layer of ground surfaces of human dentine *Archives of Oral Biology* **30(10)** 731-737.
16. Bazzi JZ, Bindo MJ, Rached RN, Mazur RF, Vieira S & Souza EM (2012) The effect of at-home bleaching and toothbrushing on removal of coffee and cigarette smoke stains and color stability of enamel *Journal of the American Dental Association* **143(5)** e1-7.
17. Wang L, Garcia FC, Amarante de Araújo P, Franco EB & Mondelli RF (2004) Wear resistance of packable resin composites after simulated toothbrushing test *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry* **16(5)** 303-314.
18. Mitra SB, Lee CY, Bui HT, Tantbirojn D & Rusin RP (2009) Long-term adhesion and mechanism of bonding of a paste-liquid resin-modified glass-ionomer *Dental Materials* **25(4)** 459-466.
19. Lynch RJ & ten Cate JM (2006) Effect of calcium glycerophosphate on demineralization in an in vitro biofilm model *Caries Research* **40(2)** 142-147.
20. Sohn S, Yi K, Son HH & Chang J (2012) Caries-preventive activity of fluoride-containing resin-based desensitizers *Operative Dentistry* **37(3)** 306-315.
21. Zhou SL, Zhou J, Watanabe S, Watanabe K, Wen LY & Xuan K (2012) In vitro study of the effects of fluoride-releasing dental materials on

- remineralization in an enamel erosion model *Journal of Dentistry* **40(3)** 255-263.
22. Bhandary S & Hegde MN (2012) A clinical comparison of in-office management of dentin hypersensitivity in a short term treatment period *International Journal of Biomedical and Advance Research* **3(3)** 169-174.
23. Ding YJ, Yao H, Wang GH & Song H (2014) A randomized double-blind placebo-controlled study of the efficacy of Clinpro XT varnish and Gluma dentin desensitizer on dentin hypersensitivity *American Journal of Dentistry* **27(2)** 79-83.
24. Beltrán-Aguilar ED, Goldstein JW & Lockwood SA (2000) Fluoride varnishes. A review of their clinical use, cariostatic mechanism, efficacy and safety *Journal of the American Dental Association* **131(5)** 589-596.
25. Pesevska S, Nakova M, Ivanovski K, Angelov N, Kesic L, Obradovic R, Mindova S & Nares S (2010) Dentinal hypersensitivity following scaling and root planing: comparison of low-level laser and topical fluoride treatment *Lasers in Medical Science* **25(5)** 647-650.
26. Calabria M, Porfirio R, Fernandes S, Wang L, Buzalaf M, Pereira J & Magalhães A (2014) Comparative in vitro effect of TiF₄ to NaF and potassium oxalate on reduction of dentin hydraulic conductance *Operative Dentistry* **39(4)** 427-432.
27. Pandit N, Gupta R & Bansal A (2012) Comparative evaluation of two commercially available desensitizing agents for the treatment of dentinal hypersensitivity *Indian Journal of Dental Research* **23(6)** 778-783.
28. Merika K, HeftitArthur F & Preshaw PM (2006) Comparison of two topical treatments for dentine sensitivity *The European Journal of Prosthodontics and Restorative Dentistry* **14(1)** 38-41.
29. Ritter AV, de L Dias W, Miguez P, Caplan DJ & Swift EJ Jr (2006) Treating cervical dentin hypersensitivity with fluoride varnish: a randomized clinical study *Journal of the American Dental Association* **137(7)** 1013-1020.
30. Hoang-Dao BT, Hoang-Tu H, Tran-Thi NN, Koubi G, Camps J & About I (2009) Clinical efficiency of a natural resin fluoride varnish (Shellac F) in reducing dentin hypersensitivity *Journal of Oral Rehabilitation* **36(2)** 124-131.

31. Mok TB, McIntyre J & Hunt D (2001) Dental erosion: in vitro model of wine assessor's erosion *Australian Dental Journal* **46(4)** 263-268.
32. Da Costa Soares MU, Araújo NC, Borges BC, Sales Wda S & Sobral AP (2013) Impact of remineralizing agents on enamel microhardness recovery after in-office tooth bleaching therapies *Acta Odontologica Scandinavica* **71(2)** 343-348.
33. Medeiros IC, Brasil VL, Carlo HL, Santos RL, De Lima BA & De Carvalho FG (2014) In vitro effect of calcium nanophosphate and high-concentrated fluoride agents on enamel erosion: an AFM study *International Journal of Paediatric Dentistry* **24(3)** 168-174
34. Thanatvarakorn O, Nakashima S, Sadr A, Prasansuttioporn T, Ikeda M & Tagami J (2013) In vitro evaluation of dentinal hydraulic conductance and tubule sealing by a novel calcium-phosphate desensitizer *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* **101B(2)** 303-309.
35. Santiago SL, Pereira JC & Martineli AC (2006) Effect of commercially available and experimental potassium oxalate-based dentin desensitizing agents in dentin permeability: influence of time and filtration system *Brazilian Dental Journal* **17(4)** 300-305.
36. Pereira JC, Segala AD & Gillam DG (2005) Effect of desensitizing agents on the hydraulic conductance of human dentin subjected to different surface pre-treatments-an in vitro study *Dental Materials Journal* **21(2)** 129-138.
37. Oberg C, Pochapski MT, Farago PV, Granado CJ, Pilatti GL & Santos FA (2009) Evaluation of desensitizing agents on dentin permeability and dentinal tubule occlusion: an in vitro study *General Dentistry* **57(5)** 496-501.
38. Orchardson R & Gillam DG (2006) Managing dentin hypersensitivity *Journal of the American Dental Association* **137(7)** 990-998.
39. Sales-Peres SH, Reinato JV, Sales-Peres AC & Marsicano JA (2011) Effect of iron gel on dentin permeability *Brazilian Dental Journal* **22(3)** 198-202.

40. De Andrade e Silva SM, Marquezini L Jr, Manso AP, Garcia FP, Carrilho MR, Pashley DH, Tay FR & Carvalho RM (2007) Effects of a combined application of potassium oxalate gel/adhesive agent on dentin permeability in vitro *The Journal of Adhesive Dentistry* **9(6)** 505-512.
41. Pashley DH, Carvalho RM, Pereira JC, Villanueva R & Tay FR (2001) The use of oxalate to reduce dentin permeability under adhesive restorations *American Journal of Dentistry* **14(2)** 89-94.
42. Sales-Peres SH, Carvalho FN, Marsicano JA, Mattos MC, Pereira JC, Forim MR & Silva MF (2011) Effect of propolis gel on the in vitro reduction of dentin permeability *Journal of Applied Oral Science* **19(4)** 318-323.

ANEXOS

Parecer de comitê de ética



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE
CATÓLICA DO PARANÁ - PUC/
PR



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação da condutividade dentinária utilizando agentes dessensibilizantes sob desafio erosivo/abrasivo em diferentes cortes dentinários

Pesquisador: Evelise Machado de Souza

Área Temática:

Versão:

CAAE: 30567414.7.0000.0100

Instituição Proponente: Pontifícia Universidade Católica do Paraná

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 636.162

Data da Relatoria: 30/04/2014

Apresentação do Projeto:

Oitenta terceiros molares humanos hígidos serão utilizados neste estudo. Todos os dentes serão obtidos a partir do Banco de Dentes da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, após a aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa. Quarenta espécimes serão seccionados perpendicularmente ao longo eixo da raiz e outros 40 serão seccionados no sentido longitudinal da raiz expondo a dentina cervical para obtenção de discos de 1,0mm de espessura. Cada disco será conectado a um dispositivo para simular a pressão intrapulpar de 703.1 cmH₂O (10 Psi) . A difusão de fluido através do disco dentinário será medida por meio de um sistema de filtração. A permeabilidade de cada espécime será expressa como a porcentagem (Lp%) de fluxo de fluido máximo (Lpmáx) obtido com a abertura total dos túbulos dentinários utilizando EDTA 0,5M por 2 minutos. Os espécimes serão então distribuídos aleatoriamente em 4 grupos contendo 5 discos cada para cada tipo de corte. Os espécimes serão tratados com diferentes agentes dessensibilizantes: Fluor Protector, Desensibilize Nano-P, Climpro Varnish XT e Oxa-Gel. Todos os espécimes serão submetidos a um ciclo de desafio ácido durante 10 dias em uma solução de ácido cítrico 0,5% com pH de 2.5, seis vezes

Ballerup, Dinamarca). Entre os tempos de imersão, os espécimes serão armazenados em saliva artificial a 37°C. Após a primeira, a terceira e a última

Endereço: Rua Imaculada Conceição - 1155 - 3º andar
Bairro: Prédio Ad. Prado Velho **CEP:** 80.215-901
UF: PR **Município:** CURITIBA
Telefone: (41)3271-2292 **Fax:** (41)3271-1387 **E-mail:** nep@pucpr.br

desmineralização do dia, os espécimes serão submetidos à escovação por 5 segundos, utilizando uma escova elétrica acoplada a um suporte fixo (com carga de 200g) e colocados em uma solução de creme dental e água destilada por 2 minutos. Em seguida, os espécimes serão lavados em água destilada por 10 segundos, e então armazenados em saliva artificial a 37°C. A capacidade de condutibilidade hidráulica da dentina será mensurada no 1º, 4º, 7º e 10º dia, imediatamente e nos tempos de 5, 10 e 15 minutos. As médias ($\pm$ DP) serão calculadas a partir das 3 medidas feitas nos tempos (5, 10 e 15 minutos) obtidas em cada condição e os valores de condutibilidade serão expressos como a porcentagem de redução a partir do valor de permeabilidade máxima (Lp%). Cinco espécimes de cada grupo para cada corte serão submetidos à análise em MEV e EDX em todas as fases do estudo (antes e após o tratamento, no 1º, 4º, 7º e 10º dias de ciclo). Para a visualização dos diâmetros dos túbulos dentinários, antes e após os tratamentos e após o ciclo de desafio ácido e escovação, fotomicrografias serão obtidas sob microscopia eletrônica de varredura e a análise quantitativa dos elementos Ca e P na superfície de dentina usando um espectroscópio de energia dispersiva (EDX). As médias e desvios-padrão de Lp% serão calculadas e os dados obtidos serão reportados como porcentagem do valor máximo de permeabilidade para cada grupo. ANOVA a três critérios com medidas repetidas será aplicada considerando o tratamento como variável principal e o tempo como medida repetida. Testes de comparações múltiplas serão aplicados para detectar diferenças significantes entre os grupos com nível de significância de 5%.

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo do presente estudo será avaliar a manutenção do efeito oclusivo de agentes de dessensibilização dentinária frente a desafios abrasivos e erosivos por meio das alterações na condutividade hidráulica da dentina

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Quanto aos riscos, os pesquisadores informaram que “os espécimes serão discos de dentina de dentes provenientes de Banco de Dentes armazenados em Cloramina T 0,5%. O pesquisador fará uso de EPIs (máscara, luvas e óculos de proteção)”. Não há benefícios diretos provenientes desta pesquisa

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa de grande relevância, com ótimo embasamento teórico e clareza textual e metodológica, que revela também preocupação com os critérios éticos da pesquisa.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

A Folha de rosto, Projeto na Plataforma Brasil e a Autorização do Banco de Dentes da PUCPR foram

Endereço:	Rua Imaculada Conceição - 1155 - 3º andar		
Bairro:	Prédio Ad. Prado Velho	CEP:	80.215-901
UF:	PR	Município:	CURITIBA
Telefone:	(41)3271-2292	Fax:	(41)3271-1387
		E-mail:	nep@pucpr.br

apresentados adequadamente.

Recomendações:

Recomenda-se que o pesquisador informe, no projeto de pesquisa, que os aparelhos necessários estão disponíveis para o uso na Clínica Odontológica da PUCPR.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto aprovado por atender as orientações nacionais de ética em pesquisa.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Lembramos aos senhores pesquisadores que, no cumprimento da Resolução 466/2012, o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) deverá receber relatórios anuais sobre o andamento do estudo, bem como a qualquer

para conhecimento deste Comitê. Salientamos ainda, a necessidade de relatório completo ao final do estudo.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP PUCPR de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificado e as suas justificativas. Se a pesquisa, ou parte dela for realizada em outras instituições, cabe ao pesquisador não iniciá-la antes de receber a autorização formal para a sua

realização. O documento que autoriza o início da pesquisa deve ser carimbado e assinado pelo responsável da instituição e deve ser mantido em poder do pesquisador responsável, podendo ser requerido por este CEP em qualquer tempo.

CURITIBA, 06 de Maio de 2014

Assinador por:
NAIM AKEL FILHO
(Coordenador)

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

New Instructions as of 20 September 2008

Operative Dentistry requires electronic submission of all manuscripts. All submissions must be sent to Operative Dentistry using the [Allen Track upload site](#). Your manuscript will only be considered officially submitted after it has been approved through our initial quality control check, and any problems have been fixed. You will have 6 days from when you start the process to submit and approve the manuscript. After the 6 day limit, if you have not finished the submission, your submission will be removed from the server. You are still able to submit the manuscript, but you must start from the beginning. Be prepared to submit the following manuscript files in your upload:

- A Laboratory or Clinical Research Manuscript file must include:
 - a title
 - a running (short) title
 - a clinical relevance statement
 - a concise summary (abstract)
 - introduction, methods & materials, results, discussion and conclusion
 - references (see Below)
 - The manuscript **MUST NOT** include any:
 - identifying information such as:
 - Authors
 - Acknowledgements
 - Correspondence information
 - Figures
 - Graphs
 - Tables
- An acknowledgement, disclaimer and/or recognition of support (if applicable) must in a separate file and uploaded as supplemental material.
- All figures, illustrations, graphs and tables must also be provided as individual files. These should be high resolution images, which are used by the editor in the actual typesetting of your manuscript. Please refer to the instructions below for acceptable formats.
- All other manuscript types use this template, with the appropriate changes as listed below.

Complete the online form which includes complete author information and select the files you would like to send to Operative Dentistry. Manuscripts that do not meet our

formatting and data requirements listed below will be sent back to the corresponding author for correction.

GENERAL INFORMATION

- All materials submitted for publication must be submitted exclusively to Operative Dentistry.
- The editor reserves the right to make literary corrections.
- Currently, color will be provided at no cost to the author if the editor deems it essential to the manuscript. However, we reserve the right to convert to gray scale if color does not contribute significantly to the quality and/or information content of the paper.
- The author(s) retain(s) the right to formally withdraw the paper from consideration and/or publication if they disagree with editorial decisions.
- International authors whose native language is not English must have their work reviewed by a native English speaker prior to submission.
- Spelling must conform to the American Heritage Dictionary of the English Language, and SI units for scientific measurement are preferred.
- While we do not currently have limitations on the length of manuscripts, we expect papers to be concise; Authors are also encouraged to be selective in their use of figures and tables, using only those that contribute significantly to the understanding of the research.
- Acknowledgement of receipt is sent automatically. If you do not receive such an acknowledgement, please contact us at editor@jopdent.org rather than resending your paper.
- **IMPORTANT:** Please add our e-mail address to your address book on your server to prevent transmission problems from spam and other filters. Also make sure that your server will accept larger file sizes. This is particularly important since we send page-proofs for review and correction as .pdf files.

REQUIREMENTS

- **FOR ALL MANUSCRIPTS**
 1. **CORRESPONDING AUTHOR** must provide a WORKING / VALID e-mail address which will be used for all communication with the journal.
NOTE: Corresponding authors **MUST** update their profile if their e-mail or postal address changes. If we cannot contact authors within seven days, their manuscript will be removed from our publication queue.
 2. **AUTHOR INFORMATION** must include:
 - full name of all authors
 - complete mailing address **for each author**
 - degrees (e.g. DDS, DMD, PhD)
 - affiliation (e.g. Department of Dental Materials, School of Dentistry, University of Michigan)
 3. **MENTION OF COMMERCIAL PRODUCTS/EQUIPMENT** must include:

- full name of product
 - full name of manufacturer
 - city, state and/or country of manufacturer
4. **MANUSCRIPTS AND TABLES** must be provided as Word files. Please limit size of tables to no more than one US letter sized page. (8 ½" x 11")
 5. **ILLUSTRATIONS, GRAPHS AND FIGURES** must be provided as TIFF or JPEG files with the following parameters
 - line art (and tables that are submitted as a graphic) must be sized at approximately 5" x 7" and have a resolution of 1200 dpi.
 - gray scale/black & white figures must have a minimum size of 3.5" x 5", and a maximum size of 5" x 7" and a minimum resolution of 300 dpi and a maximum of 400 dpi.
 - color figures must have a minimum size of 2.5" x 3.5", and a maximum size of 3.5" x 5" and a minimum resolution of 300 dpi and a maximum of 400 dpi.
 - color photographs must be sized at approximately 3.5" x 5" and have a resolution of 300 dpi.

• **OTHER MANUSCRIPT TYPES**

1. **CLINICAL TECHNIQUE/CASE STUDY MANUSCRIPTS** must include:
 - a running (short) title
 - purpose
 - description of technique
 - list of materials used
 - potential problems
 - summary of advantages and disadvantages
 - references (see below)
2. **LITERATURE AND BOOK REVIEW MANUSCRIPTS** must include:
 - a running (short) title
 - a clinical relevance statement based on the conclusions of the review
 - conclusions based on the literature review...without this, the review is just an exercise
 - references (see below)

• **FOR REFERENCES**

REFERENCES must be numbered (superscripted numbers) consecutively as they appear in the text and, where applicable, they should appear after punctuation.

The reference list should be arranged in numeric sequence at the end of the manuscript and should include:

1. Author(s) last name(s) and initial (ALL AUTHORS must be listed) followed by the date of publication in parentheses.
2. Full article title.
3. Full journal name in italics (no abbreviations), volume and issue numbers and first and last page numbers complete (i.e. 163-168 NOT attenuated 163-68).
4. Abstracts should be avoided when possible but, if used, must include the above plus the abstract number and page number.
5. Book chapters must include chapter title, book title in italics, editors' names (if appropriate), name of publisher and publishing address.
6. Websites may be used as references, but must include the date (day, month and year) accessed for the information.
7. Papers in the course of publication should only be entered in the references if they have been accepted for publication by a journal and then given in the standard manner with "In press" following the journal name.
8. **DO NOT** include unpublished data or personal communications in the reference list. Cite such references parenthetically in the text and include a date.

EXAMPLES OF REFERENCE STYLE

- Journal article: two authors
Evans DB & Neme AM (1999) Shear bond strength of composite resin and amalgam adhesive systems to dentin *American Journal of Dentistry* **12(1)** 19-25.
- Journal article: multiple authors
Eick JD, Gwinnett AJ, Pashley DH & Robinson SJ (1997) Current concepts on adhesion to dentin *Critical Review of Oral and Biological Medicine* **8(3)** 306-335.
- Journal article: special issue/supplement
Van Meerbeek B, Vargas M, Inoue S, Yoshida Y, Peumans M, Lambrechts P & Vanherle G (2001) Adhesives and cements to promote preservation dentistry *Operative Dentistry* (**Supplement 6**) 119-144.
- Abstract:
Yoshida Y, Van Meerbeek B, Okazaki M, Shintani H & Suzuki K (2003) Comparative study on adhesive performance of functional monomers *Journal of Dental Research* **82(Special Issue B)** Abstract #0051 p B-19.
- Corporate publication:
ISO-Standards (1997) ISO 4287 Geometrical Product Specifications Surface texture: Profile method – Terms, definitions and surface texture parameters *Geneve: International Organization for Standardization* **1st edition** 1-25.
- Book: single author
Mount GJ (1990) *An Atlas of Glass-ionomer Cements* Martin Duntz Ltd, London.
- Book: two authors
Nakabayashi N & Pashley DH (1998) *Hybridization of Dental Hard Tissues* Quintessence Publishing, Tokyo.

- Book: chapter
Hilton TJ (1996) Direct posterior composite restorations In: Schwarts RS, Summitt JB, Robbins JW (eds) *Fundamentals of Operative Dentistry* Quintessence, Chicago 207-228.
- Website: single author
Carlson L (2003) Web site evolution; Retrieved online July 23, 2003 from:
<http://www.d.umn.edu/~lcarlson/cms/evolution.html>
- Website: corporate publication
National Association of Social Workers (2000) NASW Practice research survey 2000. NASW Practice Research Network, 1. 3. Retrieved online September 8, 2003 from: <http://www.socialworkers.org/naswprn/default>