



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA
PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

SHELON CRISTINA SOUZA PINTO

**PERMEABILIDADE DENTINÁRIA E EROSÃO DENTÁRIA. AVALIAÇÃO
DE DIFERENTES SUBSTÂNCIAS ÁCIDAS E AGENTES
DESSENSIBILIZANTES**

Orientador: Prof. Dr. José Eduardo Cezar Sampaio

Araraquara

2012

**UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA**

SHELON CRISTINA SOUZA PINTO

**PERMEABILIDADE DENTINÁRIA E EROSÃO DENTÁRIA.
AVALIAÇÃO DE DIFERENTES SUBSTÂNCIAS ÁCIDAS E AGENTES
DESSENSIBILIZANTES**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia – Área de Periodontia, da Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista para obtenção do título de Doutor em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. José Eduardo Cezar Sampaio

Araraquara

2012

Pinto, Shelon Cristina Souza

Permeabilidade dentinária e erosão dentária. Avaliação de diferentes substâncias ácidas e agentes dessensibilizantes / Shelon Cristina Souza Pinto.-- Araraquara: [s.n.], 2012.

139 f. ; 30 cm.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Odontologia

Orientador: Prof. Dr. José Eduardo Cezar Sampaio

1. Sensibilidade da dentina 2. Dentifrícios 3. Erosão dentária I.
Título

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

Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação da Faculdade de Odontologia de Araraquara / UNESP

SHELON CRISTINA SOUZA PINTO

**PERMEABILIDADE DENTINÁRIA E EROSÃO DENTÁRIA.
AVALIAÇÃO DE DIFERENTES SUBSTÂNCIAS ÁCIDAS E AGENTES
DESSENSIBILIZANTES**

COMISSÃO JULGADORA

TESE PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE DOUTOR

Presidente e Orientador JOSÉ EDUARDO CEZAR SAMPAIO

2º Examinador

JONI AUGUSTO CIRELLI

3º Examinador

CARLOS ROSSA JUNIOR

4º Examinador

LETÍCIA HELENA THEODORO

5º Examinador

KARINA GONZALES SILVÉRIO RUIZ

Araraquara, 20 de Janeiro de 2012

Dados Curriculares



DADOS CURRICULARES
SHELON CRISTINA SOUZA PINTO

NASCIMENTO	1.8.1982 – PONTA GROSSA/PR
FILIAÇÃO	Hialvon Souza Pinto Luci Leifeld Pinto
2000/2004	Curso de Graduação Universidade Estadual de Ponta Grossa
2005/2005	Aperfeiçoamento em Endodontia Faculdade Herrero.
2006/2008	Curso de Pós-Graduação em Clínica Integrada (Terapêutica), nível de Mestrado, na Universidade Estadual de Ponta Grossa.
2008/2012	Curso de Pós-Graduação em Odontologia (Periodontia), nível de doutorado, na Faculdade de Odontologia de Araraquara, UNESP-FOAr.
2010/2011	Estágio PDEE- doutorado sanduíche. The University of Manchester, Manchester, Reino Unido.

*Dedicatória e
Agradecimentos*



DEDICATÓRIA

A Deus

Por me dar força quando eu achava que não tinha, por proporcionar tantas conquistas. Agradeço por Ele estar presente sempre, nos momentos difíceis e nos momentos bons, fazendo dos meus sonhos... realidade!

Ao meu noivo **Matheus**

Por ser tão compreensivo, por me acalmar nos momentos estressantes desses anos de doutorado, por me ajudar não só com minhas responsabilidades, mas emocionalmente. Sem você não teria concluído essa etapa da minha vida. Obrigada meu amor, por cuidar tanto de mim. Te amo!

Aos meus avós **Hialvon e Luci**

Não há palavra capaz de traduzir meu agradecimento e minha gratidão em ter vocês sempre ao meu lado. Amo vocês.

A minha mãe **Márcia**

Sinto-me privilegiada em poder contar com seu apoio em todos os momentos da minha vida. Obrigada por tudo. Amo você.

As minhas irmãs **Paola e Melanie e minha tia **Kris****

Pelo carinho e compreensão durante todos esses anos. Amo vocês.

A todos meus familiares

Por compreenderem minha ausência, pelos ensinamentos dos verdadeiros valores que devemos ter na vida. Agradeço muito, mesmo quando não puderam me orientar em certos caminhos, souberam valorizar minhas vontades e prioridades. Amo vocês!

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao meu orientador Professor Dr. José Eduardo Cezar Sampaio por sua paciência em transmitir seu conhecimento de forma clara e com muita boa vontade em todos os momentos. Agradeço pela orientação, participação, pelas oportunidades, constante incentivo a minha formação profissional e por todo conhecimento transmitido. Não há modo de ensinar mais completo e verdadeiro do que o próprio exemplo. Deixo aqui minha grande admiração, eterna gratidão e respeito.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”- Faculdade de Odontologia de Araraquara, na pessoa do seu Diretor Professor Dr. José Claudio Martins Segalla e Profa. Dra. Andréa Affonso B. Montandon (Vice-Diretora), pela oportunidade e incentivo.

Ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia de Araraquara representado pelo Prof. Dr. Mario Tanomaru Filho pela contribuição a minha formação profissional.

A todos os professores doutores do Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Odontologia – Área de concentração: Periodontia, pelos conhecimentos transmitidos, pela amizade e pela grande disposição em colaborar.

Ao Sr. Sebastião Anésio Dametto, técnico do Instituto de Química do Campus de Araraquara, por estar sempre disposto a colaborar. Agradeço a atenção e compreensão durante as muitas vezes que precisei da sua ajuda.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Nível Superior (CAPES) do Ministério da Educação e Cultura, pelo apoio financeiro para a realização deste Doutorado e também durante o período de estágio PDEE.

À bibliotecária Ceres Maria Carvalho Galvão de Freitas pela atenção e disposição em ajudar nas correções desta tese de doutorado.

Aos meus amigos do doutorado Rodrigo Cavassim, Roberta Grasseli Batitucci e Michele Carolina Pinheiro pela ajuda no desenvolvimento da parte experimental desse estudo.

A todos os funcionários do Departamento de Diagnóstico e Cirurgia,

em especial, Cláudia, Maria do Rosário, Regina Lúcia, Zezé e Estér, pelos momentos agradáveis que me proporcionaram durante nosso convívio.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação, Alexandre e Mara por serem sempre prestativos e atenciosos.

Aos professores Roger Philip Ellwood, Iain Pretty e Hooi Pin Chew, aos físicos Christian Zakian e Andrew Taylor pelos conhecimentos adquiridos na Universidade de Manchester, e pelas oportunidades de pesquisa.

À Colgate Palmolive, Reino Unido, pelo auxílio no desenvolvimento desta tese.

Aos Professores da Universidade Estadual de Ponta Grossa pelo apoio constante na minha formação profissional.

Aos meus amigos Christian Zakian, Juliana Gómez, Silvia Salsone, Giuseppe Demichele, Parveen Bunglawala, Hooi Pin Chew, Matt Morgan, Brenda, Arnold e Maureen por terem sido minha família em Manchester, agradeço todo o carinho, amizade verdadeira, companhia, foram tantos momentos especiais, que torna muito difícil ter que deixar esse ano para trás. O tempo pode passar, mas essa amizade nunca será perdida. Sinto muita falta de vocês.

Aos meus “segundos pais” Lúcia Helena Bandéca e José Luiz Bandéca por serem minha família nos últimos meses de doutorado.

Aos meus amigos da pós-graduação Andressa Vilas Boas Nogueira, Chaine Pavone, Leila Coimbra, Michele Carolina Pinheiro, Sabrina Cruz Tfaile de Souza, Telma Blanca Lombardo Bedran, por compartilharem seus conhecimentos. Agradeço muito por toda amizade e companheirismo.

Aos demais colegas do doutorado que contribuíram com o apoio e compreensão para a conclusão dessa tese.

As minhas amigas Mariane Cavaretti, Carolina Naciben da Silva e Juliana Alcarás Saraiva pela amizade e carinho.

Ao meu amigo e companheiro de viagens Humberto Oswaldo Schwartz, obrigada pela amizade, incentivo e companhia durante estes anos de doutorado.

As minhas queridas amigas Anna Paula Drehmer, Bianca Calixto, Débora Roloff, Débora Romanini, Flávia Maris Muller, Fabiana Machado, Handrielly Thayná Roth, Simone Schmidt Werlang pela amizade, apoio e por entenderem minha ausência.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização dessa tese de doutorado.

Sumário



SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	14
RESUMO	17
ABSTRACT	20
1 INTRODUÇÃO	23
2 PROPOSIÇÃO	33
3 MATERIAL E MÉTODO.....	34
4 CAPÍTULO 1	61
5 CAPÍTULO 2	68
6 CAPÍTULO 3	93
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	114
8 CONCLUSÃO.....	122
9 REFERÊNCIAS	125
10 ANEXOS	134

Lista de Figuras



LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Preparo das amostras. A) Sulco na JAC. B) Sulco 4 mm abaixo a JAC. C) União dos sulcos.....	37
FIGURA 2 – A) Remoção da Coroa; B) Separação da coroa e raiz; C) Porção radicular.....	37
FIGURA 3 – A) e B) Abertura da câmara pulpar; C) Remoção do tecido pulpar.....	37
FIGURA 4 – A) e B) Adaptação do espécime a suportes confeccionados com resina acrílica e a uma cânula de aço inoxidável.....	38
FIGURA 5 – A) e B) O fragmento radicular, com exceção da área de dentina exposta, foi coberto com esmalte de coloração preta.....	38
FIGURA 6 – Sistema utilizado para a determinação da permeabilidade dentinária.....	40
FIGURA 7 – Estágios sequenciais para avaliação da permeabilidade dentinária: A) Estágio 1: aplicação do ácido fosfórico; B) Estágio 2: raspagem da área de dentina exposta para criar <i>smear layer</i> ; C) Estágio 3: desafio ácido por 5 min; D) Estágio 4: escovação; Estágio 5: escovação associada a dentifrício.....	41
FIGURA 8 – Espécime de dentina com aproximadamente 3x5 mm.....	43
FIGURA 9 – Dentifrício utilizado para o tratamento dos espécimes do grupo 2.....	44
FIGURA 10 – Dentifrício utilizado para o tratamento dos espécimes do grupo 3.....	45
FIGURA 11 – A) Espécimes mantidos em cassetes durante as fases de tratamento e exposição à bebida ácida. B) Espécimes suspensos em um bécker por meio de hastes plásticas. C) Espécimes suspensos no suco de laranja durante a fase de desafio ácido sob agitação.....	45
FIGURA 12 – A- Câmera; B- Observação da indentação e posicionamento das linhas de medição da Microdureza Knoop; C- Posicionamento do espécime; D- Valores de Microdureza Knoop (HK).....	49
FIGURA 13 – Peça de mão montada, com a finalidade de manter o dispositivo estável e espécimes colocados perpendicularmente à peça.....	50
FIGURA 14 – Espécime de dentina visualizado por meio do monitor. Uma distância de aproximadamente 3 mm foi estabelecida entre o topo da imagem e a parte mais convexa do espécime para permitir o reposicionamento do espécime durante os ciclos de avaliação.....	51
FIGURA 15 – Imagem capturada pelo OCT após 15 min de desafio ácido (grupo controle). A) Área de referência (esmalte ácido-resistente) e B) Área submetida aos ciclos de tratamento e de desafio ácido com as regiões selecionadas para serem avaliadas; C) Área de referência (esmalte ácido-resistente) e D) Área submetida aos ciclos de tratamento e desafio ácido coloridas – visão de topo; E) Área de referência (esmalte ácido-resistente) e F) Área submetida aos ciclos de tratamento e desafio ácido coloridas – visão lateral.....	52

FIGURA 16 – Desenho esquemático das regiões a serem avaliadas pelo OCT. Superfície (10 pixels) e subsuperfície (50 pixels) em uma área de 512 pixels.....	53
FIGURA 17 – Desenho esquemático da área teste (F(NC) – Intensidade de fluorescência na região exposta aos desafios ácidos); e área controle (F(C) – Intensidade de fluorescência na superfície coberta por esmalte ácido-resistente).....	55
FIGURA 18 – A) Área de referência coberta com esmalte ácido-resistente; B) Área submetida aos ciclos de tratamento e desafio ácido.....	55
FIGURA 19 – A) Estágio 2: Aplicação de ácido fosfórico a 37%; B) Estágio 3: Tratamento seguindo os grupos experimentais; C) Estágio 4: desafio ácido com suco de laranja.....	59

Resumo



Pinto SCS. Permeabilidade dentinária e erosão dentária. Avaliação de diferentes substâncias ácidas e agentes dessensibilizantes [Tese de Doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2012.

RESUMO

Os objetivos deste estudo *in vitro* foram quantificar as alterações da permeabilidade dentinária radicular após imersão dos espécimes de dentina a diferentes ácidos da dieta, e efeitos da escovação com ou sem dentifrício após desafio ácido; Comparar novos métodos de diagnóstico (Tomografia de Coerência Óptica – OCT e Fluorescência Induzida por Luz - QLF) e avaliar um dentifrício contendo alto teor de flúor e um dentifrício contendo 8% de arginina, carbonato de cálcio e monofluorofosfato de sódio como possível tratamento preventivo a erosão dentinária; Quantificar as alterações na permeabilidade dentinária radicular submetida ao tratamento com dentifrício contendo alto teor de flúor e dentifrício contendo 8% de arginina, carbonato de cálcio e monofluorofosfato de sódio como tratamento preventivo ao aumento da permeabilidade dentinária seguidos por desafio ácido. Espécimes de dentina foram confeccionados e submetidos a diferentes métodos para avaliação de túbulos dentinários (permeabilidade dentinária) e superfície da dentina (OCT, QLF e Microdureza Knoop). Os resultados mostraram que: Bebidas ácidas são capazes de causar exposição dos túbulos dentinários, removendo *smear layer*, e escovação associada ou não a dentifrícios podem diminuir a permeabilidade dentinária quando realizada logo após a ingestão de dieta ácida; O uso de dentifrícios contendo agente

dessensibilizante antes de sofrer desafio ácido pode conferir um efeito protetor a superfície de dentina, porém não inibe completamente a progressão da erosão após inúmeros ciclos de exposição a ácidos; Escovação associada a dentifrícios contendo alto teor de flúor ou arginina-carbonato de cálcio são capazes de prevenir desgaste dos dentes e exposição dos túbulos dentinários in vitro. Portanto, os dentifrícios contendo agentes dessensibilizantes foram capazes de diminuir a permeabilidade dentinária e perda de minerais nos espécimes de dentina, quando estes foram expostos a desafios ácidos.

Palavras-chave: Sensibilidade da dentina; Dentifrícios; Erosão Dentária.

Abstract



Pinto SCS. Dentine permeability and tooth erosion. Evaluation of different acid substances and desensitizing agents [Tese de Doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2012.

ABSTRACT

The aims of this in vitro study were to quantify alterations in the root dentin permeability submitted to different acids of diet, and brushing effect (sonic brush) with and without dentifrice after acid application; To compare novel detection methods (Optical Coherence Tomography - OCT and Quantitative Light Fluorescence - QLF), as well as to evaluate a high fluoride toothpaste (Duraphat™ 5000 ppm Fluoride Toothpaste) and a 8% arginine, calcium carbonate, sodium monofluorophosphate toothpaste (Colgate Sensitive Pro-Relief™) as a possible preventive treatment for dentine erosion; To quantify alterations in the root dentine permeability submitted to treatment with a high fluoride toothpaste (Duraphat™ 5000 ppm Fluoride Toothpaste) and 8% arginine, calcium carbonate, sodium monofluorophosphate toothpaste (Colgate Sensitive Pro-Relief™) as a preventive treatment for increasing dentine permeability followed by acid challenge. The results showed that acid beverages are able of causing dentinal tubules exposure by smear layer removal. Toothbrushing associated or not to dentifrice can decrease dentin permeability; however this decrease is small when toothbrushing is performed soon after exposure to acid diet; Dentifrice containing desensitizing agents application prior to an erosive challenge seems to confer a protective effect but did not completely inhibit progressive erosion after several

acid challenges; Toothbrushing associated with a high fluoride or arginine-calcium carbonate toothpaste is able to prevent tooth wear and dentinal tubules exposure in vitro. Thus, dentifrices containing desensitizing agents were able to decrease dentine permeability and loss of minerals on dentine specimen, when it suffered acid challenges.

Keywords: Dentin Sensibility; Dentifrices; Tooth Erosion.

Introdução



1 INTRODUÇÃO

O declínio da prevalência de doenças como a cárie e doença periodontal teve como consequência o aumento da manutenção dos dentes na cavidade bucal. No entanto, ao mesmo tempo, tem-se aumentado a incidência de outros problemas como a Hipersensibilidade Dentinária Cervical (HSDC)^{26, 37}.

A HSDC é definida como uma dor aguda, transiente e bem localizada, em resposta a estímulo tátil, térmico, evaporativo, osmótico ou químico e que não pode ser atribuída a nenhum tipo de patologia dental. Esta dor não ocorre espontaneamente e não persiste após a remoção do estímulo⁸.

A HSDC atinge uma grande parcela da população, estando presente em todas as etnias ao redor do mundo. A literatura reporta que entre 8 e 35% da população na Argentina⁹, 8 a 30% da população nos Estados Unidos da América²⁹ e 1/6 da população brasileira apresentam HSDC⁴¹. Um estudo recente realizado pela *Canadian Advisory Board on Dentin Hypersensitivity*⁸, reporta que entre 8 e 57% da população em geral apresenta HSDC. O completo entendimento e tratamentos eficazes e definitivos para esta condição ainda não estão estabelecidos.

Em pacientes com doença periodontal crônica, entretanto, a prevalência da HSDC é mais elevada, pois a superfície radicular torna-se exposta em decorrência do processo da doença. Chabanski et al.⁹ observaram uma prevalência de 72,5 a 98% nestes pacientes, sugerindo que o tratamento periodontal prévio e/ou a doença periodontal exercem um papel na etiologia da HSDC.

A Teoria Hidrodinâmica proposta Brännström⁷ é atualmente a mais aceita para explicar a HSDC. Ela propõe que estímulos táteis, químicos, osmóticos e térmicos capazes de alterar em qualquer sentido o fluido existente dentro dos túbulos dentinários é capaz de estimular as fibras A-d adjacentes aos odontoblastos e assim desencadear um estímulo doloroso. Para que isto ocorra é necessário que os túbulos dentinários estejam expostos ao meio bucal a fim de receber tais estímulos capazes de desencadear a resposta dolorosa. Dois acontecimentos são essenciais no desenvolvimento da HSDC: o tecido dentinário deve estar exposto ao meio bucal e os túbulos dentinários devem estar abertos e patentes com a polpa dental.

Absi et al.¹ relatam que elementos dentais que respondem ao estímulo para checagem da HSDC apresentam oito vezes mais túbulos dentinários expostos na região radicular que elementos dentais que não respondem ao estímulo, e ainda, o diâmetro dos túbulos dos dentes sensíveis é cerca de duas vezes maior que o dos elementos dentais sem sensibilidade.

Apesar da HSDC ser atualmente uma condição comum, medidas preventivas visando controlar os fatores etiológicos e um produto ou protocolo ideal para tratamento vem sendo constantemente pesquisados e uma conduta ativa sobre esta condição ainda é um desafio⁴³.

Etiologia da HSDC

De acordo com Walters⁴⁴, a HSDC pode surgir a partir da perda de estrutura dental na região cervical (esmalte, dentina, cimento) ou pela desnudação da superfície radicular (migração da gengiva marginal).

Deste modo, são muitos os fatores etiológicos que podem causar a HSDC. Dentre os fatores endógenos podemos citar: defeitos na formação dentária, defeitos na junção cimento-esmalte, doenças periodontais, doenças sistêmicas como bulimia, anorexia nervosa, hipertireoidismo e distúrbios gástricos. Já os fatores exógenos são: técnica de escovação incorreta, hábitos alimentares, trauma oclusal, procedimentos clínicos como cirurgias periodontais, tratamento ortodôntico, recessões gengivais e desgaste da estrutura dental¹⁸.

A perda de estrutura dental se dá pelo desgaste dos dentes que pode ocorrer devido à atrição, abrasão e erosão. Estes processos físicos e químicos normalmente agem conjuntamente provocando o desgaste dos dentes⁶. A atrição é um desgaste fisiológico que afeta usualmente a superfície incisal e oclusal dos dentes, podendo atingir níveis patológicos com hábitos parafuncionais como o bruxismo²⁵.

A abfração tem como fator etiológico a presença de cargas oclusais excessivas, sendo que a forma e o tamanho da lesão dependem da direção, magnitude, frequência, duração e localização das forças exercidas sobre os dentes em contato²⁵. A abrasão é causada pelo desgaste mecânico resultando em perda patológica de substância dentária^{6,47}.

A erosão dental é caracterizada pela perda progressiva de tecidos

dentais devido a ação de um agente químico (ácido), sem participação bacteriana, de origem extrínseca ou intrínseca¹⁸, podendo resultar em significativo desgaste dos dentes, particularmente na região cervical, onde o esmalte é muito fino²⁵. As substâncias ácidas podem ser intrínsecas (ácido clorídrico presente no estômago) e extrínsecas (ácidos presentes na dieta, em ambientes de trabalho ou uso contínuo de medicamentos). A erosão dental promovida pela contínua ingestão de frutas ácidas e também de refrigerantes carbonados está frequentemente associada com a presença de hipersensibilidade dentinária^{5,18}.

Alguns estudos têm demonstrado que a dieta alimentar do paciente é um dos fatores etiológicos mais importantes, pois a ingestão frequente de alimentos e bebidas ácidas pode provocar a perda de estrutura dental ou simplesmente remover o *smear layer*, levando muitas vezes a HSDC^{23,32,48}.

Segundo Pashley²⁸, durante os procedimentos de raspagem e alisamento radicular (RAR) remove-se cemento e uma porção de dentina radicular, porém os túbulos dentinários permanecem ocluídos por *smear layer*, formada por fragmentos de tecido mineralizado ou não, provenientes do corte ou desgaste da estrutura dentária com instrumentos manuais ou rotatórios, diminuindo a permeabilidade dentinária e impedindo a passagem dos estímulos. Dessa forma, a HSDC pode ocorrer após alguns dias do procedimento de RAR, quando a escovação ou a ingestão de alimentos ácidos provocaria a perda dessa camada³.

Evidências *in vitro* indicam que tanto ácidos fortes como fracos, que compõem alimentos e bebidas ácidas, podem remover o *smear layer* e expor os

túbulos dentinários^{1,13,49}. Por esse motivo, o consumo diário e excessivo de frutas cítricas, bebidas ácidas e vinagres são um potencial fator de risco à erosão dentária⁴⁸.

Lussi et al.²¹ relataram que o consumo excessivo e não usual de substâncias específicas da dieta, como suco de limão, suco de laranja e bebidas de cola carbonatadas, está associado ao aparecimento de erosão dentária.

Clark et al.¹¹ observaram que existe uma associação positiva entre a frequência de ingestão de alimentos específicos e bebidas ácidas e persistência da HSDC. Por isso, é de fundamental importância que o Cirurgião-Dentista oriente seu paciente quanto à dieta alimentar, controlando a ingestão de ácidos para que se tenha um tratamento eficaz da HSDC e também para prevenir a sua recorrência^{11,13,33}.

Outro aspecto importante a ser considerado é o efeito da escovação sobre a superfície dental desmineralizada pela ação do ácido. Prati et al.³⁴ constataram *in vitro* que a escovação sem dentifício imediatamente após a exposição dentinária a bebidas ácidas, reduzia a permeabilidade da dentina devido à oclusão parcial dos túbulos com debris. Também verificou que o dentifício pode exercer um papel protetor, prevenindo a completa remoção de *smear layer* e reduzindo a HSDC pela produção de uma nova *smear layer* artificial e depósitos dentro dos túbulos. Entretanto, outros autores verificaram que o atrito da escova em combinação com a desmineralização superficial da dentina pelos alimentos ácidos pode acelerar a perda da estrutura dental^{36,47}.

Austin et al.⁴ fizeram uma investigação *in vitro* para avaliar o desgaste produzido pela erosão e pela abrasão, separadamente ou em combinação, utilizando diferentes tipos de tratamentos. Esses autores concluíram que a erosão produz maior remoção de estrutura dental que a abrasão isoladamente. No entanto, a combinação erosão/abrasão tem como resultado não a soma das remoções, mas sim o produto delas.

De acordo com os resultados obtidos em seu trabalho, West et al.⁴⁷ concluíram que, nos casos de HSDC, a escovação não deve ser realizada imediatamente após a ingestão de alimentos ácidos.

Dentro dessa linha de pesquisa que busca correlacionar HSDC e dieta ácida, Corrêa et al.¹² determinaram o pH de algumas frutas, bebidas e condimentos com o objetivo de indicar uma dieta para pacientes com HSDC. Esses autores concluíram que o aconselhamento dietético deve fazer parte do tratamento da HSDC, enfatizando principalmente a substituição de dietas com pH mais baixo por dietas com pH mais alto. Zandim et al.⁴⁸ constataram que o vinagre balsâmico estava associado a menor exposição de túbulos dentinários, sendo assim, o mais indicado para consumo pelos pacientes que apresentam HSDC. Dentre os vinagres testados, o vinagre balsâmico possuía o maior valor de pH.

Ainda seguindo esta linha de pesquisa, Pinto et al.³², observaram maior remoção de *smear layer* pelas bebidas contendo ácido cítrico (suco de limão e laranja). O tipo do ácido pode ser um fator importante na determinação do potencial erosivo de bebidas ácidas³². Além disso, o padrão de erosão

demonstrado por diferentes bebidas ácidas, também pode ser influenciado pelo pH, titulação e capacidade tampão da saliva^{32,49}.

Tratamento da HSDC

Alternativas terapêuticas para reduzir a HSDC têm sido introduzidas visando a redução da excitabilidade das fibras nervosas dentro da polpa ou obliteração dos túbulos dentinários abertos^{27,31,33,42}. No entanto, até o momento, o tratamento da HSDC ainda não está bem estabelecido.

Agentes de obliteração de túbulos dentinários podem atuar por meio da precipitação de proteínas, precipitação de cristais sobre ou dentro dos túbulos dentinários ou por meio de técnicas restauradoras convencionais^{6,27,31,37}.

Inúmeros agentes e protocolos de tratamento têm sido empregados para a dessensibilização da dentina, tais como: gel fluoretado, vernizes cavitários e dentifrícios. Existe pouca informação com relação aos efeitos desses agentes sobre os túbulos dentinários abertos³¹.

Dentifrícios podem ser um importante tipo de tratamento para vários problemas dentários, já que estes são facilmente acessíveis a população. A incorporação de agentes dessensibilizantes nos dentifrícios tem como principal objetivo facilitar o tratamento da HSDC, tais como: nitrato de potássio, cloreto de estrôncio e mais recentemente 8% de arginina associada ao carbonato de cálcio, além de dentifrícios contendo alta concentração de flúor^{31-32,35}.

Os sais de potássio podem ser efetivos no tratamento da HSDC quando aplicados topicamente ou na forma de dentifrícios^{42,45}. Estes sais podem

agir por meio da capacidade de penetrar nos túbulos dentinários e reagir com íons cálcio do fluido dentinário para formar cristais insolúveis, ou por meio da despolarização de fibras nervosas⁴².

Segundo Peacock, Orchardson³⁰, após comparar formulações diferentes de potássio na redução da excitabilidade de fibras nervosas em raízes de nervos espinhais dessecados de ratos, existe a necessidade de concentrações altas dos íons para que estes sejam efetivos na redução do potencial de ação sendo que melhores resultados na redução da excitabilidade nervosa foram encontrados pelos sais de citrato ou tartárico de potássio.

Produtos contendo alta concentração de flúor têm mostrado efeitos positivos na oclusão de túbulos dentinários, levando ao alívio da sensibilidade. Estes agentes incluem vernizes fluoretados (22.500 ppm de flúor) e dentifrícios com alta concentração de flúor (5000 ppm de flúor)²². Dentifrícios contendo alta concentração de flúor e géis fluoretados podem ser usados em casa, por meio de moldeiras personalizadas por um período de tempo a cada dia ou durante a prática de escovação diária. Estes produtos contendo alta concentração de flúor e de uso caseiro requerem uso contínuo antes que o alívio da dor devido a hipersensibilidade dentinária seja alcançado²⁷.

Embora alguns métodos tradicionais para o tratamento da HSDC tenham sido clinicamente avaliados e fornecido algum alívio da dor pelos pacientes, profissionais continuaram procurando alternativas terapêuticas mais efetivas²⁷.

Kleinberg et al.²⁰ introduziram uma nova tecnologia para o tratamento

da HSDC baseada no papel que a saliva desempenha, naturalmente, na redução da hipersensibilidade dentinária. Os componentes essenciais desta nova tecnologia são arginina, um aminoácido que é positivamente carregado em pH fisiológico (pH 6,5-7,5) e carbonato de cálcio, fonte de cálcio. Estes componentes tem mostrado ocluir fisicamente túbulos dentinários e reduzir HSDC efetivamente^{14,31,38}.

O dentifrício contendo uma concentração de 8% de arginina e carbonato de cálcio, chamado Colgate Sensitive Pro-Alívio[®] (Colgate Palmolive, Ind. Ltda), pode ser aplicado na área de dentina exposta pelo profissional ou como tratamento caseiro diário por meio da escovação ou fricção com a ponta do dedo^{27,38}.

A combinação de arginina com carbonato de cálcio forma uma camada rica em cálcio na superfície de dentina e no interior dos túbulos dentinários, selando-os e proporcionando alívio da dor^{14,38}. Petrou et al.³¹ demonstraram que a oclusão dos túbulos permanece intacta mesmo após exposição a ácidos. Embora a realização de ciclos erosivos intercalados ao tratamento com o dentifrício não tenham sido avaliados.

Durante a realização do tratamento da HSDC, é importante lembrar que os fatores etiológicos e predisponentes devem ser investigados e reparados, já que de nada adianta um tratamento efetivo sem a eliminação da causa. Afinal, se esta não for eliminada a condição de dor pode voltar em pouco tempo.

Proposição



2 PROPOSIÇÃO

Hipótese Geral

Avaliar alterações da permeabilidade e erosão dentinária após desafios ácidos e novas alternativas de tratamento.

Capítulo 1: o objetivo deste estudo in vitro foi quantificar as alterações da permeabilidade dentinária radicular após imersão dos espécimes de dentina a diferentes ácidos da dieta, e efeitos da escovação com ou sem dentifrício (citrato de potássio a 5%) após desafio ácido.

Capítulo 2: os objetivos do estudo foram comparar novos métodos de diagnóstico para a erosão dentinária (Tomografia de Coerência Óptica - OCT e Fluorescência Induzida por Luz Quantitativa - QLF) e avaliar um dentifrício contendo alto teor de flúor e um dentifrício contendo 8% de arginina, carbonato de cálcio e monofluorfosfato de sódio como possível tratamento preventivo à erosão dentinária.

Capítulo 3: o estudo teve como objetivo comparar o efeito de dois dentifrícios (Duraphat 5000 – alto teor de flúor e Pro-Alívio – arginina a 8% associada ao carbonato de cálcio e monofluorfosfato de sódio) na prevenção de alterações da permeabilidade dentinária induzida por desafio ácido.

Material e Método



3 MATERIAL E MÉTODO

ESTUDO I

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual “Júlio de Mesquita Filho”, (Protocolo #52/04).

Seleção dos dentes

A amostra do estudo consistiu de vinte e cinco terceiros molares humanos extraídos por razões cirúrgicas de pacientes jovens (idade média: 22 anos), obtidos no Banco de Dentes Humanos da Faculdade de Odontologia de Araraquara, UNESP. As coroas clínicas foram seccionadas e somente o segmento radicular foi utilizado (n=5 para cada grupo). Como critério de seleção, os dentes deveriam apresentar a superfície radicular íntegra, principalmente no terço cervical. Dentes com restaurações, lesões de cárie e lesões de abrasão ou erosão foram excluídos. Os meios de estocagem e armazenagem foram trocados semanalmente, minimizando a deterioração. Os dentes com um mês, mas não mais que seis meses após a extração, foram selecionados.

Preparo dos dentes

Uma fresa cilíndrico-cônica (nº 3203 KG Sorensen) em alta rotação, sob refrigeração foi utilizada para confeccionar dois sulcos paralelos entre si na face mais plana da superfície radicular de cada um dos elementos dentais. O primeiro sulco foi confeccionado ao nível da junção amelocementária com profundidade

correspondente à metade do diâmetro da fresa (Figura 1A) e outro, aproximadamente, 4 mm apical ao primeiro sulco (Figura 1B). Em seguida, com a mesma fresa, foi realizada a união dos sulcos para remoção do cimento e exposição da dentina na área previamente delimitada (Figura 1C).

Com a utilização de um disco diamantado dupla face em baixa rotação (KG Sorensen), um corte transversal foi realizado acima da junção amelocementária, dividindo o elemento dental em dois fragmentos (Figura 2A e 2B). Apenas o fragmento contendo a porção radicular foi utilizado nas demais etapas do experimento (Figura 2C).

Em seguida, foi realizada abertura da câmara pulpar com auxílio de uma broca cilíndrico-cônica 3071 (KG Sorensen) (Figura 3A e 3B) e o tecido pulpar foi cuidadosamente removido com limas Hedström (Maillefer, *Dentsply*[®], Tulsa, Oklahoma, EUA) (Figura 3C), sendo posteriormente, adaptados em suportes confeccionados com resina acrílica e a uma cânula de aço inoxidável de aproximadamente 3 cm de comprimento, cujo diâmetro era compatível com o tubo de polietileno (18 gauge) (Figura 4A e 4B) usado no sistema para determinar a permeabilidade dentinária. O vedamento do fragmento, assim como da cânula, com a base de acrílico foi realizado com um adesivo à base de cianoacrilato.

Todo o fragmento radicular, com exceção da área de dentina exposta, foi coberto com esmalte de coloração preta (Figura 5A e 5B). Após a secagem do esmalte, as amostras foram armazenadas em água destilada para evitar o seu ressecamento.



FIGURA 1 - Preparo das amostras. A) Sulco na JEC. B) Sulco 4 mm abaixo a JAC. C) União dos sulcos.



FIGURA 2 - A) Remoção da Coroa; B) Separação da coroa e raiz; C) Porção radicular.



FIGURA 3 - A) e B) Abertura da câmara pulpar; C) Remoção do tecido pulpar.

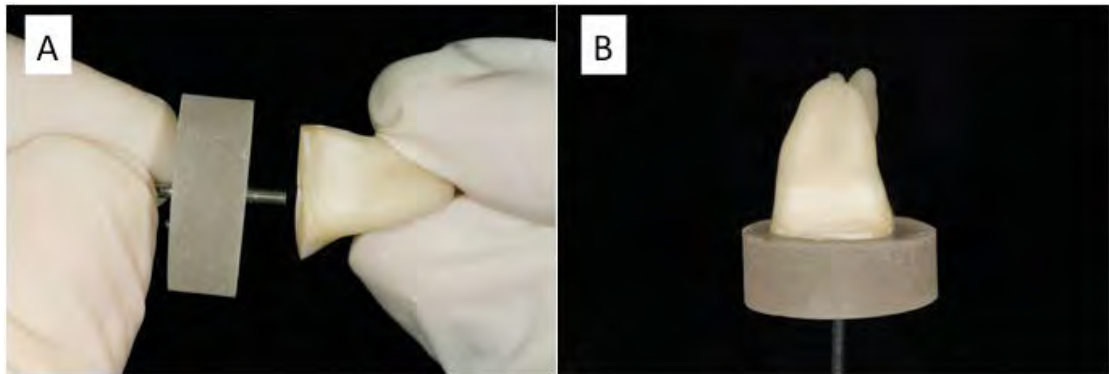


FIGURA 4 - A) e B) Adaptação do espécime a suportes confeccionados com resina acrílica e a uma cânula de aço inoxidável.

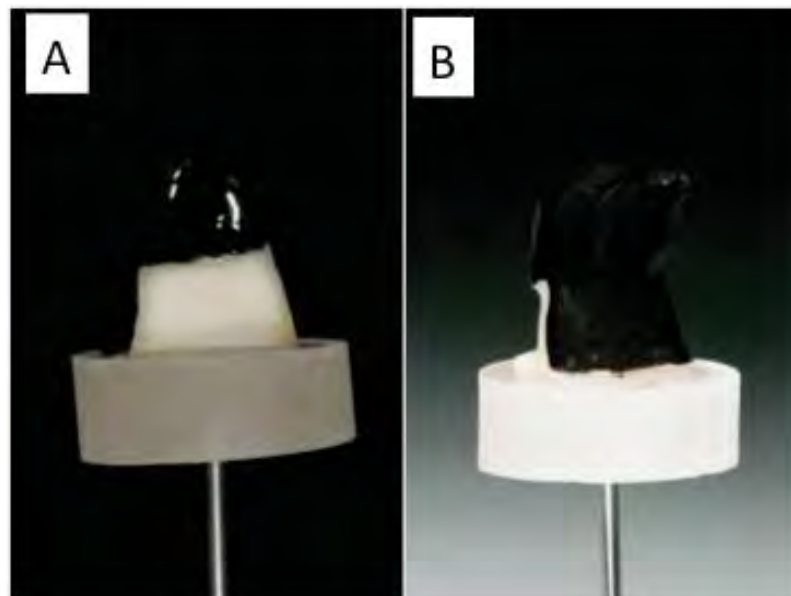


FIGURA 5 - A) e B) O fragmento radicular, com exceção da área de dentina exposta, foi coberto com esmalte de coloração preta.

Após o preparo, os espécimes foram aleatoriamente distribuídos em 5 grupos (n=5), de acordo com a bebida ácida a qual estes foram imersos. O pH das bebidas foi medido a temperatura ambiente antes de cada teste: Suco de laranja

(ácido cítrico): 3,35; Coca-Cola (ácido fosfórico): 2,45; vinagre (ácido acético): 2,47; vinho branco (ácido tartárico): 3,35 e suco de limão (ácido cítrico): 2,10.

Cada espécime foi conectado ao dispositivo para a medição da permeabilidade dentinária radicular após cada um dos seguintes estágios sequenciais:

Estágio 1: aplicação tópica de ácido fosfórico a 37% sobre a superfície dentinária durante 30 segundos, com a finalidade de se obter permeabilidade máxima (100%), seguido por lavagem com água destilada (Figura 6A).

Estágio 2: Raspagem e alisamento radicular com cureta Gracey 5-6 (50 movimentos - Millenium[®]; Golgran Ind. Com. de Instrumentos Odontológicos Ltda, São Paulo, SP, Brasil) para criar *smear layer*, em seguida, lavagem com água destilada (Figura 6B).

Estágio 3: Espécimes foram imersos em 5 mL de bebida ácida por 5 minutos (suco de laranja, coca-cola, vinagre, vinho branco e suco de limão), em seguida, lavagem com água destilada (Figura 6C).

Estágio 4: Escovação utilizando escova sônica e água destilada durante 3 minutos, seguida por lavagem com água destilada (Figura 6D).

Estágio 5: Escovação com 0,5 g de dentifrício (citrato de potássio a 5% - Colgate Sensitive[®]; Colgate-Palmolive Ind. E Com. Ltda., São Paulo, SP, Brasil) e escova sônica, durante 3 minutos, em seguida, lavagem com água destilada (Figura 6D).

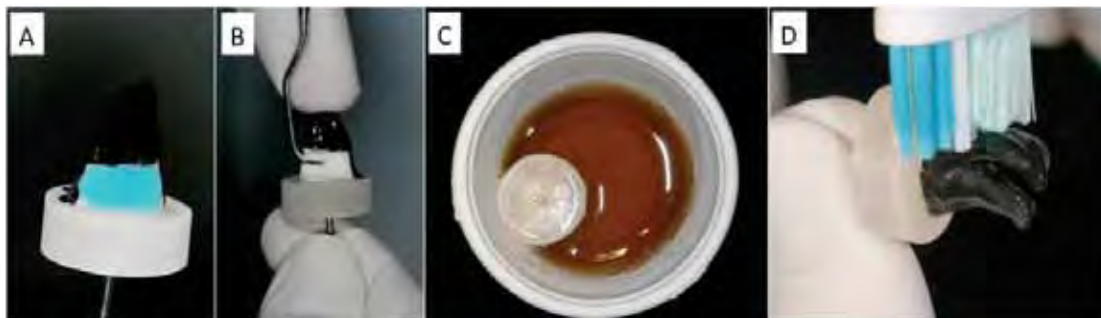


FIGURA 6 - Estágios sequenciais para avaliação da permeabilidade dentinária: A) Estágio 1: aplicação do ácido fosfórico; B) Estágio 2: raspagem da área de dentina exposta para criar *smear layer*; C) Estágio 3: desafio ácido por 5 min; D) Estágio 4: escovação; Estágio 5: escovação associada a dentifrício.

Avaliação da Permeabilidade dentinária

Para a avaliação da permeabilidade dentinária, os segmentos radiculares foram conectados a um sistema contendo um béquer com água destilada no interior de uma panela de pressão adaptada para receber pressão de um cilindro de nitrogênio (Figura 7).

O líquido presente no béquer sai da panela através de um tubo de polietileno, passa por um microcapilar de vidro, e novamente, por meio de um tubo de polietileno atinge o espécime, o qual se encontra na extremidade final do sistema. Ao atingir a amostra, o líquido é forçado a sair para a superfície externa, ou seja, pela área de dentina previamente exposta e que não foi vedada pelo esmalte preto. O registro do deslocamento linear de uma bolha de ar no microcapilar por meio de uma régua milimetrada possibilita a determinação do fluxo de líquido por minuto, ou seja, o deslocamento da bolha é convertido em

deslocamento de volume ($\mu\text{L}/\text{minuto}$). Baseado no diâmetro ($25 \mu\text{l}$) e no comprimento (65 mm) do microcapilar, pode-se calcular o fluxo de líquido pela seguinte fórmula:

$$F = \frac{25 \mu\text{L} \times D}{65\text{mm} \times t}$$

F = fluxo, em $\mu\text{L}/\text{min}$

D = deslocamento da bolha, em mm

t = tempo, em min

A bolha de ar é inserida no sistema pela simples desconexão e reconexão da amostra do tubo de polietileno e uma seringa é usada para ajustar a posição da bolha no microcapilar.

A pressão utilizada para forçar a saída do líquido através da dentina foi de 10 psi. Essa pressão foi constante durante todo o experimento, sendo a mesma controlada por um regulador de pressão adaptado no cilindro de nitrogênio.

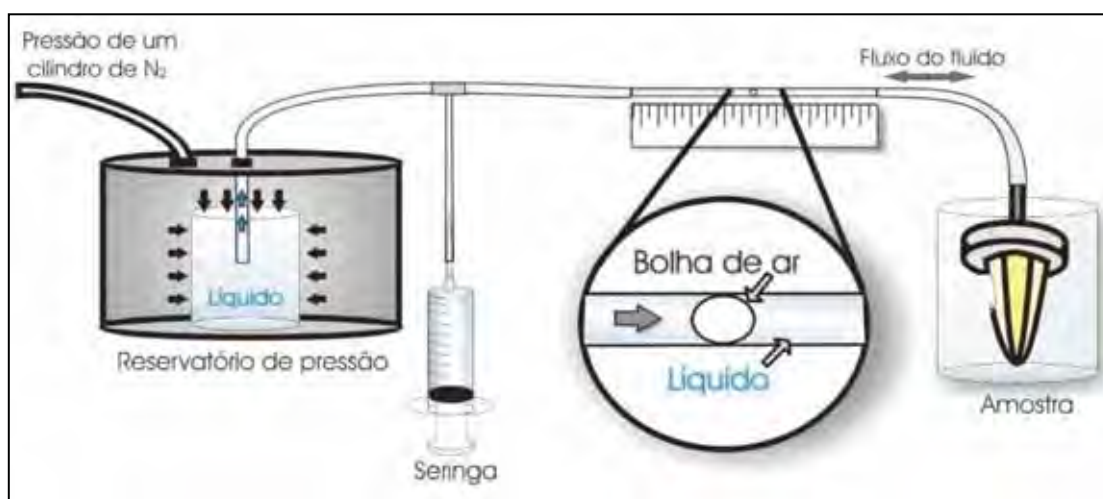


FIGURA 7 - Sistema utilizado para a determinação da permeabilidade dentinária.

A condutibilidade hidráulica foi expressa como uma porcentagem do valor máximo para cada espécime. Portanto, cada espécime foi considerado seu próprio controle.

ESTUDO II

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de odontologia de Araraquara, Universidade Estadual “Júlio de Mesquita Filho”, (Protocolo #34/10).

Preparo dos espécimes de dentina

Vinte e quatro terceiros molares extraídos, livres de cárie e previamente estocados em solução salina, foram utilizados no estudo.

Uma fresa cilíndrico-cônica em alta rotação, sob refrigeração foi utilizada para confeccionar dois sulcos paralelos entre si (0,5 mm de profundidade) sobre as superfícies radiculares de cada dente (Vestibular e Lingual): um sulco foi realizado na junção cimento-esmalte (Figura 1A) e o outro, 4 mm apical ao primeiro (Figura 1B). Em seguida, com a mesma fresa, foi realizada a união dos sulcos para remoção do cimento e exposição da dentina na área previamente delimitada (Figura 1C). Com a utilização de um disco diamantado um corte transversal foi realizado acima da junção amelocementária, com a finalidade de remover a coroa. Dois blocos de dentina, com aproximadamente 3x5 mm (Figura 8), foram obtidos de cada dente, um da superfície vestibular e outro da superfície lingual, obtendo-se um total de 48 espécimes.

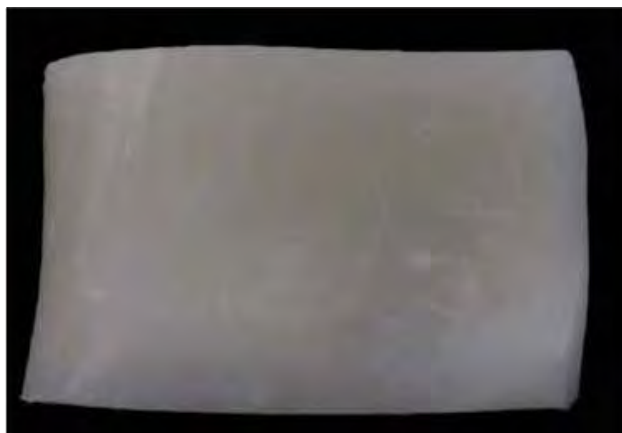


FIGURA 8 - Espécime de dentina com aproximadamente 3x5 mm.

Metade da área de cada espécime foi protegida com uma fita sem a presença de resíduos (a qual não contamina a superfície dentinária), para que a outra metade fosse coberta com uma fina camada de esmalte ácido resistente (esmalte transparente para unhas, Revlon, Manchester, Reino Unido). Esta camada protegida pelo esmalte de unha serviu para proteger a superfície radicular sadia como área controle antes da exposição a solução desmineralizadora (suco de laranja). Após a aplicação do esmalte na área controle, a fita foi removida, e esta metade do espécime foi considerada a superfície teste.

Durante as avaliações, os espécimes foram mantidos em 1 mL de água destilada. Antes das avaliações por meio de QLF e OCT, os espécimes foram secos por 10 segundos, utilizando seringa tríplice fixada a 10 cm de distância da superfície dentinária.

Previamente aos tratamentos os espécimes foram estocados em saliva artificial por 1 dia antes da primeira avaliação utilizando as técnicas de QLF, OCT e Microdureza Knoop (Baseline).

Tratamento

Cada espécime de dentina foi imerso em dentifrício (300 mg/mL) durante 3 minutos em temperatura e pH controlados sob constante agitação, utilizando um agitador magnético (IKA® C-MAG MS10, IKA® Werke GmbH & Co.KG/ Alemanha). Os seguintes grupos foram testados:

- Grupo 1 – Controle Negativo (Volvic®, Água Mineral, pH 7.8).
- Grupo 2 – 5000F: Duraphat® 5000 toothpaste (Colgate Palmolive – 5000ppm de Flúor, pH 8.3) (Figura 9).
- Grupo 3 - Arginina: Colgate ProAlívio® (Colgate Palmolive – 8% de arginina e carbonato de cálcio, pH 8.8) (Figura 10).

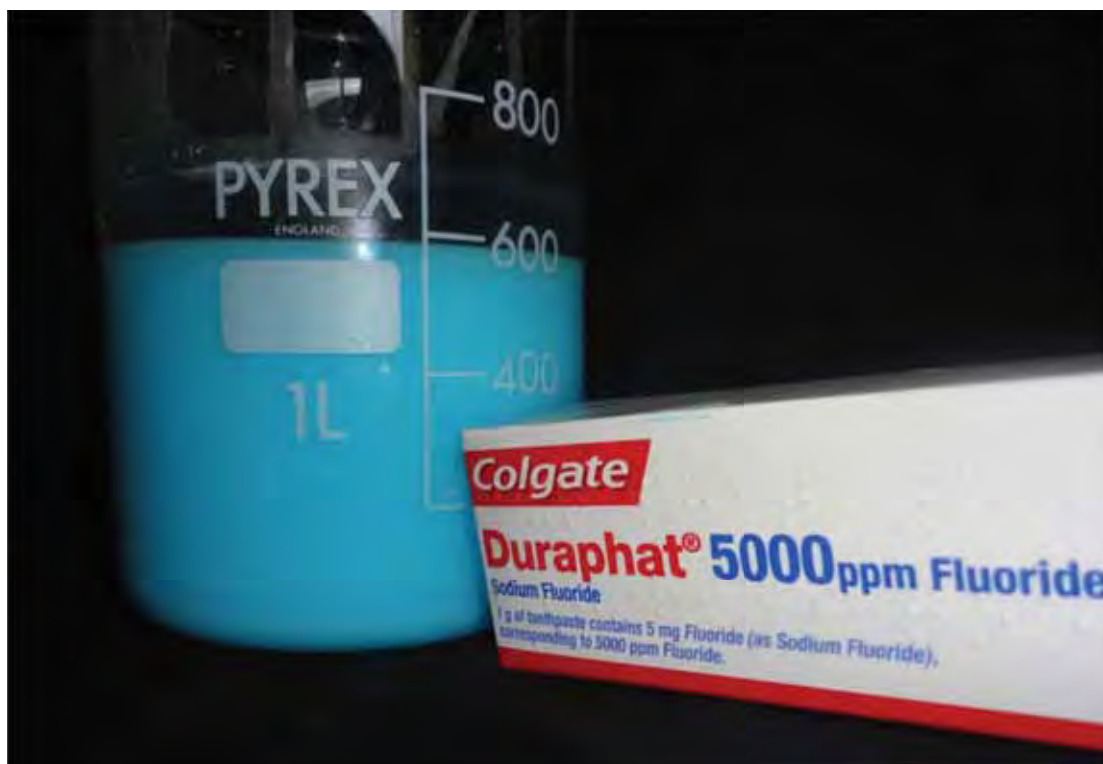


FIGURA 9. Dentifrício utilizado para o tratamento dos espécimes do Grupo 2.



FIGURA 10 - Dentifrício utilizado para o tratamento dos espécimes do Grupo 3.

Após o tratamento, os espécimes foram cuidadosamente lavados com água destilada (15 mL). As avaliações por meio de OCT, QLF e Microdureza Knoop foram realizadas novamente.

Ciclos de Erosão (Intervalos de desafio ácido)

Após o tratamento, os espécimes foram suspensos em dois béqueres por meio de hastes de plástico. Oito espécimes foram suspensos em cada béquer de 1L, contendo 600 mL de suco de laranja (Sainsbury's[®] Orange Juice, Manchester, Reino Unido) ($\text{pH } 3.72 \pm 0.03$) (Figura 11A, 11B, 11C). O suco de

laranja foi gentilmente agitado por meio de um agitador magnético (IKA® C-MAG MS10, IKA® Werke GmbH & Co.KG/ Alemanha) durante 15 minutos (Figura 11C). Os espécimes foram removidos do suco de laranja e cuidadosamente lavados com 15 mL de água destilada, removendo o excesso de ácido presente na superfície.

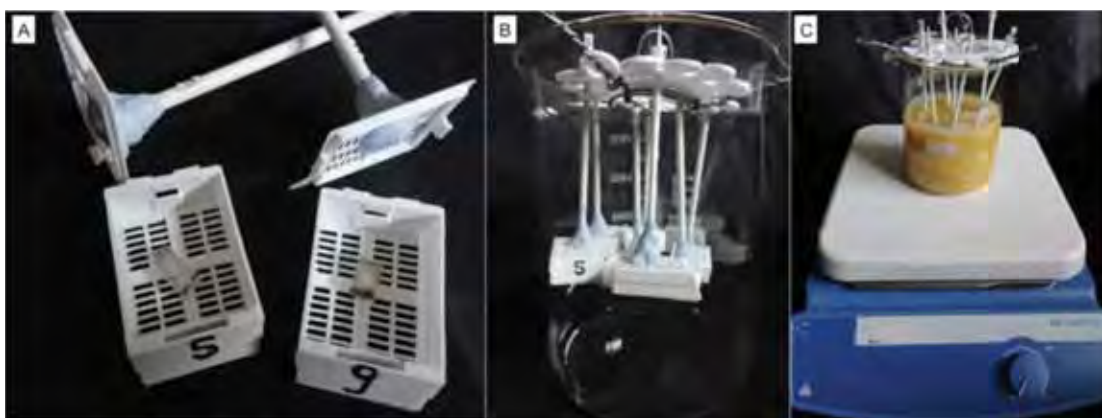
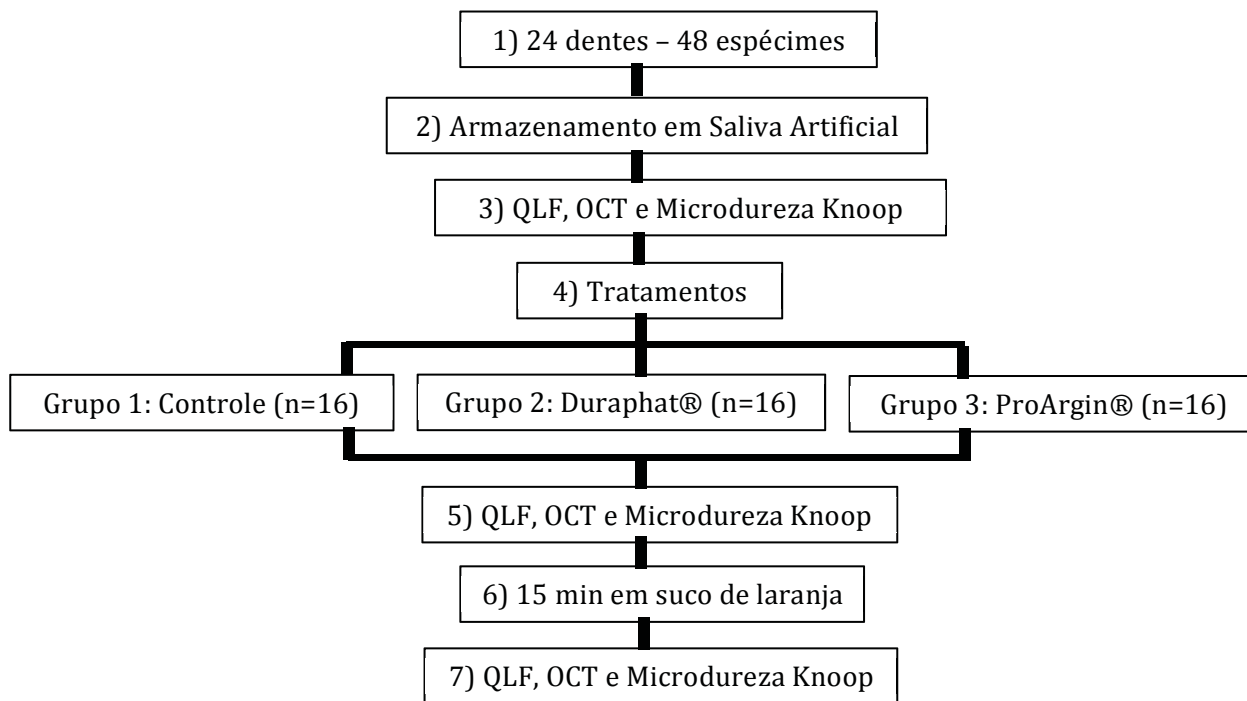


FIGURA 11 - A) Espécimes mantidos em cassetes durante as fases de tratamento e exposição à bebida ácida. B) Espécimes suspensos em um béquer por meio de hastes plásticas. C) Espécimes suspensos no suco de laranja durante a fase de desafio ácido sob agitação.

No grupo controle, os espécimes foram mantidos em 600 mL de água mineral não-carbonatada (Volvic®, Danone Ltd, Manchester, UK) sob 3 minutos de constante agitação. Uma água mineral não-carbonatada foi utilizada devido a esta não provocar efeitos demineralizantes ou remineralizantes sobre a dentina⁴⁰.

As medidas (microdureza Knoop, OCT e QLF) foram realizadas durante 5 dias (dia 1 – Baseline; após tratamento com dentifrício e após desafio

ácido; dias 2-5 – após tratamento com dentifrício e após desafio ácido) (Fluxograma 1). O suco de laranja foi trocado a cada 15 minutos de desafio ácido.



FLUXOGRAMA 1 - Desenho experimental do estudo. Ciclo 1 – passos do 1 ao 7.

Ciclos 2 – 5: iniciaram-se no passo 4.

Armazenamento dos espécimes

Os espécimes foram incubados durante a noite (10 horas) em 5 mL de saliva artificial entre cada ciclo, com temperatura e pH controlado. A composição da saliva artificial usada foi: 1.5 mmol/l $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 0.9 mmol/l $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 150 mmol/l KCl; 0.02 mol/l $\text{H}_2\text{NC}(\text{CH}_2\text{OH})_3$ (TRIS); 0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$ NaF, pH 7.0.

Microdureza Knoop

As medidas de microdureza foram realizadas utilizando um microindentador de diamante (microindentador Knoop) (Figura 12A, 12B, 12C, 12D) sob uma força de 10 g aplicada por 5 segundos (Microhardness Tester FM-700; Future-Tech Corporation, Japão)¹⁷. Os espécimes foram posicionados com a superfície plana voltada ao microindentador e fixados de forma reprodutível e com a visão precisa do microindentador (Figura 12C). Uma área de superfície de aproximadamente 1 x 1 mm² que está perpendicular a direção de carga do penetrador foi identificada na área de dentina exposta (metade do espécime exposta ao tratamento e desafio ácido). Três indentações foram realizadas em cada espécime durante cada ciclo de tratamento e desafio ácido na área identificada. Os valores de Microdureza Knoop foram calculados e valores médios foram obtidos¹⁵.

Resultados da mudança de microdureza (SMC) foram calculados baseados nas diferenças entre a microdureza inicial (*Baseline*) e os intervalos de tempo subsequentes (dados normalizados). O SMC foi calculado:

$$SMC = \frac{(K_b - K_d)}{K_b}$$

$$K_b$$

onde K_b é o número médio de microdureza Knoop no *Baseline* e K_d o número médio de microdureza Knoop após desmineralização.

Os espécimes foram estocados em água destilada entre as avaliações para mantê-los constantemente hidratados, considerando que a dentina seca pode causar mudanças na dureza e contração dos tecidos¹⁰.

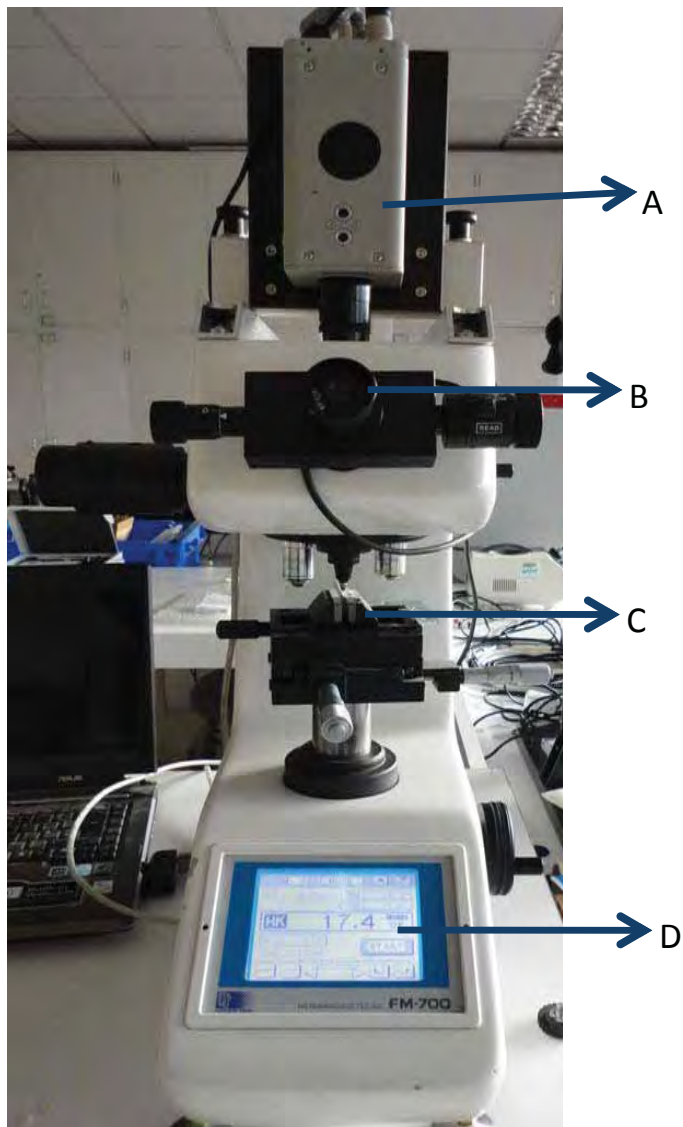


FIGURA 12 – Microdurômetro utilizado para medir a microdureza Knoop.

A- Câmera;

B- Observação da indentação e posicionamento das linhas de medição da Microdureza Knoop;

C- Posicionamento do espécime;

D- Valores de Microdureza Knoop (HK).

Tomografia de Coerência Óptica (OCT)

Um sistema OCT (Tomografia de Coerência Óptica) comercialmente disponível (OCS1300SS, Thorlabs Ltd, UK) foi utilizado para capturar imagens

seccionais da área de dentina exposta a tratamento com dentifrício e desafios ácidos.

O OCS1300SS usa uma tecnologia de domínio Fourier para geração de imagens de mais alta definição a uma velocidade de varredura muito superior. Esta tecnologia apresenta uma banda larga de frequência de varredura a laser com saída centrada em 1325 μm . Apresenta uma resolução axial de 9 mm e resolução transversal de 15 mm. A peça de mão foi montada, com a finalidade de manter o dispositivo estável (Figura 13). Os espécimes foram colocados perpendicularmente à peça de mão (Figura 13). O dispositivo foi posicionado de forma a permitir o reposicionamento da amostra e alinhamento durante os diferentes intervalos de avaliações (ciclos de tratamento e desafios ácidos).

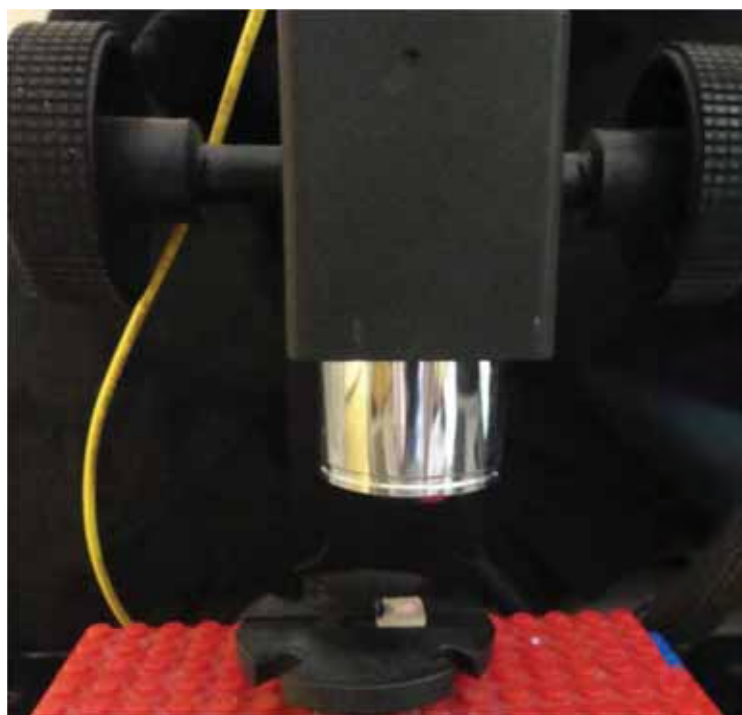


FIGURA 13 - Peça de mão montada, com a finalidade de manter o dispositivo estável e espécimes colocados perpendicularmente à peça.

O feixe de luz do OCT foi configurado para digitalizar um comprimento de 5 mm na direção do eixo x e uma profundidade axial de 3 mm. A coordenada X e Y do feixe de luz para cada espécime foi anotada em todos os intervalos de tempo avaliados.

Para permitir o reposicionamento do espécime, uma distância de 3.0 ± 0.1 mm era estabelecida entre a área mais convexa da superfície deste ao topo da margem da imagem exibida no software (Figura 14). A variação dinâmica da luz do OCT foi mantida ao redor de 20-30 decibéis (dB). O ruído presente nas imagens era removido antes da captura de cada uma delas.

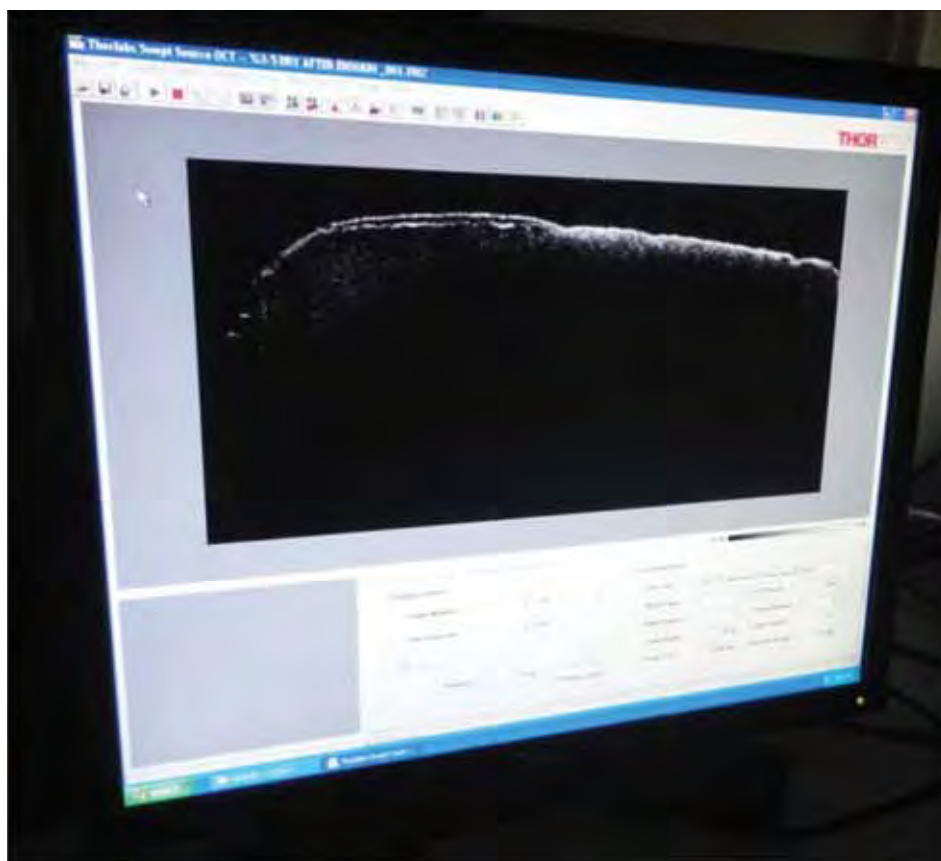


FIGURA 14 - Espécime de dentina visualizado por meio do monitor.

Um programa personalizado MATLAB (MathWorks, California, US) foi usado para analisar as mudanças de intensidade da luz retroespalhada do OCT com o tempo (Figura 15). Os B-scans de cada espécime obtidos em cada avaliação foram alinhados e uma região de interesse similar foi selecionada para todos os intervalos de tempo avaliados (16 A-scans em cada espécime).

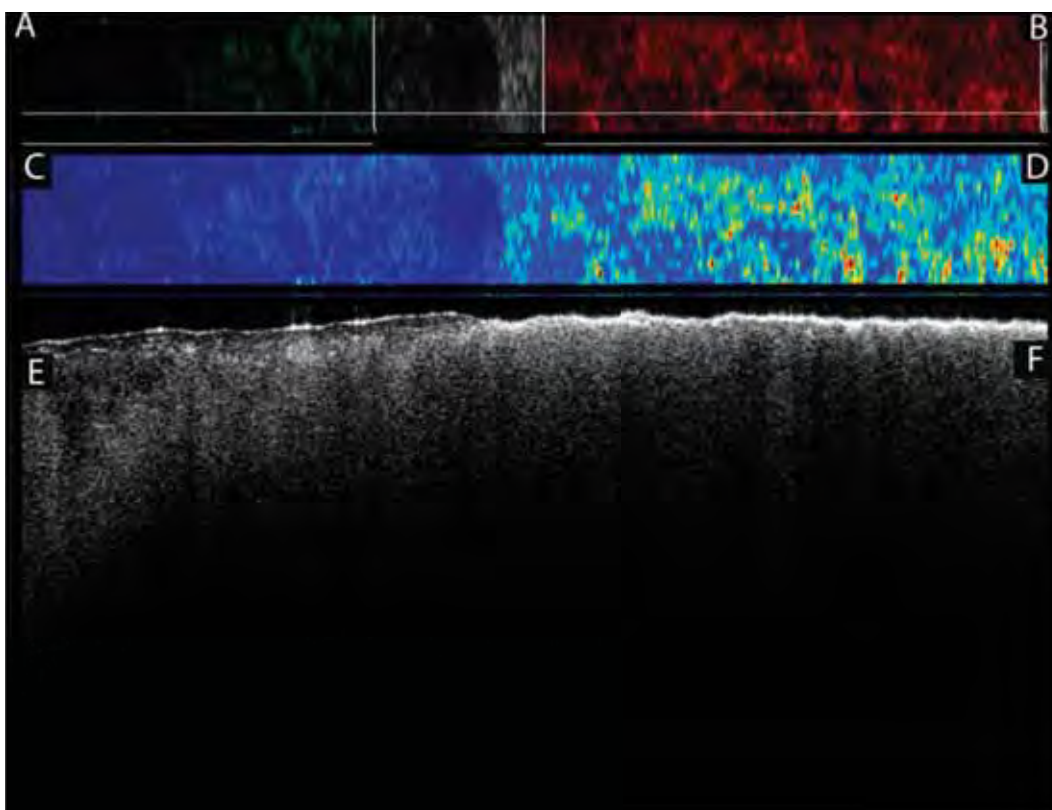


FIGURA 15 - Imagem capturada pelo OCT após 15 minutos de desafio ácido (grupo controle). A) Área de referência (esmalte ácido-resistente) e B) Área submetida aos ciclos de tratamento e de desafio ácido com as regiões selecionadas para serem avaliadas; C) Área de referência (esmalte ácido-resistente) e D) Área submetida aos ciclos de tratamento e desafio ácido – visão de topo; E) Área de referência (esmalte ácido-resistente) e F) Área submetida aos ciclos de tratamento e desafio ácido – visão lateral.

Após a normalização dos dados, uma curva de intensidade da profundidade resolvida foi então gerada. A atenuação ou a extinção (A_t) da intensidade de luz retroespalhada na área desmineralizada é representada pela função abaixo:

$$A_t = \frac{I_{\text{subsuperfície}}}{I_{\text{superfície}}}$$

$I_{\text{subsuperfície}}$ é a intensidade de luz retroespalhada no nível subsuperficial, o qual não é afetado pela desmineralização (50 pixels abaixo a superfície do espécime). $I_{\text{superfície}}$ é a intensidade de luz retroespalhada no nível superficial, o qual sofreu desmineralização (10 pixels abaixo da superfície da dentina) (Figura 16).

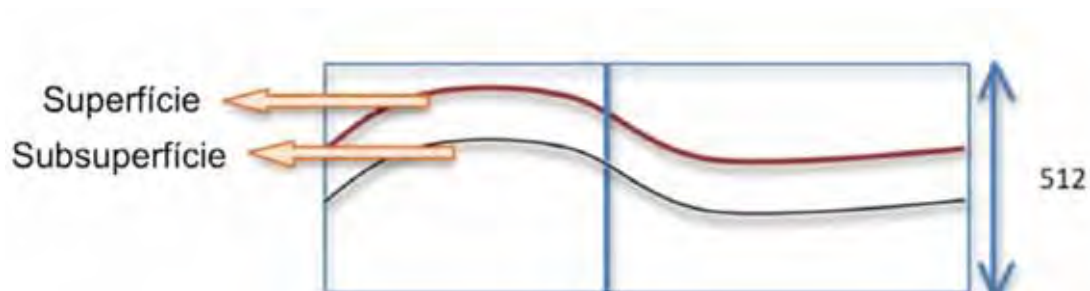


FIGURA 16 - Desenho esquemático das regiões a serem avaliadas pelo OCT. Superfície (10 pixels) e subsuperfície (50 pixels) em uma área de 512 pixels.

Fluorescência induzida por luz quantitativa (QLF)

Um conjunto QLF foi empregado. Este consistiu de diodos emitindo luz azul em um anel iluminador e uma câmera colorida CCD acoplada com um filtro amarelo. Lentes com comprimento focal de 50 mm e tubo de extensão de 20 mm foram usadas para capturar um campo de visão de aproximadamente 330 mm por 450 mm. As imagens foram capturadas em uma caixa preta evitando a

interferência de qualquer tipo de luz por meio de software apropriado (Esquema 1).

Propriedades ótimas de luz tais como fator de ganho e brilho foram determinados após a obtenção de histogramas dos valores de pixel do canal verde. Estas propriedades foram mantidas para todos os espécimes durante os ciclos de avaliação para assegurar que saturação de sinal não ocorreram até o final do estudo.

Após a normalização dos dados pelos valores encontrados no *Baseline*, a perda de intensidade de fluorescência verde, ΔF , na área de dentina exposta comparada a área de dentina coberta foi calculada da seguinte forma:

$$\Delta F = F(\text{NC}) - F(\text{C})$$

sendo $F(\text{NC})$ a intensidade de fluorescência verde na área exposta (“não coberta” com esmalte ácido-resistente) e $F(\text{C})$ a intensidade de fluorescência verde na área de dentina protegida por esmalte ácido-resistente (controle) (Figura 17 e 18A e 18B).

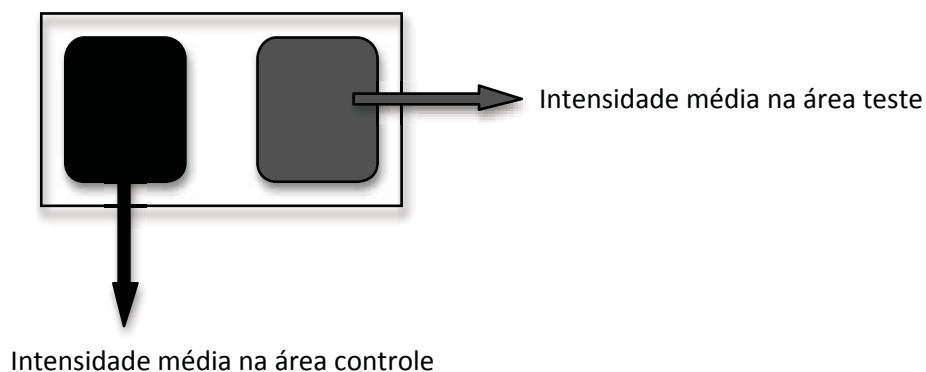


FIGURA 17 - Desenho esquemático da área teste ($F(\text{NC})$) – Intensidade de

fluorescência na região exposta aos desafios ácidos); e área controle (F(C) – Intensidade de fluorescência na superfície coberta por esmalte ácido-resistente).

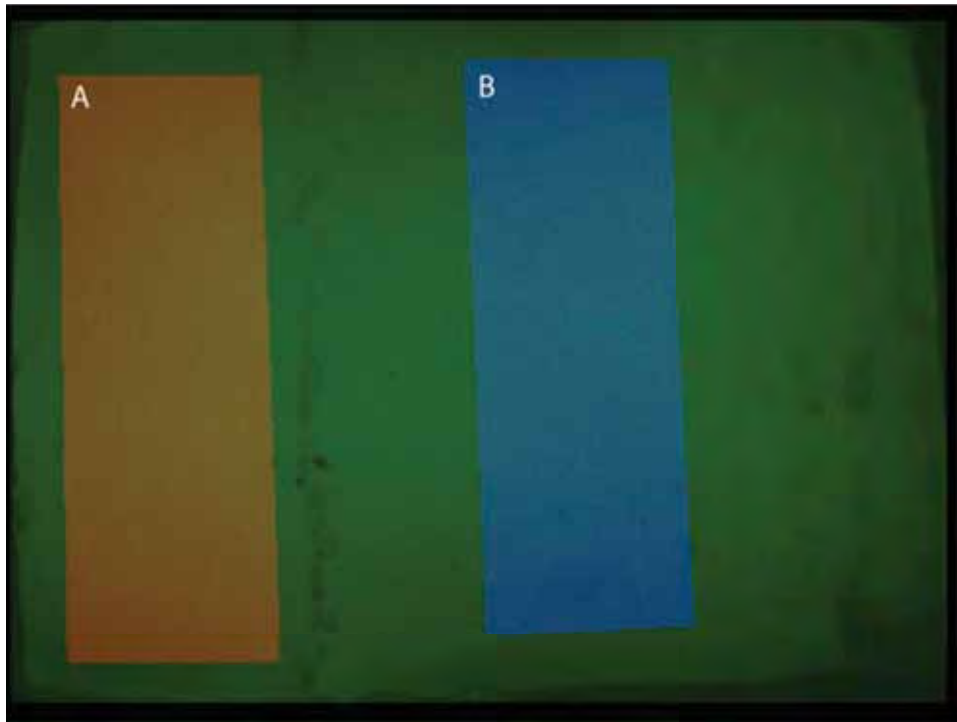
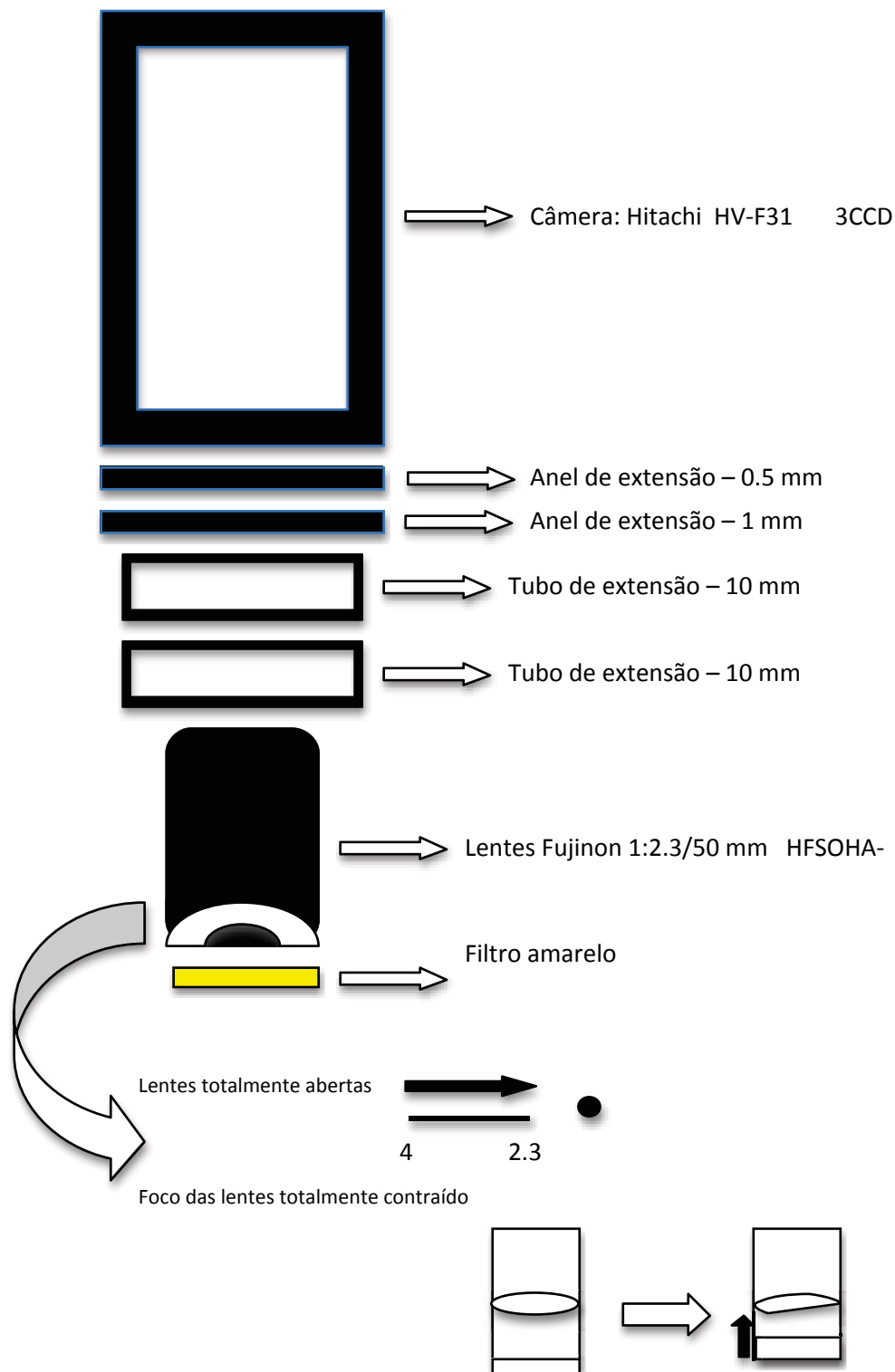


FIGURA 18 - A) Área de referência coberta com esmalte ácido-resistente; B) Área submetida aos ciclos de tratamento e desafio ácido.



ESQUEMA 1 - Especificações do QLF (Fluorescência de Luz Quantitativa) empregado no estudo.

ESTUDO III

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de odontologia de Araraquara, Universidade Estadual “Júlio de Mesquita Filho”, (Protocolo #60/10).

Preparo das amostras

O preparo das amostras foi realizado seguindo os mesmos passos do Estudo I (Páginas 33 e 34; Figuras 1, 2, 3, 4 e 5)³².

Grupos Experimentais

Os espécimes foram aleatoriamente distribuídos dentro de 3 grupos (n=10), de acordo com o tipo de tratamento:

- Grupo 1 (Controle Negativo): Água Destilada.
- Grupo 2 (5000 F): Dentifrício Duraphat[®] 5000 (Colgate Palmolive – 5000ppm de Flúor).
- Grupo 3 (Arginina): Colgate Pro-Alívio[®] (Colgate Palmolive – 8% de arginina, carbonato de cálcio).

O tratamento dos espécimes foi conduzido seguindo as instruções do fabricante. A área de dentina exposta foi cuidadosamente escovada com 3 g de dentifrício por 1 minuto. O dentifrício Duraphat[®] 5000 contém 5 mg de flúor em 1 g de dentifrício. Para o grupo controle, a área de dentina exposta foi escovada com água destilada por 1 minuto.

Após o tratamento, os espécimes foram cuidadosamente lavados com água destilada (15 mL).

Intervalo de desafio ácido

Imediatamente após o tratamento, os espécimes foram mantidos em um suco de laranja comercialmente disponível (Laranja caseira, Minute Maid Mais, Coca Cola[®], SP, Brasil) (pH 3.80 ± 0.04). O suco de laranja (15 mL) foi gentilmente agitado durante 5 minutos com auxílio de um agitador (Fisher Scientific[®]). Os espécimes foram removidos da bebida ácida e cuidadosamente lavados com 15 mL de água destilada com a finalidade de remover o excesso de ácido presente na superfície de dentina exposta.

O pH do suco de laranja foi medido a temperatura ambiente antes da realização do desafio ácido.

Avaliação da Permeabilidade Dentinária

Foi realizada de acordo com o estudo I³². No entanto, os estágios de avaliação seguiram o modelo citado abaixo (avaliação da permeabilidade foi realizada após cada estágio):

Estágio 1: *Baseline*. Permeabilidade dentinária foi medida antes do condicionamento ácido com a finalidade de observar se o ácido fosfórico foi capaz de abrir túbulos dentinários.

Estágio 2: aplicação tópica de ácido fosfórico a 37% sobre a superfície dentinária durante 30 segundos, com a finalidade de se obter permeabilidade máxima (100%), seguido por lavagem com água destilada (Figura 19A).

Estágio 3: Escovação usando escova sônica (Colgate Palmolive 360^o, Colgate Palmolive, SP, Brasil) de acordo com os grupos experimentais (Figura 19B).

Estágio 4: espécimes foram imersos em 15 mL de suco de laranja (Minute Maid Original, The Coca-Cola Company, Sao Paulo, SP, Brasil), por 5 minutos sob agitação, e lavados com água destilada (Figura 19C).

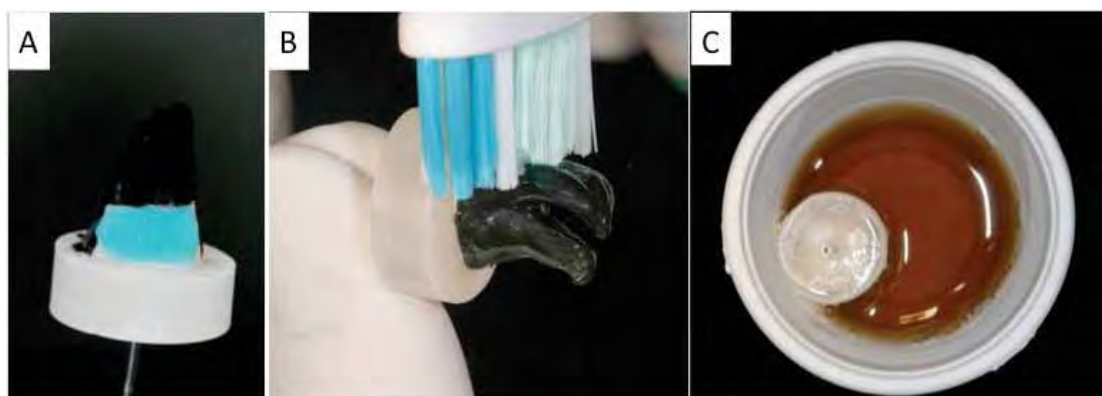


FIGURA 19 - A) Estágio 2: Aplicação de ácido fosfórico a 37%; B) Estágio 3: Tratamento seguindo os grupos experimentais; C) Estágio 4: desafio ácido com suco de laranja.

A condutância hidráulica foi expressa como uma porcentagem do valor máximo para cada espécime. Portanto, cada espécime foi considerado como seu próprio controle com a finalidade de analisar o efeito preventivo do dentifrício seguido por desafio ácido.

Capítulo 1

Artigo publicado na Brazilian Dental Journal



Effect of an Acid Diet Allied to Sonic Toothbrushing on Root Dentin Permeability: An *In Vitro* Study

Shelon Cristina Souza PINTO
Roberta Grasseli BATITUCCI
Michele Carolina PINHEIRO
Daniela Leal ZANDIM
Rubens SPIN-NETO
José Eduardo Cezar SAMPAIO

Department of Oral Diagnosis and Surgery, Araraquara Dental School, São Paulo State University, Araraquara, SP, Brazil

This study quantified alterations in root dentin permeability after exposure to different acid beverages. Twenty-five third molars were sectioned below the cemento-enamel junction, the root segment was collected, and the pulp tissue was removed. The root segments were connected to a hydraulic pressure apparatus to measure the permeability of root dentin after the following sequential steps, with 5 specimens in each: 1) phosphoric acid etching for 30 s (maximum permeability), 2) root planning to create new smear layer, 3) exposure to different acid substances for 5 min (orange, cola drink, vinegar, white wine, lemon juice), 4) toothbrushing with sonic toothbrush for 3 min, 5) toothbrushing with sonic toothbrush plus dentifrice for 3 min. Considering step I as 100%, the data were converted into percentage and each specimen was its own control. Data were analyzed statistically by Kruskal-Wallis and Dunn's post test at 5% significance level. All acidic substances increased dentin permeability significantly after scraping ($p < 0.05$). Toothbrushing after exposure to acid substances decreased dentin permeability and the association with dentifrice accentuated the decrease ($p < 0.05$), except for the specimens treated with cola drink. Thus, it may be concluded that all tested acid fruit juices increased dentin permeability, and toothbrushing with or without dentifrice can decrease root dentin permeability after dentin exposure to acid diet.

Key Words: acidic beverages, dentin, toothbrushing.

INTRODUCTION

Life expectancy has increased and patients have retained their natural teeth for a longer time due to effective preventive and treatment strategies for caries and periodontal disease. Consequently, there is a higher risk of developing cervical dentin hypersensitivity, as a result of physiological gingival recession (1).

Dentin hypersensitivity may be defined as pain arising from exposed cervical dentin as a result of chemical (erosive foods and drinks), thermal (hot and cold), mechanical (brushing) or osmotic stimuli of opened dentin tubules. This is a common problem found in many adult populations with a prevalence ranging from 8 to 57% (1,2).

Unfortunately, little information is currently available on the effects of acidic substances on dentin permeability and dentin hypersensitivity. It has

been demonstrated that acidic substances are able to remove the smear layer and open the dentin tubules. It is likely that acidic drinks are responsible for dentin hypersensitivity and for alterations in dentin permeability. A close relationship among open dentin tubules, dentin permeability and dentin hypersensitivity has been clearly demonstrated. The higher permeability the greater the clinical hypersensitivity (3,4).

As a second problem, other procedures such as toothbrushing and dentifrice application may modify dentin morphology and smear layer. However, acidic drinks applied immediately before brushing procedures may increase the risk of smear layer removal and alterations of dentin structure. Brushing with abrasive dentifrice for either sensitive or non-sensitive teeth causes occlusion of many or most dentin tubules, but with remarkable abrasion of dentin (5). Kuroiwa et al. (6) evaluated the brushing effects on the dentin exposed

to the oral cavity for 8 weeks, and revealed that brushing with an abrasive dentifrice for gingivitis did not occlude the dentin tubules, but caused erosion of the superficial layers of the exposed dentin. Under brushing without dentifrice, on the other hand, they found only little dentin abrasion and all dentin tubules were entirely occluded with the organic-mineral membrane or pellicle.

The aim of this *in vitro* study was to quantify alterations in root dentin permeability after exposure to different acid beverages, and brushing effect (sonic brush) with and without dentifrice after acid application.

MATERIAL AND METHODS

Specimens

This study was approved by the Research Ethics Committee of Araraquara Dental School, São Paulo State University, Brazil (Protocol number 52/04).

Twenty-five human third molars extracted for surgical reasons from young patients (mean age = 22 years) were used. The crowns were sectioned and only the root segment was used (n=5 for each group). The pulp tissue was removed with a Hedström file. The root segment was glued with cyanoacrylate adhesive to an acrylic resin apparatus, which permits the perfusion of the connected pressure fluid-filled system (Fig. 1).

Dentin Permeability Evaluation

For dentin permeability evaluation, the root segment was connected to a fluid-filled system working at a pressure of 10 psi. A microcapillary tube with 25 μ L diameter was positioned between the pressure reservoir and the root segment (Fig. 1). The length of the microcapillary tube was 65 mm. The length and

diameter of the microcapillary tube permitted calculation of the hydraulic conductance (7,8).

After preparation, the specimens were randomly assigned to 5 groups (n=5) according to the acidic beverage in which they were immersed. The pH of the beverages was measured at room temperature before each test: orange juice: 3.35, cola-drink: 2.45, vinegar: 2.47, white wine: 3.35 and lemon juice: 2.10.

Each specimen was connected to the hydraulic pressure apparatus to measure the dentin permeability of root dentin after the following sequential stages: Stage 1: Topical application of 37% phosphoric acid on dentin surface for 30 s to obtain the maximum permeability (100%) followed by rinsing with distilled water; Stage 2: Root planing with Gracey 5-6 curette (50 strokes - Millenium; Golgran Ind. Com. de Instrumentos Odontológicos Ltda, São Paulo, SP, Brazil) to create new smear layer, rinsed with distilled water; Stage 3: specimens were immersed in 5 mL of acid beverage for 5 min (Orange juice, cola drink, vinegar, white wine and lemon juice), rinsed with distilled water; Stage 4: Toothbrushing with sonic toothbrush and distilled water for 3 min, rinsing with distilled water; Stage 5: Toothbrushing with sonic toothbrush and 0.5 g of dentifrice (Colgate Sensitive; Colgate-Palmolive Ind. e Com. Ltda., São Paulo, SP, Brazil) for 3 min, and rinsing with distilled water.

The hydraulic conductance was expressed as a percentage of the maximum value for each specimen. Therefore, each specimen was taken as its own control.

Statistical Analysis

The linear displacement of the air blister in the microcapillary tube was measured, according to the time unit, in each stage. The most prevalent value was used to calculate the fluid flow through dentin. The flow obtained after stage I was considered the maximum permeability (100%), and the other values were expressed in percentages referring to that maximum.

Statistical analysis of data was performed across these values, using the GraphPad Prism 5.0 statistical software package (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA). Means and standard deviations of permeability values were calculated and compared. Kruskal-Wallis test and Dunn's post test were applied to evaluate the differences in permeability after each stage into the same group and to evaluate the different stages among different groups. Significance level was set at 5%,

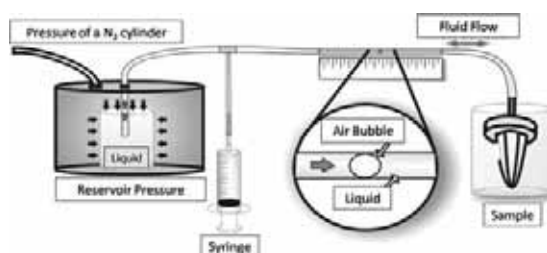


Figure 1. Schematic drawing showing how specimens were created and how fluid permeability was measured.

RESULTS

Dentin treated with 37% phosphoric acid served as the control group, whose permeability corresponded to 100%, as reported elsewhere (7). Distribution of dentin permeability data are shown on Table 1.

Table 2 shows the comparison of the experimental stages within the same material and among the materials.

DISCUSSION

The identification of etiologic factors that render dentin exposed and tubules open is an important factor for preventing and treating dentin hypersensitivity. Acidic

beverages contain citric acid, phosphoric acid, malic acid and others that are commonly used in operative dentistry to etch both enamel and dentin, and so frequent ingestion of these beverages can lead to loss of dental structure or smear layer removal, followed by dentin hypersensitivity (4,9). Pashley (8) observed that the teeth are not usually hypersensitive immediately after root scaling because the dentin tubules remain occluded by the smear layer created by instrumentation. However, toothbrushing and acid substances could promote loss of the smear layer, which allows fluid movement in the dentin tubules in response to stimuli.

In the present study, the smear layer was created by hand instrumentation with curettes for subsequent removal by the acidic substances. The presence of smear layer represents 86% of total resistance in dentin permeability and pulp tissue removal does not promote statistically significant difference in permeability (10). Thus, in the present study pulp tissue removal did not interfere with the results.

Hydraulic conductance offers proper analysis of dentin permeability qualitatively and quantitatively (11). Dentin tubule occlusion can occur along its extension, and this method reveals the presence of particles inside the tubules.

The studies on dentin permeability are important because the mechanism of fluid flow is related to the pain. The evaluation of dentin permeability is performed by calculating the hydraulic conductance by method of fluid filtration (12). This method is the measurement of a fluid volume forced through a dentin barrier on a determined hydrostatic pressure for unit of area, time and/or pressure. The movement of an air bubble introduced by a syringe into the system indicates the amount of fluid that passes through the exposed dentin (12), allowing the measure to be repeated in the same specimen.

A constant hydrostatic pressure of 10 psi was used. The fluid used was distilled water, which presents a good capacity to permeate dentin. This fluid has previously been used by our research group (13).

The hydraulic conductance varied according to the degree of dentin tubule occlusion, the area of surface and the dentin thickness, and this parameter varied with the experimental conditions. The tooth is unique regarding the morphology of dentin tubules, and thus the use of the same teeth as control is necessary (4,11,13). In this study and in previous ones, after acid etching of the teeth, the gauging of the dentin permeability was performed and this value was considered 100%. Thus,

Table 1. Mean values (%) and standard deviations of dentin permeability for all groups and stages.

Group	Stage	Mean (SD)
Orange Juice	2	49.00 (14.57)
	3	148.33 (29.17)
	4	115.00 (27.14)
	5	87.16 (28.47)
Cola drink	2	50.66 (25.88)
	3	139.83 (39.04)
	4	91.16 (25.19)
	5	62.83 (28.55)
Vinegar	2	28.83 (9.47)
	3	147.16 (49.42)
	4	95.16 (42.13)
	5	74.16 (21.25)
White wine	2	62.00 (10.13)
	3	132.00 (34.62)
	4	103.83 (48.89)
	5	79.33 (45.00)
Lemon	2	52.33 (13.55)
	3	187.83 (85.94)
	4	147.83 (79.57)
	5	118.00 (58.74)

the changes in permeability in this experiment were considered a percentage of Stage 1, using the Lp value as 100% flow permits evaluation of modifications in dentin permeability following the test treatments. Each specimen was its own control (4,6,11,12).

This study showed that exposure to acidic beverages removed the smear layer surface and increased dentin permeability. This data demonstrated that the

application of several acid beverages for a relatively short exposure of time is sufficient to remove the smear layer and to induce several alterations to the dentin surface. The specimens were kept immersed in acidic beverages for 5 min because this is the time necessary for the saliva to neutralize and/or remove the acid of the tooth surfaces (14). All the acidic beverages tested in this study increased the permeability after a single

Table 2. Comparison of the experimental stages within the same group and among the different groups.

	Orange Juice					Cola drink					Vinegar					White wine					Lemon					
	S1	S2	S3	S4	S5	S1	S2	S3	S4	S5	S1	S2	S3	S4	S5	S1	S2	S3	S4	S5	S1	S2	S3	S4	S5	
Orange Juice	S1																									
	S2		c	a			b					a					b						c	a		
	S3	c			a		b			a		c					b			a		b				
	S4	a										b														
	S5		a					a																		
Cola drink	S1											a														
	S2		b				b					a					b						b			
	S3	b			a		b			a		c				a						a				
	S4																									
	S5		a					a									a							b		
Vinegar	S1											b														
	S2		c	b		a		c			b	c			a		c						c	b	a	
	S3	a					a					c														
	S4																									
	S5																									
White wine	S1											a														
	S2		b				a										b						b			
	S3	b					b			a		c				b			a			b				
	S4																									
	S5		a														a							a		
Lemon	S1																									
	S2		b				a										b						c	a		
	S3	c					b			b		c				b			a			c				
	S4	a										b										a				
	S5											a														

Statistical analysis by Kruskal-Wallis and Dunn's post-test - (a) = $p < 0.05$, (b) = $p < 0.01$ and (c) = $p < 0.001$.

5-min application and may perfectly simulate the typical oral assumption that occurs several times a day. These results were also found in other studies (6,13).

The acid beverages that caused the highest increase in dentin permeability were lemon juice (187.83%), orange juice (148.33%), vinegar (147.16%), cola drink (139.83%) and white wine (184%). The pH of lemon juice (2.1) was the smallest, followed by coca-cola (2.45), vinegar (2.47), orange juice (3.35) and white wine (3.35).

The pH is an important factor that may influence in dentin erosion. The pH is easily obtained, and it is the most used index to indicate the acidic of a product. However, there are various other features of beverages that cause an increase in teeth abrasion, such as buffering capacity and the kind of acid present in the beverages (15,16). Although pH is the most used method, it is not the most accurate in the determination of erosion potential because it only indicates the initial acidity. The titratable or total acidity is a better method to indicate this potential, because it shows a total concentration of hydrogen ions (15). The acidic beverages used in this study were employed in normal concentration, in other words, they were not diluted. The dilution can decrease the titratable or total acidity, resulting that the more the solutions are diluted, the least are their erosive potential.

The next stage was toothbrushing of the specimens previously exposed to the acidic beverages. After toothbrushing, cola drink (139.83% to 91.16%) and white wine (132% to 103.83%) caused a significant decrease in dentin permeability. Orange juice (148.33% to 115%), vinegar (147.16% to 95.16%) and lemon juice (187.83% to 147.83%) did not diminish dentin permeability significantly. Zandim et al. (13), after application of different orange juices, observed that navel orange, valencia orange and Mandarin orange were more effective in removal of smear layer and exposure of dentin tubules in comparison with lime orange and lime, and the authors showed that toothbrushing without dentifrice tends to increase smear layer removal after orange juice application. This difference probably happened due to the acid features of each beverage. Although the orange juice showed larger pH, it is the beverage that presents greater erosive capacity as shown in a study by Prati et al. (6). Thus, the Canadian Advisory Board on Dentin Hypersensitivity advises the patients with risk of erosion or abrasion to brush their teeth before meals and avoid ingestion of acidic beverages.

The type of acid can also influence in the erosion potential. The citric acid present in orange juice and

lemon juice is one of the most erosive acids due to their chelating capacity, which is responsible for calcium seize from saliva and teeth. Lemon juice presents the greatest citric acid concentration (5-7%) among the tested beverages (16).

The acid that is found in wine is a mix of the fruit acids themselves (maleic, tartaric, citric, oxalic acid) and acids originated from fermentation, such as succinic, lactic, acetic and piruvic acid. The different proportions among these acids can explain the variation of pH among different wines. The most acid wine is white wine (16).

Vinegar is composed by acetic acid (about 5% in concentration) (16). Zandim et al. (17) evaluated the action of vinegars on exposure of dentin tubules, and used two methods for application. Topical application to simulate the contact of exposed cervical dentin with acid foods and drinks, and the active application by friction to verify if toothbrushing tends to accentuate the erosive action of dietary acids. The authors observed that vinegars were able to remove smear layer and open dentin tubules; alcohol, apple and rice vinegars caused the greatest effects.

The phosphoric acid is found mainly in soft drinks ("colas"). These soft drinks also have in their composition carbonic acid and show phosphate in excess, which damages the metabolism of calcium, favoring osteoporosis (16). The cola drink presented lower acid concentration than the other studied beverages, which can be responsible for the lower erosive potential observed in the present study. The cola drink was the acidic beverage that produced the smallest dentin permeability after exposure of specimens for 5 min (16).

In stage 5, all specimens were sonic brushed with dentifrice for 3 min. A large number of studies showed that toothbrushing with dentifrice was able to occlude dentin tubules or decrease dentin permeability, due to the presence of desensitizing agents or abrasives particles in the tubules (5,18,19). Other *in vitro* studies that used toothbrushing with dentifrice showed dentin abrasion or erosion to a variable degree and tubule opening. In the present study, toothbrushing with dentifrices decreased dentin permeability, though without significant differences. An explanation for this finding may be the application of acidic beverages before toothbrushing, without intervals between the exposure to the acid diet and the toothbrushing. According to West et al. (18), the same specimens were etched before toothbrushing with different dentifrices. The results showed that the dentifrices were able of obliterate dentin tubules.

In another study (20), specimens exposed to orange juice (5 min) after toothbrushing with dentifrice had almost all or all deposits removed, differing from the control group, which had totally obliterated tubules. Thus, it was concluded that citric acid presented greater erosive potential because orange juice very rapidly removed the surface deposits of dentifrices (20).

Caution must be exercised in extrapolating the present *in vitro* results to the *in vivo* condition, although optimal conditions were established to conduct this study and minimize biases. Our findings showed that an acid diet can remove smear layer and open dentin tubules, thus increasing dentin permeability. Subsequent brushing with sonic toothbrush and distilled water or dentifrice promoted a small decrease of dentin permeability.

Considering the methodology employed in the study, and based on its limitations, it may be concluded that acidic beverages are able of causing dentin tubule exposure by smear layer removal. Toothbrushing with dentifrice or not can decrease dentin permeability. However, this decrease is small when toothbrushing is performed soon after exposure to an acid diet.

RESUMO

Este estudo quantificou a alteração na permeabilidade da dentina radicular submetida a diferentes dietas ácidas. Vinte e cinco terceiros molares foram seccionados abaixo da junção cimento-esmalte, a raiz seccionada foi selecionada, e a polpa removida. A seguir, as amostras foram conectadas a um aparato de pressão hidráulica para medir a permeabilidade da dentina radicular de acordo com os seguintes passos: I) tratamento com ácido fosfórico por 30 s (permeabilidade máxima), II) aplainamento radicular para criar nova smear layer, III) exposição a diferentes substâncias ácidas por 5 min (suco de laranja, coca-cola, vinagre, vinho branco e suco de limão), IV) escovação com escova sônica por 3 min, V) escovação com escova sônica mais dentifricio, por 3 min. Os dados foram convertidos em porcentagem em relação ao passo I (100%) e cada amostra foi seu próprio controle. Os resultados mostraram que todas as substâncias ácidas aumentaram significativamente a permeabilidade dentinária após raspagem. Escovação após a exposição a substâncias ácidas diminuiu a permeabilidade e a associação com dentifricio aumentou a redução na permeabilidade dentinária; essa redução adicional não foi observada somente nas amostras tratadas com coca-cola. Com isso, pode-se concluir que todas as substâncias ácidas testadas aumentaram a permeabilidade dentinária, e a escovação com ou sem dentifricio pode diminuir a permeabilidade dentinária radicular após a exposição da dentina a dieta ácida.

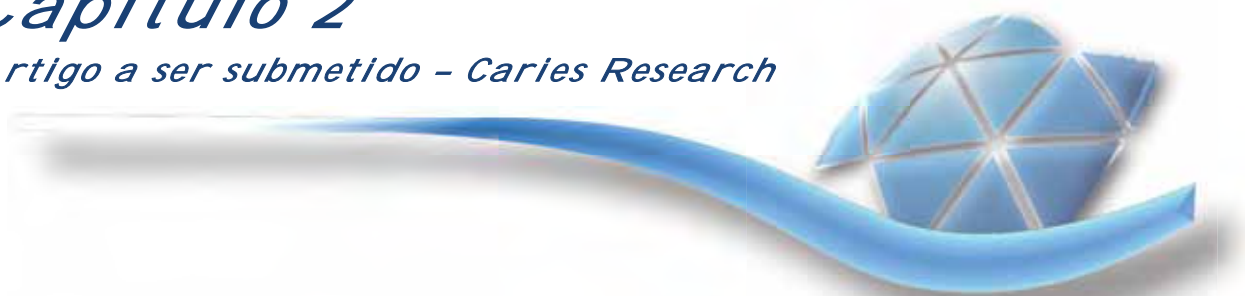
REFERENCES

- Ritter AV, de L Dias W, Miguez P, Caplan DJ, Swift EJ Jr. Treating cervical dentin hypersensitivity with fluoride varnish: a randomized clinical study. *J Am Dent Assoc* 2006;137:1013-1020.
- Ahmed TR, Mordan NJ, Gilthorpe MS, Gillam DG. *In vitro* quantification of changes in human dentine tubule parameters using SEM and digital analysis. *J Oral Rehabil* 2005;32:589-597.
- Erdemir U, Yildiz E, Kilic I, Yucel T, Ozel S. The efficacy of three desensitizing agents used to treat dentin hypersensitivity. *J Am Dent Assoc* 2010;141:285-296.
- Sauro S, Watson TF, Thompson I. Dentine desensitization induced by prophylactic and air-polishing procedures: An *in vitro* dentine permeability and confocal microscopy study. *J Dent* 2010;38:411-422.
- Petrou I, Heu R, Stranick M, Lavender S, Zaidel L, Cummins D, et al. A Breakthrough therapy for dentin hypersensitivity: how dental products containing 8% arginine and calcium carbonate work to deliver effective relief of sensitive teeth. *J Clin Dent* 2009;20:23-31.
- Kuroiwa M, Kodaka T, Kuroiwa M, Abe M. Dentin hypersensitivity. Occlusion of dentin tubules by brushing with and without an abrasive dentifrice. *J Periodontol* 1994;65:291-296.
- Prati C, Montebugnoli I, Suppa P, Valdrè G, Mongiorgi R. Permeability and morphology of dentin after erosion induced by acidic drinks. *J Periodontol* 2003;74:428-436.
- Pashley DH. Dentin permeability and dentin sensitivity. *Proc Fin Dent Soc* 1992;88:31-37.
- Ayad F, Ayad N, Zhang YP, DeVizio W, Cummins D, Mateo LR. Comparing the efficacy in reducing dentin hypersensitivity of a new toothpaste containing 8.0% arginine, calcium carbonate, and 1450 ppm fluoride to a commercial sensitive toothpaste containing 2% potassium ion: An eight-week clinical study on Canadian adults. *J Clin Dent* 2009(Spec Iss):10-19.
- Pashley DH, Kepler EE, Williams EC, Okabe A. The effects of acid etching on the *in vivo* permeability of dentine in the dog. *Arch Oral Biol* 1983;28:555-559.
- Zandim DL, Leite FRM, Sampaio JEC. *In vitro* evaluation of the effect of dietary acids and toothbrushing on human root dentin permeability. *Quintessence Int* 2010;41:257-263.
- Pashley DH, Livingston MJ, Reeder OW, Horner J. Effects of the degree of tubule occlusion on the permeability of human dentine *in vitro*. *Arch Oral Biol* 1978;23:1127-1133.
- Zandim DL, Corrêa FO, Rossa Júnior C, Sampaio JE. *In vitro* evaluation of the effect of natural orange juices on dentin morphology. *Braz Oral Res* 2008;22:176-183.
- Amaechi BT, Higham SM. Eroded enamel lesion remineralization by saliva as a possible factor in the site-specificity of human dental erosion. *Arch Oral Biol* 2001;46:697-703.
- Cairns AM, Watson M, Creanor SL, Foye RH. The pH and titratable acidity of a range of diluting drinks and their potential effect on dental erosion. *J Dent* 2002;30:313-317.
- Hannig C, Hamkens A, Becker K, Attin R, Attin T. Erosive effects of different acids on bovine enamel: release of calcium and phosphate *in vitro*. *Arch Oral Biol* 2005;50:541-552.
- Zandim DL, Corrêa FOB, Sampaio JEC, Rossa Jr C. The influence of vinegars on exposure of dentin tubules: a SEM evaluation. *Braz Oral Res* 2004;18:63-68.
- West NX, Hughes JA, Addy M. Dentine hypersensitivity: the effects of brushing toothpaste on etched and unetched dentine *in vitro*. *J Oral Rehabil* 2002;29:167-174.
- Wang Z, Sa Y, Sauro S, Chen H, Xing W, Ma X, Jiang T et al.. Effect of desensitizing toothpastes on dentin tubules occlusion: a dentine permeability measurement and SEM *in vitro* study. *J Dent* 2010;38:400-410.
- Abisi EG, Addy M, Adams D. Dentine hypersensitivity: uptake of toothpastes onto dentine and effects of brushing, washing and dietary acid - SEM *in vitro* study. *J Oral Rehabil* 1995;22:175-182.

Accepted March 17, 2010

Capítulo 2

Artigo a ser submetido - Caries Research



In vitro assessment of quantitative optical methods for assessing early dentine erosion progression and the evaluation of preventive treatments

S.C.S. Pinto^a, C.M. Zakian^b, H.P. Chew^c, I.A. Pretty^b, R.P. Ellwood^b, J.E.C. Sampaio^a.

^aDepartment of Oral Diagnosis and Surgery, Sao Paulo State University, Araraquara Dental School, Sao Paulo, Brazil.

^bColgate Palmolive, Dental Health Unit, The University of Manchester, Manchester, United Kingdom.

^cDepartment of Conservative Dentistry, Faculty of Dentistry, University of Malaya, Kuala Lumpur, Malaysia.

Detection and treatment of Dentine erosion: An In vitro Study.

Key Words

Dentine erosion • Surface microhardness test • Quantitative Light Fluorescence • Optical Coherence Tomography • Fluoride Toothpaste

Corresponding author:

Dr. Christian M. Zakian, BSc, PhD
Research Fellow

The Dental Health Unit, 3A Skelton House

Manchester, Manchester Science Park, Manchester M15 6SH

Tel: 0161 226 12 11. Fax: 0161 232 4700

E-mail: christian.zakian@manchester.ac.uk

Declaration of Interests:

Roger Philip Ellwood is an employer from Colgate Palmolive.

Abstract

The aim of the present study was to test two techniques for dentine erosion assessment and the impact of different toothpastes on the prevention of early erosion. Dentine de- and remineralization were evaluated through Surface Microhardness (SMH) and compared to Quantitative Light-induced Fluorescence (QLF) and Optical Coherence Tomography (OCT). Human dentine specimens were treated with toothpaste or mineral water (control group) followed by an erosive challenge and storage overnight in artificial saliva. These procedures were performed over 5 days. For the control group, toothpaste treatment was excluded. The following two dentifrices were tested: Duraphat[®] 5000 (5000 ppm Fluoride) and Colgate ProRelief[®] (8% arginine plus calcium carbonate and 1450 ppm Fluoride). All groups have shown a progressive decrease of SMH and increasing of scattering for OCT, indicating mineral loss and the tested toothpastes demonstrated significantly less softening than control group. No statistical significant among groups were found for QLF. SMH was able to detect statistical differences between the toothpaste treatment and a higher preventive effect was found with the 5000 ppm treatment. Thus, SMH and OCT techniques were able to detect a protective effect when toothpaste slurries were used prior the acid challenge in vitro.

Introduction

Epidemiological studies suggest that the prevalence and incidence of pathological tooth wear (TW) is increasing [Dugmore and Rock 2003; Sanhoury et al., 2010]. The aetiology of the spectrum of TW presentations is complex but early detection, therapeutic interventions to prevent further tooth wear, and education to minimize causative factors are key to preventing the condition becoming a significant problem later in life [Lussi et al., 2008; Hornby et al., 2009].

Clinical assessment and monitoring of dental erosion *in vivo* is challenging [Huysmans et al., 2011]. A number of clinical indices have been proposed [Bartlett, Ganss and Lussi 2008; Margaritis et al., 2011] but these are unlikely to be sensitive enough to quantify erosion with sufficient sensitivity to allow comparison of different treatments [Margaritis et al., 2011]. It is possible that some of the techniques predominantly employed for the assessment of dental caries such as Quantitative light-induced fluorescence (QLF) and Optical coherence tomography (OCT) may also have utility for the assessment for erosion both *in vivo* and *in vitro*. Quantitative light-induced fluorescence (QLF) is a visible light system that allows detection of early caries and the longitudinal monitoring of changes over time [Stookey 2004, Pretty 2006]. Previous studies have reported a direct relationship between the mineral content of the enamel with its optical properties, particularly fluorescence loss measured by QLF [Stookey 2004, Pretty et al., 2003].

Optical coherence tomography is a high-resolution non-destructive optical technique [Brezinski 2006]. It produces cross-sectional images of internal biological structures, employing near-IR low-coherence light, to obtain images at a depth of 1-2 mm in scattering tissues such as human dentine [Lee et al., 2009].

Therapeutic approaches for the control of enamel and dentine erosion are also clearly important. Studies have evaluated the use of fluoride to protect dental tissues from an acid challenge. Formation of fluorapatite will reduce enamel and dentine solubility [Saxegaard and Rölla 1988] and it has been suggested that the use of toothpaste with high fluoride concentration may reduce tooth erosion [Diamanti et al., 2010]. However, conflicting results were obtained from different experimental conditions and study designs [Hornby et al., 2009; Magalhães et al., 2008; Wang et al., 2011]. The addition of calcium carbonate to sodium monofluorophosphate toothpaste has been shown to reduce demineralization and enhance remineralisation [Cury et al., 2005].

A new toothpaste formulation based upon 8% arginine, calcium carbonate, and 1450ppm fluoride as sodium monofluorophosphate has been developed and validated as a highly effective treatment for dentine hypersensitivity [Cummins 2009; Petrou et al., 2009]. The mode of action relies on the precipitation of calcium and phosphate containing material on the tooth surface and it is possible that this layer may also afford some protection against acid erosion.

The aims of the present in vitro study were to compare novel detection methods (OCT and QLF), as well as to evaluate a high fluoride toothpaste (Duraphat™ 5000 ppm Fluoride Toothpaste) and a 8% arginine, calcium carbonate, sodium monofluorophosphate toothpaste (Colgate Sensitive Pro-Relief™) as a possible preventive treatment for dentine erosion.

Material and Methods

Preparation of Dentine Specimens

Twenty-four extracted, caries free human third molars previously stored in normal saline were used in the study. A high-speed cylindrical diamond bur (KG Sorensen, Barueri, SP, Brazil) was used under copious irrigation to make two parallel grooves 0.5mm deep on the root surfaces of each tooth (buccal and lingual): one at the cemento-enamel junction and the other 4 mm apical to the first. The area between the two grooves was flattened with the same bur [Leite et al., 2010] leading to removal of cementum and dentine exposure. The roots were then cut in the first groove in order to remove the crown. Two dentine blocks, approximately 3x5 mm, were obtained from each tooth, one from the buccal and one from the lingual surface, obtaining a total of 48 specimens.

One half of the exposed surface was protected with a non-residue masking tape while the other half was coated with a thin layer of acid resistant varnish, transparent nail polish (Revlon, Manchester, UK), that served to protect the sound root as the control area before exposure to the demineralization solution. After the application of the varnish was completed, the masking tape was removed to leave that half to be exposed to the acid-challenge intervals.

During the evaluations, specimens were kept in 1ml of distilled water. The specimens were air dried for 10 seconds with compressed air fixed at 10 cm from the teeth before QLF and OCT assessment.

Baseline: Specimens were stored in artificial saliva for 1 day before evaluating in QLF and OCT techniques and surface microhardness measurements recorded (Figure 1).

Treatment

Each dentine specimen was immersed in toothpaste (3 g toothpaste/ 10 ml distilled water, in a total of 153 g toothpaste/ 510 ml distilled water) for 3 min at temperature and pH controlled under constant stirring on a magnetic stirrer (IKA™ C-MAG MS10, IKA™ Werke GmbH & Co.KG/ Germany). The following groups were tested:

- Group 1 - Control: Negative Control (Volvic™, Mineral water, pH 7.8)
- Group 2 – 5000F: Duraphat™ 5000 toothpaste (Colgate Palmolive – 5000ppm Fluoride, pH 8.3).
- Group 3 - Arginine: Colgate Pro-Relief™ (Colgate Palmolive – 8% arginine, calcium carbonate, pH 8.8).

After treatment, the specimens were carefully rinsed with distilled water (15 ml). The OCT, QLF and SMH evaluations performed again.

Erosion-cycle (Acid-challenge intervals)

Specimens were suspended with plastic rods in a commercially available orange juice (Sainsbury's® Orange Juice, Manchester, UK) (pH 3.72±0.03). Two 1-litre beakers were used with eight specimens suspended in 600 ml of orange juice in each beaker, and the orange juice was gently stirred with a magnetic stirrer (IKA™ C-MAG MS10, IKA™ Werke GmbH & Co.KG/ Germany) for 15 minutes. The specimens were removed from the orange juice and carefully rinsed with 15 ml of distilled water to remove acid excess from the surface.

For the negative control group, specimens were kept in 600 ml of a non-carbonated mineral water (Volvic™, Danone Ltd, Manchester, UK), since it cannot provoke neither de- or remineralizing effects [Shellis 1988], under 3 min of constant stirring.

The measurements were performed during 5 days (day 1- baseline; after treatment and after erosion; day 2-5- after treatment and after erosion). The orange juice was changed after every 15 minutes of erosion.

Storage overnight

The specimens were incubated overnight (10 hours) in 5 ml artificial saliva among each cycle, with temperature and pH controlled. The composition of the artificial

saliva prepared was: 1.5 mmol/l $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 0.9 mmol/l $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 150 mmol/l KCl; 0.02 mol/l $\text{H}_2\text{NC}(\text{CH}_2\text{OH})_3$ (TRIS); 0.05 $\mu\text{g/ml}$ NaF, pH 7.0 [Vieira et al., 2005].

Surface Microhardness

Surface Microhardness measurements were performed with a Knoop diamond under a force of 10 g applied for 5 seconds (Microhardness Tester FM-700; Future-Tech Corporation, Japan) [Hara et al., 2003]. The teeth were placed flat on the translation stage and fixed at a reproducible position with the precision view of the micro-indenter. A surface area of approximately $1 \times 1 \text{ mm}^2$ that is perpendicular to the direction of the load of the indenter was identified at the uncoated half of the dentine window for indentation. Three indentations were made on each specimen during each measurement time point at the identified area. The Knoop numbers (K) were calculated and averaged [de-Melo et al., 2010]. The outcome of surface microhardness change (SMC) was calculated based upon the differences between the surface microhardness of at baseline and the subsequent time intervals (normalized data). The SMC was calculated as:

$$\text{SMC} = \frac{(\text{K}_b - \text{K}_d)}{\text{K}_b}$$

with K_b as the mean Knoop microhardness number at baseline and K_d as the mean Knoop number after demineralization.

Specimens were stored in distilled water among the assessments to keep them constantly hydrated, as drying of the dentine would cause changes in hardness and contraction [Chu and Lo 2008].

Optical Coherence Tomography (OCT)

A commercially available OCT system (OCS1300SS, Thorlabs Ltd, UK) was used to capture cross sectional images of the eroded dentine area. The OCS1300SS uses the Fourier Domain technology and incorporates a broadband, frequency swept laser and the output centered at $1325\mu\text{m}$. It has an axial resolution of $9 \mu\text{m}$ and transverse resolution of $15 \mu\text{m}$ in air. The hand probe was mounted on a 'stand' with the beam facing downwards. The specimens were placed on a translational stage perpendicular to the hand probe. The stage was fixed with a repositioning jig that enables the sample to be repositioned to the same position and alignment during the different measuring time point.

The OCT light beam was configured to scan a length of 5mm at x-axis direction and an axial depth of 3mm. The y-axis position of the light beam on the tooth surface was located at a cross section with the least observed specular reflection. The X and Y

coordinate of the light beam for each specimen was recorded for replication at all the measuring time points. The distance of the specimen surface to the probe was determined using the most convex area at 3.0 ± 0.1 mm from the top margin in the displayed window of the image capture software. The dynamic range of the OCT light was maintained to be around 20 – 30 decibels (dB). The background noise was removed before the acquisition of each image.

A customized MATLAB-generated program (MathWorks, California, US) was used to analyse the changes of the intensity for OCT backscattered light in time (Figure 2). The B-scans of each sample from the different measuring time points were aligned and a similar region of interest was selected for all measuring time points (16 A-scans in each specimen). After normalization of the data, a mean depth-resolved intensity curve was then generated. The attenuation or extinction (A_t) of the intensity of the backscattered light at the demineralized area is represented by the function below

$$A_t = \frac{I_{\text{subsurface}}}{I_{\text{surface}}}$$

$I_{\text{subsurface}}$ is the intensity of backscattered light at a subsurface level which is not affected by demineralization (50 pixels below of dentine surface). I_{surface} is intensity of backscattered light at a superficial level where demineralisation occurred (10 pixels below of dentine surface).

Quantitative Light-induced Fluorescence (QLF)

A bespoke QLF set up was employed. The set-up consisted of blue light-emitting diodes in a ring illuminator casing and a 3-charged coupled device (CCD) colour camera installed with a long-pass yellow filter. A 50 mm focal length-imaging lens with a 20 mm extension tube was used to capture a field of view of approximately 330 mm by 450 mm. The images were taken in a dark enclosure and the capturing of the images was done via bespoke software.

Optimum lighting properties such as the gain factor and brightness were determined after obtaining histograms of the pixel value of the green channel for all samples before subjected to erosion to ensure that saturation of signal did not occur towards the end of the study.

After the data normalization by baseline, the loss of intensity of green fluorescence, ΔF , at the non-coated area as compared to the coated area (Figure 3) was calculated as follows:

$$\Delta F = F(\text{NC}) - F(\text{C})$$

With F(NC) as the intensity of green fluorescence at the non-coated area and F(C) the intensity of green fluorescence at the coated area.

Statistics

The primary outcome variables were the change in Knoop Hardness Number (SMH, gold standard), Quantitative Light Fluorescence (QLF) and Optical Coherence Tomography (OCT) during the demineralization/remineralization cycles. Histograms showed a normal distribution of the data. Comparison among the time periods for each technique was undertaken using ANOVA with Repeated Measures Test, as these values are dependent. The groups were compared in each time period using One-Way ANOVA. These tests were performed using SPSS version 19.1 (SPSS Inc., IBM Company, United States).

Results

Microhardness

Mean and standard deviation values of surface microhardness SMH in sound and following pre-softening as well as during the cycles are given provided in Table 1. It shows that, at the end of the cycles (5 days of treatment and erosive challenge - once per day) all groups presented lower values compared to their corresponding pre-softened readings.

As expected, Group 1 - Control presented a higher decrease of SMH values, revealing more dentine mineral loss than Groups 2 – 5000F and 3 - Arginine due to their exposure to citric acid at different time intervals. A statistically significant difference from Baseline was observed for all time intervals in Group 1 and Group 3. For Group 2, this difference was observed at 45 min acid challenges interval and onwards (Repeated measures ANOVA, $p < 0.05$) (Figure 2).

The statistical analysis revealed significant differences (One-way ANOVA, $p < 0.05$) between groups for each time point. Group 2 – 5000F was able to prevent dentine erosion better than Group 3 - Arginine, however after 45 min in erosion both groups did not show statistical differences (Figure 4).

Quantitative Light-induced Fluorescence (QLF)

Table 1 gives an overview of mean and standard deviation of QLF metrics measured at each cycle. No statistically significant differences were found when a comparison among time intervals was evaluated (Repeated Measures ANOVA, $p < 0.05$).

Comparison among groups for each time intervals revealed greater erosive effect for Group 1- Control than Group 2- 5000F and 3- Arginine after 15 min stirring in orange juice. No statistical significant differences were found among groups for the remaining time intervals (Figure 5).

Optical Coherence Tomography (OCT)

Table 1 shows mean values and standard deviations of optical coherence tomography measurements at each cycle of evaluation. It shows that, at the end of the cycles, Groups 1- Control and 3- Arginine presented lower values compared to their corresponding pre-softened readings. No statistically significant differences were found between baseline and after erosion on the last cycle (cycle 5) for Group 2- 5000F and 3- Arginine (ANOVA with repeated measures, $p>0.05$).

Comparison among the time intervals showed significant more scattering after 75 min of orange juice exposure for Group 1. Group 1 also presented statistically significant differences comparing baseline with 15 min, 30 min, 60 min and 75 min of acid-challenge. However, no differences have been shown among the acid-challenge intervals (evaluations after orange juice exposure) (Figure 6).

Demineralization was most severe in the Group 1 – Control. No significant differences were found between the toothpaste groups.

Comparison among techniques

The relation among techniques was analysed comparing the statistical differences among groups and among time intervals for each group. SMH and OCT data showed similar trend over time. However, after the first erosive challenge, OCT was not able to detect significant differences of scattering in each time interval. QLF and SMH data were not able to demonstrate the same similarity than OCT and SMH. SMH was considered the gold standard, since this methodology has been shown a successful technique to analyse dental erosion in previous researches [Lussi et al., 2008; Lussi et al., 2011; Bertassoni et al., 2011].

Discussion

The purpose of this study was to determine whether quantitative light-induced fluorescence (QLF) and optical coherence tomography (OCT) could be used to non-destructively assess dentine erosion on root surfaces, trying to find a method that could be applied in vivo. A further aim was to demonstrate whether the methodologies are able to detect if the lesions are less susceptible to erosive challenge after treated with two different toothpastes.

In order to evaluate the utility of QLF and OCT to measure dentine erosion, SMH was used as a gold standard technique. SMH is a simple way to obtain accurate information about early erosion in vitro [Diamanti et al., 2010; Schlueter et al., 2011] and the measurements can be performed with either a Knoop or a Vickers diamond indenter. In the present study, a Knoop diamond indenter has been chosen, which is more sensitive to changes in the most superficial layer of an eroded lesion [Schlueter et al., 2011].

Although flattened polished surfaces are necessary for the accurate assessment using the microhardness technique [Schlueter et al., 2011], such surfaces have been shown to be more susceptible to acids challenge than natural, non polished, surfaces [Ganss et al., 2000]. Therefore, non-polished specimens were used in this study. Due to the small measurement area, the natural curvature of the tooth may not pose a particular problem for hardness measurements in this study design [Attin, 2006].

SMH and OCT data have demonstrated similar trend over time. Prior studies have shown that OCT presents a potential for quantitative estimation of dentine lesion depth and mineral loss [Natsume et al. 2011]. The present study demonstrated good agreement between techniques for the first measurements; however changes during time intervals for days 2, 3, 4 and 5 were not as evident for OCT.

Despite SMH has been used extensively to test dental erosion, some limitations can also be demonstrated for this methodology. The indentations can be reduced in length by 30% 24 hours after indentation [Herkstroter et al., 1989], due to retraction of exposed matrix after compression and shrinkage due to desiccation, which may suggest that hardness is not the best method to test dentine erosion [Schlueter et al., 2011]. Trying to avoid this limitation, surface SMH was performed 3 hours after orange juice exposure and wet surfaces were used. Considering the experimental design proposed for this study, the time interval to perform the evaluation could not be more than 3 hours, since it was necessary to measure the dentine specimens 2 times per day. Larger indentations may explain the higher statistical significant differences found to SMH compared to OCT in most of time intervals.

Quantitative light-induced fluorescence was not able to show a relationship with SMH. Although QLF has been used as a successful technique to detect initial caries in enamel [Durmusoglu et al., 2011; Lippert et al., 2011], the same was not observed for dentine lesions. The measurement of enamel erosion has been demonstrated in enamel – but again not in dentine [Pretty et al., 2004]. Differences in optical properties between enamel and dentine may explain the results obtained when dentine erosion is measured by

QLF. Dentine has a more complex structure, consisting of collagen-based organic matrix, minerals and tubules; hydroxyapatite crystals of dentine are smaller than those of enamel [Zolotarev and Grisimov 2001]. Furthermore, QLF can be affected to some extent by the wet or dry surfaces, by stains and fissure morphology [Ferreira Zandoná et al., 1998].

QLF traditionally monitors fluorescence loss following enamel demineralisation. While a number of mechanisms have been proposed for this each of them would suggest that, when considering the assessment of dentine, an *increase* in fluorescence would be noted. Given the high chance of image saturation the small differences seen in fluorescence gain in dentine samples may not be detected by the current QLF systems.

The QLF results showed higher fluorescence (as predicted) after 75 min stirring in orange juice. These results also seemed to be affected by the reference area, which presented a *loss* of fluorescence over time. The presence of stains due to repeated exposure to orange juice in association with varnish might be an explanation for the decreasing of fluorescence in the reference area.

Another explanation for the increasing of fluorescence may be related with the high collagen exposure after repeated exposure to acid challenges. Considering the mechanisms of QLF and the optical properties of dentine the QLF technique may not be a suitable means of measuring dentine erosion [Banerjee and Boyde 1998].

Due to the reported increase in the prevalence of dental erosion [Dugmore and Rock 2003; Sanhoury et al., 2010], approaches to control dentine erosion will become increasingly important. The study has tested two dentifrices as potential inhibitors of dentine erosion, Duraphat[®] 5000 (5000 ppm Fluoride) and ProRelief[®] (1450 ppm Fluoride) (Colgate Palmolive Ltd).

Rios et al. [2008] have tested two concentrations of fluoride toothpaste (1,100 ppm and 5,000 ppm) in enamel erosion and no statistical significant differences were found between them. However, Diamanti et al. [2010] found higher preventive effect of dentine erosion for 5000ppm and 2800 ppm F than 1450 ppm F toothpaste.

The dissimilarities in experimental parameters, such as different remineralization ratios and mineral content, distribution of initial artificial lesions (enamel or dentine), different periods of acids challenges and treatments may explain the different results reported to date in the literature.

In agreement with previous studies [Magalhães et al., 2008; Diamanti et al., 2010], this current study has demonstrated that fluoride application is effective in increasing dentine's resistance to erosive challenge. Surface adsorption and hetero-ionic

exchange with surface hydroxyl ions are important mechanisms to fluoride uptake by apatite crystals [Diamanti et al., 2010]. In the present study, high and low fluoride concentrations were applied to partially demineralized dentine over a large surface, which provides a wide reactive area prior to each period of remineralization. It is known that fluoride can cause a marked inhibition of hard tissue dissolution by acid, if it is in sufficient concentration [Diamanti et al., 2010].

Besides fluoride, other dentifrice components have been considered for teeth wear treatment. The presence of calcium and calcium sources are also an important influence in the overall balance of dental re- and demineralization in erosive processes. Calcium carbonate and sodium monofluorophosphate dentifrices have been shown to reduce enamel demineralization and enhance remineralization in situ [Hara and Zero 2008].

An innovative technology by combining arginine and calcium carbonate with sodium monofluorophosphate, Colgate ProRelief™, has been developed for treating dentine hypersensitivity [Cummins 2009]. In this study, ProRelief™ was as effective than Duraphat™ toothpaste to increase the dentine's resistance to erosive losses. A prior study [Petrou et al., 2009] has clearly shown that the arginine associated with calcium carbonate is highly effective in occluding dentinal tubules. The authors also demonstrated that the occlusion achieved is resistant to acid challenges. Arginine is able to facilitate the adherence of calcium carbonate to the surface in a basic pH. Furthermore, arginine and calcium carbonate triggers the deposition of phosphate on dentine surface and within dentinal tubules [Petrou et al., 2009].

For the acid resistance test period, as expected, all groups have shown a progressive decreasing of surface microhardness and an increasing of scattering for OCT, indicating dentine mineral loss, due to their exposure to orange juice. Nevertheless, at the end of the experimental design, the experimental groups demonstrated significantly less softening than the control. During the treatment phases, the control group has also shown some remineralization, which probably explained by the exposure to artificial saliva overnight. However, the protection provided by a very thin pellicle is small [Amaechi et al., 1999] and does not withstand a subsequent acid challenge.

Although OCT has shown relation with surface microhardness to detect dentine de- and remineralization, the methodologies have still limitations. Therefore, a combination of techniques should be employed to assess dentine erosion in vivo.

As demonstrated in the present study, dentifrice application prior to an erosive challenge seems to confer a protective effect but did not completely inhibit progressive erosion. It should be noted that the challenge in this in vitro study was substantial and likely to be in excess of that experienced in vivo.

Conclusion

The results suggest that the dentifrices may present a protective effect against acid challenges on exposed dentine surfaces.

There is a need to consider the development of detection devices and clinical trial methodologies that can be applied in vivo. The complex aetiology of erosion combined with the cyclical nature of the challenge present significant challenges for researchers in this increasingly important area of mineralised tissue study.

Acknowledgment

This study was supported by CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior). We thank Prof. Marília Afonso Rabelo Buzalaf (Sao Paulo University, Bauru, SP) for the artificial saliva preparation and Mr. Brian Bader for the assistance during the specimen preparation.

References

- Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM, Milosevic A: Thickness of acquired salivary pellicle as a determinant of the sites of dental erosion. *J Dent Res* 1999;78: 1821-1828.
- Attin T: Methods for assessment of dental erosion. *Monogr Oral Sci* 2006;20: 152-172.
- Banerjee A, Boyde A: Autofluorescence and mineral content of carious dentine: scanning optical and backscattered electron microscopic studies. *Caries Res* 1998; 32(3):219-26.
- Bartlett D, Ganss C, Lussi A: Basic Erosive wear examination (BEWE): a new scoring system for scientific and clinical needs. *Clin Oral Investig* 2008;Suppl 1: 565-568.
- Bertassoni LE, Habelits S, Marshall SJ, Marshall GW: Mechanical recovery of dentin following remineralization in vitro – An indentation study. *J Biomechanics* 2011;44: 176-181.
- Brezinski M: Optical coherence tomography: principles and applications. London: Elsevier; 2006.
- Chu CH, Lo EC: Microhardness of dentine in primary teeth after topical fluoride applications. *J Dent* 2008;36(6): 387-391.
- Cummins D: Dentin Hypersensitivity: From diagnosis to a breakthrough therapy for everyday sensitivity relief. *J Clin Dent* 2009;20(Spec Iss): 1-9.
- Cury JA, Simoes GS, Del Bel Cury AA, Gonçalves NC, Tabchoury CP: Effect of a calcium carbonate-based dentifrice on in situ enamel remineralization. *Caries Res* 2005;39: 255-257.
- De-Melo MA, Passos VF, Alves JJ, Barros EB, Santiago SL, Rodrigues LK: The effect of diode laser irradiation on dentin as a preventive measure against dental erosion: an in vitro study. *Lasers Med Sci* 2011;26: 615-621.
- Diamanti I, Koletsi-Kounari H, Mamai-Homata E, Vougiouklakis G: Effect of fluoride and of calcium sodium phosphosilicate toothpastes on pre-softened dentine demineralization and remineralization in vitro. *J Dent* 2010;38: 671-677.
- Dugmore CR, Rock WP: The progression of tooth erosion in a cohort of adolescents of mixed ethnicity. *Int J Paediatric Dent* 2003;13: 295-303.
- Durmusoglu O, Tagtekin DA, Yamkoglu F: Clinical evaluation of demineralization and remineralization of intact root surface lesions in the clinic by a quantitative light-induced fluorescence system. *Lasers Med Sci* 2011 [Epub ahead of print].

- Ferreira Zandoná AG, Analoui M, Schemehorn BR, Eckert GJ, Stookey GK: Laser fluorescence detection of demineralization in artificial occlusal fissures. *Caries Res* 1998; 32(1):31-40.
- Ganss C, Klimek J, Schwarz N: A comparative profilometric in vitro study of the susceptibility of polished and natural human enamel and dentine surfaces to erosive demineralization. *Arch Oral Biol* 2000;45(10): 897-902.
- Hara AT, Queiroz CS, Paes Leme AF, Serra MC, Cury JA: Caries progression and inhibition in human and bovine root dentine in situ. *Caries Res* 2003;37: 339-344.
- Hara AT, Zero DT: Analysis of the erosive potential of calcium-containing acidic beverages. *Eur J Oral Sci* 2008;116: 60-65.
- Herkstroter FM, Witjes M, Ruben J, Arends J: Time dependency of microhardness indentations in human and bovine dentine compared with human enamel *Caries Res* 1989;23: 342-344.
- Hornby K, Evans M, Long M, Joiner A, Laucello M, Salvaderi A: Enamel benefits of a new hydroxyapatite containing fluoride toothpaste. *Int Dental J* 2009;59: 325-331.
- Huysmans MC, Chew HP, Ellwood RP: Clinical studies of dental erosion and erosive wear. *Caries Res* 2011;45(suppl1): 60-68.
- Lee C, Darling CL, Fried D: Polarization-sensitive optical coherence tomography imaging of artificial demineralization on exposed surfaces of tooth roots. *Dental Mat* 2009;25: 721-728.
- Leite FR, Sampaio JE, Zandim DL, Dantas AA, Leite ER, Leite AA: Influence of root-surface conditioning with acid and chelating agents on clot stabilization. *Quint Int* 2010;41(4): 341-349.
- Lippert F, Lynch RJ, Eckert FJ, Kelly SA, Hara AT, Zero DT: In situ fluoride response of caries lesions with different mineral distributions at baseline. *Caries Res* 2011;45(1): 47-55.
- Lussi A, Megert B, Eggenberger D, Jaeggi T: Impact of different toothpastes on the prevention of erosion. *Caries Res* 2008;42: 62-67.
- Lussi A, Schlueter N, Rakhmatullina E, Ganss C: Dental Erosion – An overview with emphasis on chemical and histopathological aspects. *Caries Res* 2011;45(suppl1): 2-12.

- Magalhães AC, Rios D, Machado MA, Silva SMB, Buzalaf MA: Effect of Nd:YAG irradiation and fluoride application on dentine resistance to erosion in vitro. *Photomed Laser Surg* 2007;26(6): 559-563.
- Margaritis V, Mamai-Homata E, Koletsi-Kounari H, Polychronopoulou A: Evaluation of three different scoring systems for dental erosion: A comparative study in adolescents. *J Dent* 2011;39: 88-93.
- Natsume Y, Nakashima S, Sadr A, Shimada Y, Tagami J, Sumi Y: Estimation of lesion progress in artificial root caries by swept source optical coherence tomography in comparison to transverse microradiography. *J Biomed Opt* 2011;16(7):071408.
- Petrou I, Heu R, Stranick M, Lavender S, Zaidel L, Cummins D, Sullivan R, Hsueh C, Gimzewski JK: A breakthrough therapy for dentin hypersensitivity: How dental products containing 8% arginine and calcium carbonate work to deliver effective relief of sensitive teeth. *J Clin Dent* 2009;20(Spec Iss): 23-31.
- Pretty I: Caries detection and diagnosis: novel technologies. *J Dent* 2006;34(10): 727-739.
- Pretty IA, Edgar WM, Higham SM: The validation of Quantitative light-induced fluorescence to quantify acid erosion of human enamel. *Arch Oral Biol* 2004;49:285-294.
- Pretty IA, Ingram GS, Agalamanyi EA, Edgar WM, Higham SM: The use of fluorescence to monitor de- and re-mineralization of in vitro root caries. *J Oral Rehabil* 2003;30: 1151-1156.
- Rios D, Magalhães AC, Polo RO, Wiegand A, Attin T, Buzalaf MA: The efficacy of a highly concentrated fluoride dentifrice on bovine enamel subjected to erosion and abrasion. *J Am Dent Assoc* 2008;139: 1652-1656.
- Sanhoury NM, Ziada HM, Ahmed GI, Kamis AH: Tooth surface loss, prevalence and associated risk factors among 12-14 years school children in Khartoum State, Sudan. *Community Dent Health* 2010;27(4): 206-212.
- Saxegaard E, Rölla G: Fluoride acquisition on and in human enamel during topical application in vitro. *Scand J Dent Res* 1988;96(6): 523-535.
- Schlueter N, Hara A, Shellis RP, Ganss C: Methods for the measurement and characterization of erosion in enamel and dentine. *Caries Res* 2011;45(suppl 1): 13-23.

- Shellis RP: A microcomputer program to evaluate the saturation of complex solutions with respect to biominerals. *Comput Appl Biosci* 1988;4(3): 373-379.
- Stookey GK: Optical Methods – Quantitative Light Fluorescence. *J Dent Res* 2004;83(Spec Iss C): C84-C88.
- Vieira AEM, Delbem ACB, Sasaki KT, Rodrigues E, Cury JA, Cunha RF. Fluoride dose response in pH-cycling models using bovine enamel. *Caries Res* 2005;39: 514-520.
- Wang X, Megert B, Hellwig E, Neuhaus KW, Lussi A: Preventing erosion with novel agents. *J Dentistry* 2011;39: 163-170.
- Zolotarev VM, Grisimov VN: Architectonics and Optical properties of dentin and dental enamel. *Opt Spectros* 2001;90(5): 753-759.

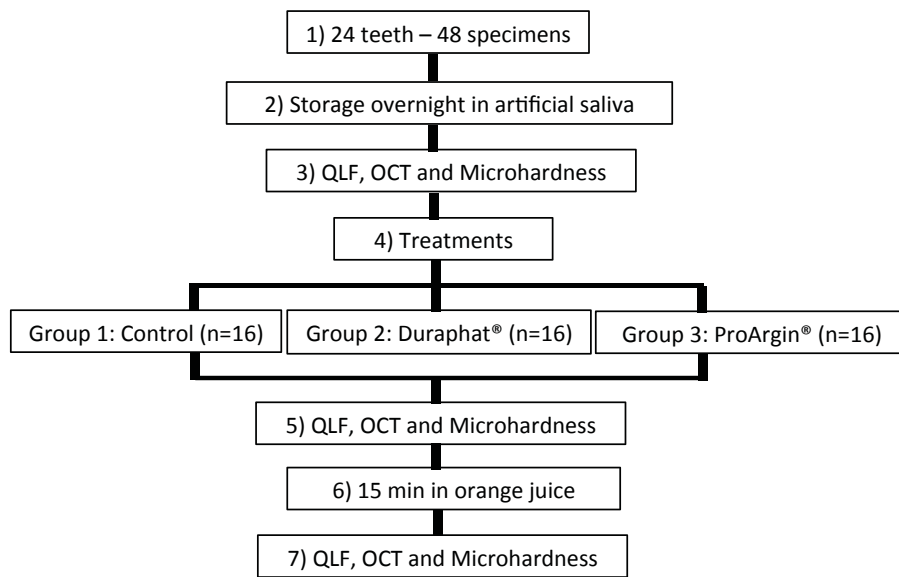


Figure 1. Experimental Design to evaluate dentine erosion over the time. For the first cycle, baseline measurements were taken for each technique before the treatment phase. For cycle 2, 3, 4 and 5 the evaluations started at step 4.

Table 1. Mean and standard deviation of Surface Microhardness (SMH) values and the corresponding normalized SMH compared by baseline measured at each time point for all groups.

	DELTA VALUES SMH		DELTA VALUES QLF		DELTA VALUES OCT	
	BASELINE					
Group	Baseline		Baseline		Baseline	
Control						
Duraphat 5000	0 (±0,0)		0 (±0,0)		0 (±0,0)	
Pro-Relief						
	CYCLE 1					
Group	After Treatment	After erosion	After Treatment	After erosion	After Treatment	After erosion
Control	-0.03 (±0.04)	-0.15 (±0.07)	-0.01 (±0.04)	-0.06 (±0.06)	-0.02 (±0.09)	-0.42 (±0.27)
Duraphat 5000	0.05 (±0.05)	0.01 (±0.04)	0.04 (±0.08)	0.03 (±0.11)	0.008(±0.15)	-0.02 (±0.18)
Pro-Relief	-0.001 (±0.03)	-0.03 (±0.04)	0.02 (±0.11)	0.03 (±0.10)	0.16 (±0.30)	-0.001 (±0.14)
	CYCLE 2					
Group	After treatment	After erosion	After treatment	After erosion	After treatment	After erosion
Control	-0.13 (±0.104)	-0.27 (±0.08)	-0.02 (±0.05)	-0.06 (±0.08)	-0.40 (±0.19)	-0.50 (±0.18)
Duraphat 5000	0.04 (±0.04)	0.01 (±0.04)	-0.01 (±0.07)	0.001 (±0.07)	0.07(±0.27)	-0.05(±0.25)
Pro-Relief	-0.02 (±0.04)	-0.04 (±0.04)	0.006 (±0.14)	0.0013(±0.14)	- 0.06(±0.34)	0.008 (±0.23)
	CYCLE 3					
Group	After treatment	After erosion	After treatment	After erosion	After treatment	After erosion
Control	-0.23 (±0.07)	-0.39 (±0.07)	-0.05 (±0.07)	-0.06(±0.07)	-0.38 (±0.24)	-0.43 (±0.23)
Duraphat 5000	0.02 (±0.04)	-0.07 (±0.04)	-0.01 (±0.04)	-0.01 (±0.06)	-0.06(±0.20)	-0.013 (±0.29)
Pro-Relief	0.04 (±0.04)	-0.10 (±0.03)	0.005 (±0.12)	-0.001 (±0.10)	0.09 (±0.23)	0.02 (±0.20)
	CYCLE 4					
Group	After treatment	After erosion	After treatment	After erosion	After treatment	After erosion
Control	-0.38 (±0.06)	-0.43 (±0.08)	-0.07 (±0.07)	-0.06 (±0.08)	-0.43 (±0.22)	-0.43 (±0.21)
Duraphat 5000	-0.06 (±0.04)	-0.09 (±0.03)	-0.03 (±0.05)	-0.01(±0.08)	-0.01(±0.24)	0.02 (±0.28)
Pro-Relief	-0.10 (±0.03)	-0.13 (±0.03)	0.002(±0.10)	-0.007 (±0.09)	-0.005(±0.17)	0.06 (±0.20)
	CYCLE 5					
Group	After treatment	After erosion	After treatment	After erosion	After treatment	After erosion
Control	-0.40 (±0.09)	-0.46 (±0.08)	-0.05 (±0.07)	-0.04 (±0.10)	-0.40 (±0.22)	-0.42 (±0.23)
Duraphat 5000	-0.09(±0.03)	-0.13 (±0.04)	-0.04(±0.08)	0.01 (±0.09)	0.03(±0.23)	-0.02 (±0.24)
Pro-Relief	-0.13(±0.03)	-0.18 (±0.04)	-0.005(±0.11)	0.002 (±0.08)	0.08(±0.24)	0.11(±0.24)

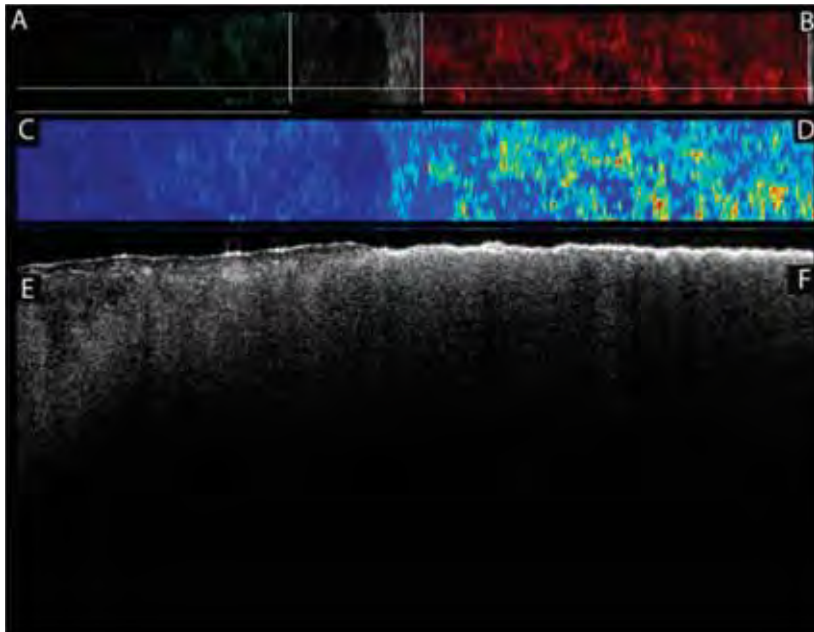


Figure 2. OCT image after 15min in acid-challenge interval (control group). A) Reference area (Varnish) and B) eroded area with the selected region to be evaluated in a top view; C) Reference area (Varnish) and D) eroded area in false-colour intensity image of top view; E) Reference area (Varnish) and F) eroded area in a lateral view.

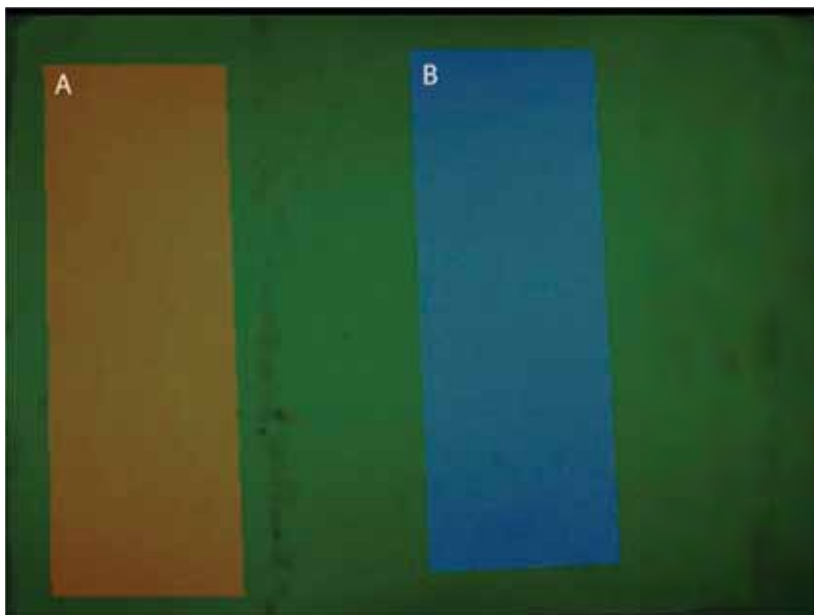


Figure 3. QLF image. A) Reference area (Varnish) and B) Eroded area showing the selection to be analysed.

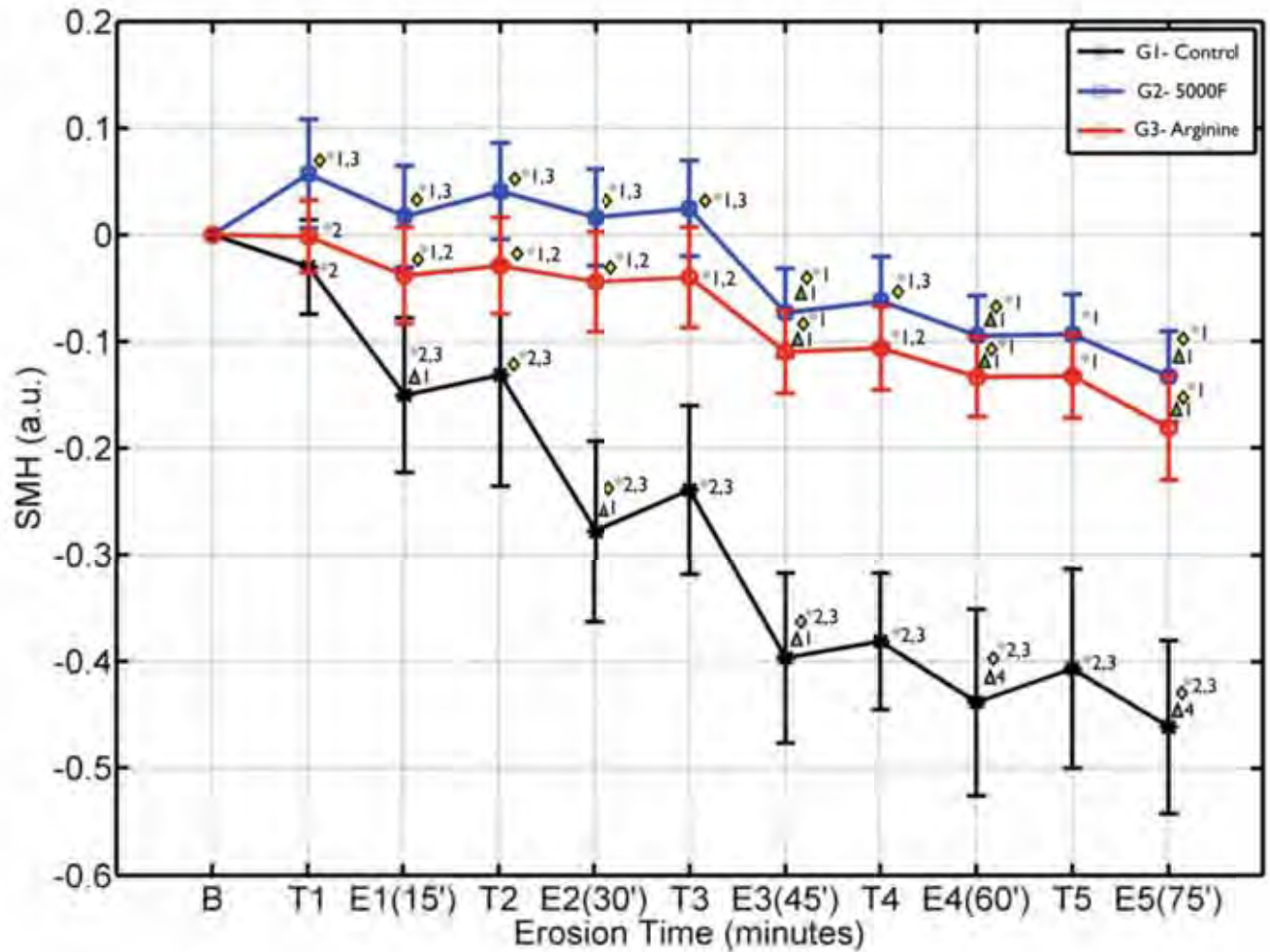


Figure 4. Mean and standard deviation of SMH over time. Time intervals: B- Baseline; T – Treatment; E – Erosive challenge. ♦ Statistical differences between time and one step before. Δ (i) Statistical differences among times of erosive challenge (i= number of prior acid-challenge intervals cycles to where difference is statistically different. * (i)Statistical differences among Groups (i = which Group shows statistical difference) (G1 – Volvic® Mineral Water ; G2 – Duraphat®; G3 – ProArgin®).

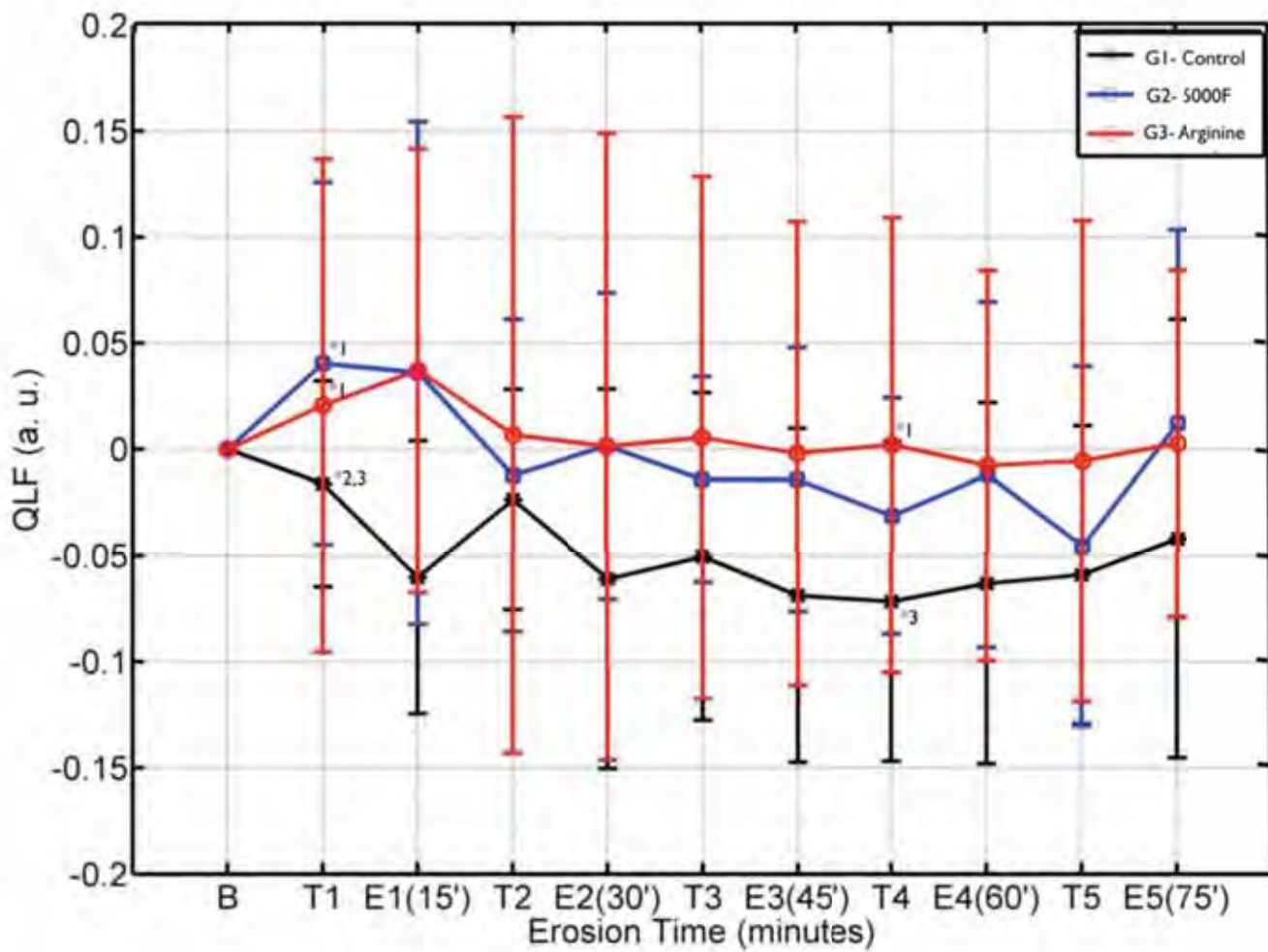


Figure 5. Mean and standard deviation of QLF over time. Time Intervals: B- Baseline; T – Treatment; E – Erosion. ♦ Statistical differences between time and one step before. ▲ (i) Statistical differences among times of erosive challenge (i= number of prior acid-challenge intervals cycles to where difference is statistically different). * (i) Statistical differences among Groups (i = which Group shows statistical difference) (G1 – Volvic® Mineral Water ; G2 – Duraphat®; G3 – ProArgin®).

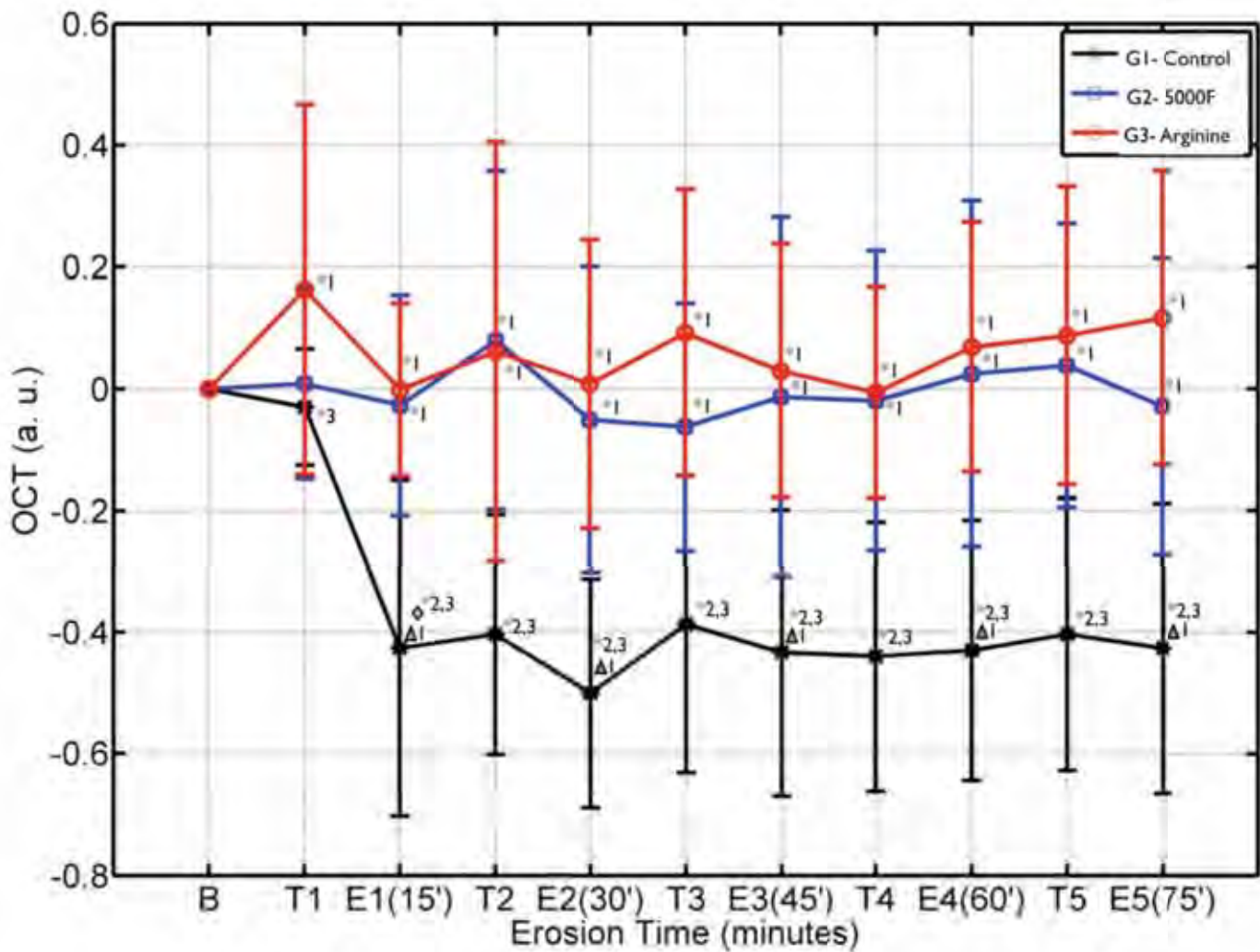


Figure 6. Mean and standard deviation of OCT over time. Time Intervals: B- Baseline; T – Treatment; E – Erosion. \blacklozenge Statistical differences between time and one step before. \blacktriangle (i) Statistical differences among times of erosive challenge (i= number of prior acid-challenge intervals cycles to where difference is statistically different). * (i) Statistical differences among Groups (i = which Group shows statistical difference) (G1 – Volvic® Mineral Water ; G2 – Duraphat®; G3 – ProArgin®).

Capítulo 3

Artigo submetido - Brazilian Dental Journal



Author: S.C.S. Pinto et al.

Preventive effect of toothpaste followed by acid challenge

Preventive effect of a high fluoride toothpaste and arginine-carbonate toothpaste on dentinal tubules exposure followed by acid challenge: a dentine permeability evaluation.

Shelon Cristina Souza PINTO

Michele Carolina PINHEIRO

Rodrigo CAVASSIM

José Eduardo Cezar SAMPAIO

Department of Oral Diagnosis and Surgery, Araraquara Dental School, São Paulo State University, Araraquara, SP, Brazil

Correspondence: Shelon Cristina Souza Pinto, Departamento de Diagnóstico e Cirurgia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Odontologia de Araraquara, Rua Humaitá, 1680, 14801-903 Araraquara, SP, Brasil. Fone/Fax: +55-16-3301-6369/3301-6374. e-mail: shelonsouzap@gmail.com

SUMMARY

The aim of the study was to quantify alterations in the root dentine permeability submitted to treatment with a high fluoride toothpaste and 8% arginine, calcium carbonate, sodium monofluorophosphate toothpaste as a preventive treatment for dentinal tubules exposure followed by acid challenge. Thirty-third molars were sectioned below the cemento-enamel. The root segments were connected to a hydraulic pressure apparatus to measure dentine permeability after the following sequential steps (n=10 per group): I) Baseline; II) treatment with phosphoric acid for 30 s (maximum permeability); III) Toothbrushing (1 min) according to the experimental groups (G1- control; G2- 5000 ppm fluoride toothpaste; G3- 8% arginine-calcium carbonate toothpaste); IV) acid challenge for 5 min (orange juice). The data were converted into percentage, considering stage II as 100%. The results have shown a statistically significant decreasing on dentine permeability after treatment with toothpaste (Friedman test and Dunn's post hoc test). Comparison among groups demonstrated a high increasing on dentine permeability when acid challenge was performed after toothbrushing with distilled water (control group) (Kruskal-Wallis and Dunn's post hoc test). Thus, toothpaste treatment may provide sufficient resistance on dentine surface, preventing dentinal tubules exposure after acid challenge.

Key Words: tooth erosion, dentin permeability, toothpastes.

INTRODUCTION

Dentine hypersensitivity (DH) is one of the most common problems in clinical practice (1,2). Epidemiological studies suggest that the prevalence of DH is increasing (3-5). Thus, an effective control of the etiological factors has not been reached.

There are many etiologic and predisposing factors related to DH (6). Enamel removal may be a result of attrition, abrasion and erosion. Root surface denudation is a result of cementum and periodontal tissue loss (7). Root area exposure may be multifactorial, resulting of chronic trauma from toothbrushing, occlusal trauma, periodontal diseases and acid diet (5).

The consumption of acidic soft drinks has been shown an increase worldwide (8,9). Acid challenges are able to remove tooth structure, leading to dentinal tubules exposure. It has been clearly shown that opened dentinal tubules, dentine permeability and dentine hypersensitivity are in close relationship (10,11).

Fluoride has been tested as a therapeutic approach protecting dental tissues from an acid challenge. Fluorapatite is able to reduce enamel and dentine solubility (12). In order to provide a preventive effect against acid challenges, a daily base treatment would be an ideal approach (9). Therefore, a high fluoride concentration toothpaste may reduce tooth wear, avoiding dentinal tubules exposure (13).

A new innovative toothpaste based upon 8% arginine, calcium carbonate, and 1450ppm fluoride as sodium monofluorophosphate has been validated as a

highly effective treatment for dentine hypersensitivity (14,15). The precipitation of calcium- and phosphate-containing material on the tooth surface has demonstrated to be acid resistant after several expositions to cola drink (15).

Different compositions of toothpastes have been constantly introduced, which may have important functions in preventing the loss of tooth structure and exposure of dentinal tubules followed by acid challenge. Thus, the aim of the present in vitro study was to quantify alterations in the root dentine permeability submitted to treatment with a high fluoride toothpaste (Duraphat™5000 ppm Fluoride Toothpaste) and 8% arginine, calcium carbonate, sodium monofluorophosphate toothpaste (Colgate Sensitive Pro-Relief™) as a preventive treatment for dentinal tubules exposure followed by acid challenge.

MATERIAL AND METHODS

Specimens Preparation

Thirty human third molars extracted for surgical reasons from young patients (18 to 23 years old) previously stored in normal saline were used in the study. Two parallel grooves 0.5mm deep on the root surface were performed: one at the cemento-enamel junction and another 4 mm apical to the first. The area between the two grooves was flattened (10,16) and crowns were sectioned.

The pulpal tissue was removed with a Hedström file (Maillefer, *Dentsply*™, Tulsa, Oklahoma, *EUA*). The root segment was glued with cyanoacrylate adhesive into a resin acrylic apparatus, which permits the perfusion of the connected pressure fluid-filled system (Fig. 1) (10).

Experimental Groups

The specimens were randomly assigned into 3 groups (n=10), according to the treatment:

- Group 1 (Negative Control): Distilled water.
- Group 2 (5000 F): Duraphat™ 5000 toothpaste (Colgate Palmolive – 5000 ppm Fluoride).
- Group 3 (Arginine): Colgate Pro-Relief™ (Colgate Palmolive – 8% arginine, calcium carbonate).

The treatment was performed following the manufacturer instructions. The exposed dentine area was brushed with 3 mg of toothpaste for 1 min (brushed carefully). Duraphat® 5000 toothpaste contains 5 mg of fluoride in 1 g of toothpaste. For the control group, the dentine exposure area was brushed with distilled water for 1 minute.

After treatment, the specimens were carefully rinsed with distilled water (15 ml).

Interval of acid challenge

Specimens were kept in a commercially available orange juice (Laranja caseira, Minute Maid Mais, Coca Cola™, SP, Brazil) (pH 3.80±0.04). The orange juice (15 ml) was gently stirred (Fisher Scientific®) for 5 minutes. The specimens were removed from the orange juice and carefully rinsed with 15 ml of distilled water to remove acid excess from the surface.

The orange juice pH was measured at room temperature before each dentine permeability evaluation.

Dentine Permeability Evaluation

In order to analyze dentine permeability, the root segment was connected to a fluid-filled system working at a pressure of 10 psi. A microcapillary tube with 25 μ L diameter and length of 65 mm was positioned between the pressure reservoir and the root segment (Fig. 1). Hydraulic conductance was measured through the length and diameter of microcapillary tube (10,11,17).

Each specimen was connected to the hydraulic pressure apparatus in order to measure root dentine permeability after the following sequential stages:

Stage 1: Baseline. Dentine permeability was measured before acid conditioning in order to observe if the phosphoric acid was able to open tubules.

Stage 2: Topical application of 37% phosphoric acid on dentine surface for 30 s in order to obtain the maximum permeability (100%) followed by rinsing with distilled water.

Stage 3: Toothbrushing with sonic toothbrush (Colgate Palmolive 360^o, Colgate Palmolive, SP, Brazil) according to the experimental groups.

Stage 4: specimens were immersed in 15 mL of orange juice (Minute Maid Original, The Coca-Cola Company, Sao Paulo, SP, Brazil), for 5 min and rinsed with distilled water.

The hydraulic conductance was expressed as a percentage of the maximum value for each specimen. Therefore, each specimen was taken as its own control in order to analyze the preventive effect of toothpaste followed by acid challenge.

Statistical Analysis

The linear displacement of the air blister in the microcapillary tube was measured, according to the time unit, in each stage. The most prevalent value was used to calculate the fluid flow through dentine. The flow obtained after stage II was considered the maximum permeability (100%), and the other values were expressed as a percentage of the maximum. Data were analyzed using GraphPad Prism 5 statistical software (GraphPad La Jolla, CA, USA). Level of significance was set at $\alpha = 0.05$ (two-sided). Normal distribution was tested using the “D’Agostino & Pearson normality test”. Once the data did not showed normal distribution, means and standard deviations of permeability values were calculated and compared using non-parametric analysis. Friedman test and Dunn’s post hoc test were applied to evaluate the differences in permeability values after each stage into the same group and Kruskal-Wallis test and Dunn’s post hoc test were applied to evaluate the different stages among the groups.

RESULTS

The analysis results have been shown in the tables below. Table 1 shows the values of permeability distribution among groups.

Table 2 is demonstrating the comparison among stages.

DISCUSSION

The most common etiological factor related to dentine exposure followed by dentine hypersensitivity is soft drinks intake (5). Soft drinks are able to cause tooth wear due to different acid features. There are some chemical aspects that can modulate the erosive potential of the soft drinks, such as, pH, titratable acidity, type of acid, buffer capacity, chelating properties and concentration of calcium, phosphates and fluoride (10,18).

Studies have been shown increasing on dentine permeability after acid drinks exposure (10,19). However, preventive treatments are able to avoid loss of tooth structure. According to Hooper et al. (9), toothbrushing with toothpaste before meals may provide significant erosion protection in susceptible individual.

The method used for evaluating dentine permeability in the present study was hydraulic conductance. Hydraulic conductance is able to analyze qualitatively and quantitatively dentine permeability, since it allows the evaluation of presence of particles into the tubules (19). Dentine permeability is evaluated by calculating the hydraulic conductance (L_p) by method of fluid filtration (20). A constant hydrostatic pressure of 10 psi was chosen. This methodology has been used in other studies (10,19).

For the first stage, hydraulic conductance was evaluated in order to observe if stage 2 was able to open dentinal tubules. At stage 2, acid conditioning of the dentine exposure was performed and this value was considered 100%.

Thus, the changes in permeability for the following stages were analyzed as a percentage of Stage 2 (10,19). After acid conditioning (Stage 2), specimens were treated (Stage 3) followed by acid exposure (Stage 4). Dentine permeability measurements were performed after each stage.

This study has demonstrated higher dentine permeability when samples were brushed with distilled water and kept in orange juice (control group). The specimens were kept for 5 min on soft drink, considering that it is the time necessary for acid neutralization and/or removal on tooth surfaces by saliva (21). Prior studies have been demonstrating that the application of acid drinks for a relatively short exposure of time is sufficient to induce changes on dentine surface (10,22,23). Orange juice was able to increase the permeability after a 5-min single application and may perfectly simulate the typical oral assumption that occurs several times a day (10). The erosive potential of orange juice may be justified due to the low pH (3.80 ± 0.04), type of acid (acid citric), titratable acidity (1.23 ± 0.08) and high capacity to hydroxyapatite dissolution (18). Citric acid is also one of the most erosive due to their quelling capacity, which is responsible by calcium seize from saliva and teeth (24).

Nevertheless, the results showed a greater reduction of permeability when specimens were brushed with toothpaste before acid challenge. Therefore, toothpastes may present a preventive effect in the dentinal tubules exposure. Toothpaste can be an important type of treatment for various dental problems, since it is easily accessible for the population. A high fluoride and an arginine-calcium carbonate toothpaste were tested and its ability as a preventive treatment

to dentinal tubules exposure. Several studies have been shown that toothbrushing with toothpaste is able to occlude dentinal tubules or decreasing dentine permeability, due to the presence of desensitizing agents or abrasives particles in tubules (15,25,26).

According to Diamanti et al. (13), higher preventive effect of dentine erosion can be reached when 5000ppm Fluoride toothpaste is applied. Fluoride application is able to increase dentine's resistance to erosive challenge (13,27) through surface adsorption and hetero-ionic exchange with surface hydroxyl ions (13), if it is in sufficient concentration.

The results have been shown a preventive effect of Duraphat™ 5000 Fluoride for acid challenge. The same effect was also showed by arginine-calcium carbonate toothpaste, which demonstrated occlusion of dentinal tubules and decrease of dentine permeability after its application. Although, no significant differences have been shown between toothpaste, it can not be concluded that both have the same effect, since the preventive effect may change after many acid challenges.

Petrou et al. (15) has clearly shown that the arginine associated with calcium carbonate is highly effective in occluding dentinal tubules and the occlusion has demonstrated to be resistant to acid challenges. It happens due to the following mechanism of action: arginine facilitates the adherence of calcium carbonate to the surface in a basic pH, and when arginine is associated to calcium

carbonate triggers deposition of phosphate on dentine surface and within dentinal tubules (14,15).

Controversial results considering toothpaste treatment can be found when it is applied after acid challenge. According to previous studies (28,29), toothbrushing with toothpaste may cause dentine abrasion or erosion in a variable degree, resulting in tubule opening. However, other in vitro studies showed decreasing on dentine permeability when toothbrushing with toothpaste was performed after acid challenge (10,25).

In agreement with previous studies (13, 26, 30), this current study has demonstrated that toothpaste application is effective in increasing dentine's resistance to erosive challenge. However, more than one cycle of erosion must be tested in order to observe the preventive effect of toothpastes after many acid challenges.

Considering the methodology employed in this study, and based upon its limitations, it can be concluded that toothbrushing associated with a high fluoride or arginine-calcium carbonate toothpaste is able to prevent tooth wear and dentinal tubules exposure in vitro. Thus, clinicians must advise patients with risk of erosion or abrasion, to brush their teeth before meals and avoid acid drinks intake.

RESUMO

O objetivo do estudo foi quantificar alterações na permeabilidade da dentina radicular submetida a tratamento com um dentifrício contendo alto teor de flúor e outro contendo 8% arginina, carbonato de cálcio, monofluorofosfato de sódio, como um tratamento preventivo à exposição dos túbulos dentinários em amostras expostas posteriormente ao desafio ácido. Trinta terceiros molares foram seccionados abaixo da junção amelo cementária. Os segmentos radiculares foram conectados a um aparelho de pressão hidráulica para medir a permeabilidade da dentina após as seguintes etapas sequenciais (n = 10 por grupo): I) Medida inicial; II) tratamento com ácido fosfórico por 30s (permeabilidade máxima); III) Escovação (1 min) de acordo com os grupos experimentais (G1-controle; G2-dentifrício com flúor, 5000 ppm; G3- 8 % de arginina e carbonato de cálcio); IV) desafio ácido por 5 min (suco de laranja). Os dados foram convertidos em percentuais, considerando a fase II como 100%. Os resultados mostraram uma diminuição estatisticamente significativa na permeabilidade da dentina após o tratamento com dentifrício (Teste de Friedman e pós-teste de Dunn). Comparação entre os grupos demonstraram um alto aumento na permeabilidade da dentina quando desafio ácido foi realizado após a escovação com água destilada (grupo controle) (Teste de Kruskal-Wallis e pós-teste de Dunn). Assim, o tratamento com dentifrício pode oferecer suficiente resistência para a superfície da dentina, prevenindo a exposição dos túbulos dentinários após desafio ácido.

REFERENCES

1. Aranha AC, de Paula Eduardo C. In vitro effect of Er,Cr:YSGG laser on dentine hypersensitivity. Dentine permeability and scanning electron microscopy. *Lasers Med Sci* 2011 [Epub ahead of print].
2. Dong Z, Chang J, Deng Y, Joiner A. Tricalcium silicate induced mineralization for occlusion of dentinal tubules. *Aust Dental J* 2011;56:175-180.
3. Ritter AV, de L Dias W, Miguez P, Caplan DJ, Swift EJ Jr. Treating cervical dentin hypersensitivity with fluoride varnish: a randomized clinical study. *J Am Dent Assoc* 2006;137:1013-1020.
4. Ahmed TR, Mordan NJ, Gilthorpe MS, Gillam DG. In vitro quantification of changes in human dentine tubule parameters using SEM and digital analysis. *J Oral Rehabil* 2005;32:589-597.
5. Oderinu OH, Savage KO, Uti OG, Adegbulugbe IC. Prevalence of self-reported hypersensitive teeth among a group of Nigerian undergraduate students. *Niger Postgrad Med J* 2011;18(3):205-209.
6. Pradeep AR, Sharma A. Comparison of clinical efficacy of a dentifrice containing calcium sodium phosphosilicate to a dentifrice containing potassium nitrate and to a placebo on dentinal hypersensitivity: a randomized clinical trial. *J Periodontol* 2010;81:1167-1173.
7. Walters PA. Dentine Hypersensitivity: a review. *J Contemp Dent Pract* 2005;6(2):107-117.

8. Miller GD, Jarvis JK, McBean LD. The importance of meeting calcium needs with foods. *J Am Coll Nutr* 2001; 20(Suppl.): 168S-85S.
9. Hooper SM, Newcombe RG, Faller R, Eversole S, Addy M, West NX. The protective effects of toothpaste against erosion by orange juice: studies in situ and in vitro. *J Dent* 2007;35:476-481.
10. Pinto SC, Batitucci RG, Pinheiro MC, Zandim DL, Spin-Neto R, Sampaio JE. Effect of an acid diet allied to sonic toothbrushing on root dentin permeability: an in vitro study. *Braz Dent J* 2010;21(5):390-395.
11. Pashley DH. Dentin permeability and dentin sensitivity. *Proc Fin Dent Soc* 1992;88:31-37.
12. Saxegaard E, Rölla G. Fluoride acquisition on and in human enamel during topical application in vitro. *Scand J Dent Res* 1988;96(6):523-535.
13. Diamanti I, Koletsi-Kounari H, Mamai-Homata E, Vougiouklakis G. Effect of fluoride and of calcium sodium phosphosilicate toothpastes on pre-softened dentine demineralization and remineralization in vitro. *J Dent* 2010;38:671-677.
14. Cummins D. Dentin Hypersensitivity: From diagnosis to a breakthrough therapy for everyday sensitivity relief. *J Clin Dent* 2009;20(Spec Iss):1-9.

15. Petrou I, Heu R, Stranick M, Lavender S, Zaidel L, Cummins D, et al.. A Breakthrough therapy for dentin hypersensitivity: how dental products containing 8% arginine and calcium carbonate work to deliver effective relief of sensitive teeth. *J Clin Dent* 2009;20:23-31.
16. Leite FR, Sampaio JE, Zandim DL, Dantas AA, Leite ER, Leite AA. Influence of root-surface conditioning with acid and chelating agents on clot stabilization. *Quint Int* 2010;41(4):341-349.
17. Prati C, Montebugnoli I, Suppa P, Valdrè G, Mongiorgi R. Permeability and morphology of dentin after erosion induced by acidic drinks. *J Periodontol* 2003;74:428-436.
18. Scaramuci T, Hara AT, Zero DT, Ferreira SS, Idalina VA, Sobral MA. In vitro evaluation of the erosive potential of orange juice modified by food additives in enamel and dentine. *J Dent* 2011 [Epub ahead of print].
19. Zandim DL, Leite FRM, Sampaio JEC. In vitro evaluation of the effect of dietary acids and toothbrushing on human root dentin permeability. *Quintessence Int* 2010;41:257-263.
20. Pashley DH, Livingston MJ, Reeder OW, Horner J. Effects of the degree of tubule occlusion on the permeability of human dentine in vitro. *Arch Oral Biol* 1978;23:1127-1133.
21. Amaechi BT, Higham SM. Eroded enamel lesion remineralization by saliva as a possible factor in the site-specificity of human dental erosion. *Arch Oral Biol* 2001;46:697-703.

22. Kuroiwa M, Kodaka T, Kuroiwa M, Abe M. Dentin hypersensitivity. Occlusion of dentinal tubules by brushing with and without an abrasive dentifrice. *J Periodontol* 1994;65:291-296.
23. Sauro S, Watson TF, Thompson I. Dentine desensitization induced by prophylactic and air-polishing procedures: An in vitro dentine permeability and confocal microscopy study. *J Dent* 2010;38:411-422.
24. Hannig C, Hamkens A, Becker K, Attin R, Attin T. Erosive effects of different acids on bovine enamel: release of calcium and phosphate in vitro. *Arch Oral Biol* 2005;50:541-552.
25. West NX, Hughes JA, Addy M. Dentine hypersensitivity: the effects of brushing toothpaste on etched and unetched dentine in vitro. *J Oral Rehabil* 2002;29:167-174.
26. Wang X, Megert B, Hellwig E, Neuhaus KW, Lussi A. Preventing erosion with novel agents. *J Dent* 2011;39:163-170.
27. Magalhaes AC, Rios D, Machado MA, Silva SMB, Buzalaf MA. Effect of Nd:YAG irradiation and fluoride application on dentine resistance to erosion in vitro. *Photomed Laser Surg* 2007;26(6):559-563.
28. Absi EG, Addy M, Adams D. Dentine Hipersensitivity: uptake of toothpastes onto dentine and effects of brushing, washing and dietary acid - SEM in vitro study. *J Oral Rehabil* 1995;22:175-182.
29. Kodaka T, Kuroiwa M, Kuroiwa M, Okumura J, Mori R, Hirasawa S, Kobori M. Effects of brushing with a dentifrice for sensitive teeth on

tubule occlusion and abrasion of dentin. *J Electron Microsc* 2001;50(1):57-64.

30. Lussi A, Megert B, Eggenberger D, Jaeggi T. Impact of different toothpastes on the prevention of erosion. *Caries Res* 2008;42:62-67.

Figure 1. Schematic presentation showing how specimens were created and how fluid permeability was measured.

Table 1. Mean values (%) and standard deviations of dentin permeability for the evaluated groups and stages.

Group	Stage	Mean (SD)
Duraphat®	1	53.00 (11.00)
	2	100.00 (0.00)
	3	65.00 (20.00)
	4	65.00 (20.00)
ProArgin®	1	52.00 (16.00)
	2	100.00 (0.00)
	3	31.00 (16.00)
	4	31.00 (16.00)
Control	1	46.00 (16.00)
	2	100.00 (0.00)
	3	110.00 (22.00)
	4	180.00 (38.00)

Table 2. Comparison of the experimental stages within the same group and among the different groups.

		Duraphat				ProArgin				Control			
		S1	S2	S3	S4	S1	S2	S3	S4	S1	S2	S3	S4
Duraphat®	S1		**										
	S2			*	*								
	S3							*					
	S4												*
ProArgin®	S1												
	S2							***	***				
	S3			*								***	
	S4												***
Control	S1											*	***
	S2												*
	S3							***					
	S4				*				***				

Evaluation of the differences in permeability values after each stage into the same group -Friedman and Dunn's posttest - * = p<0.05, *** = p<0.001

Evaluation of the different stages among the groups - Kruskal-Wallis and Dunn's post-test - * = p<0.05, ** = p<0.01 and *** = p<0.001.

Considerações Finais



7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Um tratamento ideal para HSDC não tem sido comprovadamente estabelecido. Apesar de agentes dessensibilizantes terem demonstrado potencial de obliteração de túbulos dentinários, muitas vezes os componentes responsáveis por obliterar os túbulos são facilmente perdidos durante a escovação e ingestão de bebidas ácidas¹⁴.

Tratamentos de uso contínuo são alternativas terapêuticas que podem minimizar a perda dos componentes presentes na abertura ou no interior dos túbulos dentinários, além de muitas vezes permitirem o uso caseiro, pelo próprio paciente^{14, 31}. O objetivo dos estudos ora analisados nesta tese de doutorado, foi avaliar as modificações que ocorrem na superfície dentinária e túbulos dentinários após desafios ácidos e tratamentos com dentifrícios contendo agentes dessensibilizantes.

Os dentifrícios testados nos estudos apresentados nesta tese possuem como agentes dessensibilizantes: citrato de potássio a 5% (Estudo I); alta concentração de flúor (5000 ppm) e arginina a 8% associada ao carbonato de cálcio (Estudo II e III).

O Estudo I avaliou o efeito de diferentes bebidas ácidas sobre os túbulos dentinários e subsequente escovação com ou sem dentifrício. A metodologia empregada, avaliação da permeabilidade dentinária, foi capaz de observar a capacidade destas substâncias em abrir túbulos, o que pode influenciar diretamente a presença de hipersensibilidade dentinária cervical^{1,7}. As bebidas

ácidas que causaram maior aumento na permeabilidade dentinária foram os sucos de limão e laranja. A maior permeabilidade encontrada para estes sucos pode ser explicada pelo tipo de ácido, ou seja, a presença de ácido cítrico.

O tratamento dos espécimes de dentina com escovação associada ou não com dentifrícios logo após o desafio ácido não foi capaz de diminuir significativamente a permeabilidade dentinária nas amostras mantidas em sucos de limão e laranja.

Por meio do Estudo I foi possível identificar o ácido cítrico como um dos ácidos com maior capacidade de abertura de túbulos. Entretanto, este estudo avaliou apenas as modificações que ocorrem nos túbulos dentinários.

Estudos recentes^{4-5, 15-16, 18-19, 35-36, 46-47} têm se preocupado em avaliar a erosão dentária, um dos principais fatores associados a exposição dos túbulos dentinários. Além da abertura de túbulos, as características morfológicas da dentina podem ser alteradas por meio da perda de minerais após a exposição a desafios ácidos. Tais características também podem contribuir à HSDC.

A permeabilidade dentinária permite apenas a avaliação de abertura e obliteração dos túbulos dentinários, sendo necessário a utilização de outras metodologias capazes de identificar alterações morfológicas da dentina²³. Portanto, o Estudo II teve como objetivo avaliar a superfície dentinária por meio de duas metodologias recentes (QLF e OCT), as quais têm sido utilizadas na avaliação de desmineralização inicial em esmalte, e comparar a uma metodologia já estabelecida (Microdureza Knoop)¹⁰. A Tomografia de Coerência Óptica (OCT) mostrou resultados similares a Microdureza Knoop, o mesmo não

aconteceu com a Fluorescência Quantitativa de Luz (QLF). Tal resultado pode ter ocorrido devido a maior exposição de colágeno devido a erosão, o que pode aumentar a fluorescência quando QLF é usado, o que não ocorre em avaliações de desmineralização em esmalte, explicando a sua limitação quando utilizado para o diagnóstico de desmineralização em dentina³⁹.

Até o momento a avaliação da erosão de dentina e HSDC têm como métodos de diagnósticos clínicos apenas os índices, os quais podem ser muito subjetivos, podendo levar a erro de diagnóstico, superestimando ou subestimando determinado caso^{24,39}. Portanto, existe necessidade da descoberta de métodos quantitativos durante o diagnóstico destas condições.

Para se estabelecer um tratamento adequado existe a necessidade de um diagnóstico apropriado. Tomografia de Coerência Óptica é um método não invasivo que permite avaliações *in vivo*³⁹, podendo ser uma opção de diagnóstico clínico durante a avaliação de perda de estrutura dentinária e também para avaliar eficácia de tratamentos, pois esta metodologia foi capaz de diferenciar as características morfológicas da dentina nas áreas submetidas a desafios ácidos da área controle (coberta com esmalte ácido-resistente).

Outro aspecto a ser considerado é com relação ao tratamento. Estudos anteriores têm demonstrado que a escovação associada a dentifrício pode apresentar grande efeito protetor quando é realizada anteriormente ao desafio ácido^{5, 15-16, 19, 46}. No Estudo I, o desafio ácido foi realizado seguido pelo tratamento, sendo que pouca ou insignificante redução da permeabilidade foi encontrada, demonstrando pequeno efeito terapêutico, já no Estudo II, visando

avaliar o efeito preventivo do tratamento, este foi realizado anteriormente aos intervalos de desafio ácido.

Considerando o efeito erosivo demonstrado pelo ácido cítrico no Estudo I, após a avaliação de diferentes bebidas ácidas (suco de laranja e limão – ácido cítrico; vinho branco – ácido tartárico; coca-cola – ácido fosfórico; vinagre – ácido acético), o suco de laranja foi selecionado para avaliação dos ciclos tratamento-erosão no Estudo II.

Intervalos de tratamento e desafio ácido foram estabelecidos no Estudo II, considerando a metodologia empregada em pesquisas anteriores com a finalidade de avaliar a morfologia da dentina em condições de desmineralização e remineralização^{15-16, 19}.

Novos tratamentos visando a remineralização e obliteração de túbulos têm sido propostos^{14, 31}. Considerando a linha de evolução dos produtos odontológicos contendo agentes dessensibilizantes, agentes como nitrato de potássio a 5%, citrato de potássio a 5% e cloreto de estrôncio a 10% foram inicialmente adicionados a dentifrícios^{2,30,32}. Contudo, recentemente novas tentativas têm sido introduzidas com o objetivo de aumentar a eficácia de dentifrícios dessensibilizantes. Uma das alternativas está relacionada a presença de um aminoácido (arginina a 8%) associado a carbonato de cálcio. Esta composição facilita a captura de cálcio pela dentina levando a obliteração de túbulos dentinarios^{14,31}.

Além disso, devido as características remineralizantes do flúor, um dentifrício contendo alto teor de flúor vem sendo testado quanto ao seu potencial terapêutico em casos de desmineralização de esmalte e dentina^{4,35}.

A eficácia do dentifrício a base de arginina a 8% e carbonato de cálcio no tratamento da HSDC tem sido comprovada tanto clinicamente³⁸, atuando na redução da dor, como *in vitro*³¹, obliterando túbulos dentinários. Entretanto, pouco se sabe em relação a sua eficácia no tratamento da erosão dentinária.

Assim sendo, um dentifrício contendo alto teor de flúor (Duraphat[®], Colgate Palmolive) e um dentifrício a base de arginina a 8% e carbonato de cálcio (ProAlívio[®], Colgate Palmolive), foram testados no Estudo II quanto a sua capacidade protetora, prevenindo perda de estrutura em espécimes de dentina expostos a desafios ácidos.

Além de promover obliteração de túbulos dentinários³¹ o dentifrício ProAlívio[®] demonstrou eficácia na prevenção de perda de minerais. Os dois tratamentos testados neste estudo foram eficazes na prevenção da erosão quando utilizados anteriormente a cada ciclo de desafio ácido, embora tenha ocorrido aumento da perda de minerais, esta foi significativamente maior no grupo em que não teve qualquer tipo de tratamento.

Até agora, sabe-se que o ácido cítrico apresenta grande capacidade de remoção de *smear layer* e exposição dos túbulos dentinários, e que os dentifrícios contendo agentes dessensibilizantes apresentam maior eficácia na prevenção da erosão dentinária quando utilizados anteriormente ao desafio ácido. Porém, não se sabe se estes são capazes de atuar também na obliteração de túbulos dentinários

quando aplicados anteriormente ao desafio ácido. Portanto, o Estudo III teve como objetivo avaliar a permeabilidade dentinária de espécimes tratados com dentifrícios contendo agentes dessensibilizantes e então, expostos ao suco de laranja.

Além de atuarem na prevenção da perda de minerais, Duraphat[®] e ProAlívio[®] foram capazes de diminuir a permeabilidade dentinária após sua aplicação, mantendo essa redução após desafio ácido. Pudemos observar então no estudo III que os dentifrícios testados, mostraram-se efetivos na obliteração de túbulos dentinários, diminuindo a permeabilidade dentinária.

Apesar do dentifrício Duraphat[®] ter sido testado quanto ao seu potencial remineralizador em estudos anteriores^{4, 35}, este não tinha sido testado quanto a sua eficácia na obliteração de túbulos dentinários.

Os estudos apresentados confirmam a importância em se orientar os pacientes no uso de produtos caseiros que possam atuar na redução da perda de estrutura dentária. Apesar de o paciente procurar tratamento quando ele já apresenta hábitos alimentares prejudiciais, os quais podem atuar na perda de estrutura dentária, exposição dos túbulos dentinários e conseqüentemente dor, a escovação com dentifrício contendo agente dessensibilizante atua de forma preventiva ao desgaste provocado pelo próximo desafio ácido ao qual o paciente será exposto¹⁹.

Baseando-se nos estudos apresentados por essa tese e pela literatura^{14, 19, 31, 35}, pode-se concluir que dentifrícios contendo alto teor de flúor e arginina associada ao carbonato de cálcio como agentes dessensibilizantes são capazes de

diminuir a perda de estrutura dentinária quando estes são utilizados anteriormente a desafios ácidos. Quando escovação associada a dentifrício contendo citrato de sódio a 5% foi realizada após a imersão em ácidos não houve significativa diminuição da permeabilidade dentinária, ou seja, este exerceu pouca influência sobre os túbulos dentinários. O mesmo não ocorreu quando a permeabilidade dentinária foi avaliada em espécimes submetidos ao tratamento com dentifrícios contendo alto teor de flúor e arginina associada ao carbonato de cálcio anteriormente ao desafio ácido, os quais foram eficazes promovendo obliteração dos túbulos e consequente redução da permeabilidade.

Os resultados apresentados pelos estudos desta tese possibilitam novas discussões e ampliam ainda mais o campo de pesquisa nesta área. Ciclos de tratamento e erosão podem ser aumentados e estes podem ser usados também na avaliação da permeabilidade dentinária. Além disso, uma das metodologias testadas no estudo II, por não ser invasiva (OCT), apresenta a possibilidade de ser utilizada em humanos, portanto, estudos em humanos avaliando morfologia da dentina após tratamento e exposição a bebidas ácidas podem ser desenvolvidos.

Erosão dentária é um dos assuntos mais abordados em pesquisas recentes. Abordagens terapêuticas introduzidas com a finalidade de tratar HSDC também podem ser eficazes no tratamento de erosão dentinária. Diagnóstico, etiologia e tratamento são aspectos que devem ser considerados em pesquisas futuras sobre HSDC e erosão dentária.

Conclusão



8 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos, frente às metodologias empregadas, permitiram concluir que:

1. Os ácidos cítricos (sucos de limão e laranja) e o ácido acético (vinagre) apresentaram maior efeito sobre a perda de estrutura dentinária e consequente exposição dos túbulos dentinários quando comparados ao ácido tartárico (vinho branco) e ácido fosfórico (coca-cola). E quando a escovação, associada ou não a dentifrício, foi realizada após o desafio ácido, uma significativa redução da permeabilidade dentinária foi encontrada para os espécimes dos seguintes grupos: suco de laranja, coca-cola, vinho branco e suco de limão.
2. O tratamento com dentifrícios contendo agentes dessensibilizantes a base de arginina associada ao carbonato de cálcio e dentifrício contendo alto teor de flúor são capazes de reduzir a taxa de erosão quando estes são utilizados anteriormente ao desafio ácido. Tomografia de Coerência óptica demonstrou considerável potencial como dispositivo para o monitoramento da erosão ácida in vivo, embora necessite de adaptações para uso intraoral. Fluorescência induzida por luz quantitativa não apresentou o mesmo potencial que o OCT para o monitoramento de erosão dentinária, porém, modificações na configuração desta técnica podem melhorar seu desempenho, portanto, pesquisas futuras são de grande valor em relação a esta metodologia, considerando seu fácil uso intraoral.

3. Além de efeito protetor quanto a perda de minerais, os dentifrícios contendo agentes dessensibilizantes a base de arginina associada ao carbonato de cálcio e dentifrício contendo alto teor de flúor, apresentam a capacidade de reduzir a permeabilidade dentinária, mantendo este efeito mesmo após a exposição ao ácido.

Referências



9 REFERÊNCIAS*

1. Absi EG, Addy M, Adams D. Dentine hypersensitivity. A study of the patency of dentinal tubules in sensitive and non-sensitive cervical dentine. *J Clin Periodontol.* 1987; 14: 280-4.
2. Addy M, Mostafa P, Newcombe R. Dentine hypersensitivity: a comparison of five toothpastes used during a 6-week treatment period. *Br Dent J.* 1987; 45: 163.
3. Al-Sabbagh M, Beneduce C, Andreana S, Ciancio SG. Incidence and time source of dentinal hypersensitivity after periodontal surgery. *Gen Dent.* 2010; 58: e14-9.
4. Austin RS, Stenhagen KS, Hove LH, Dunne S, Moazzer R, Barlett DW, Tveit AB. A qualitative and quantitative investigation into the effect of fluoride formulations on enamel erosion and erosion-abrasion in vitro. *J Dent.* 2011; 39: 648-55.
5. Barbour ME, Lussi A, Shellis RP. Screening and prediction of erosive potential. *Caries Res.* 2011; 45(Suppl 1): 24-32.
6. Brackett MG, Dib A, Franco G, Estrada EE, Brackett WW. Two-year clinical performance of Clearfil SE and Clearfil S3 in restoration of unabraded non-carious class V lesions. *Oper Dent.* 2010; 35: 273-8.
7. Brännström M, Linden LA, Astrom A. The hydrodynamics of the dental tubule and of pulp fluid. A discussion of its significance in relation to dentinal sensitivity. *Caries Res.* 1967; 1: 310-7.

* De acordo com o estilo Vancouver. Disponível no site: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

8. Canadian Advisory Board on Dentin Hypersensitivity. Consensus-based recommendations for the diagnosis and management of dentin hypersensitivity. *J Canad Dent Assoc.* 2003; 69: 221-6.
9. Chabanski MB, Gillam DG, Bulman JS, Newman HN. Clinical evaluation of cervical dentine sensitivity in a population of patients referred to a specialist periodontology department: a pilot study. *J Oral Rehabil.* 1997; 24: 666-72.
10. Chu CH, Lo EC. Microhardness of dentine in primary teeth after topical fluoride applications. *J Dent.* 2008; 36: 387-91.
11. Clark C, Woo G, Silver JG, Sweet D, Grisdale JC. The influence of frequent ingestion of acids in the diet on treatment for dentin sensitivity. *J Periodontol Res.* 1990; 56: 1101-3.
12. Corrêa AM, Zukeran DYU, Corrêa FOB, Sampaio JEC. A influência do pH de frutas, bebidas e condimentos na hipersensibilidade dentinária cervical. *Rev Robrac.* 2002; 11: 46-9.
13. Corrêa FOB, Sampaio JEC, Rossa JR C, Orrico SRP. Influence of natural fruit juices in removing the smear layer from root surfaces. An in vitro study. *J Canad Dent Assoc.* 2004; 70: 697-702.
14. Cummins D. Dentin hypersensitivity: from diagnosis to a breakthrough therapy for everyday sensitivity relief. *J Clin Dent.* 2009; 20(Spec Iss): 1-9.

15. De-Melo MA, Passos VF, Alves JJ, Barros EB, Santiago SL, Rodrigues LK. The effect of diode laser irradiation on dentin as a preventive measure against dental erosion: an in vitro study. *Lasers Med Sci.* 2011; 26: 615-21.
16. Diamanti I, Koletsi-Kounari H, Mamai-Homata E, Vougiouklakis G: Effect of fluoride and of calcium sodium phosphosilicate toothpastes on pre-softened dentine demineralization and remineralization in vitro. *J Dent.* 2010; 38: 671-7.
17. Hara AT, Queiroz CS, Paes Leme AF, Serra MC, Cury JA. Caries progression and inhibition in human and bovine root dentine in situ. *Caries Res.* 2003; 37: 339-44.
18. Harpenau LA, Noble WH, Kao RT. Diagnosis and management of dental wear. *J Calif Assoc.* 2011; 39: 225-31.
19. Hornby K, Evans M, Long M, Joiner A, Laucello M, Salvaderi A. Enamel benefits of a new hydroxyapatite containing fluoride toothpaste. *Int Dental J.* 2009; 59: 325-31.
20. Kelinberg I. Sensistat. A new saliva-based composition for simple and effective treatment of dentinal sensitivity pain. *Dent Today.* 2002; 21: 42-7.
21. Lussi A, Kohler N, Zero D, Schaffner M, Megert B. A comparison of the erosive potential of different beverages in primary and permanent teeth using an in vitro model. *Eur J Oral Sci.* 2000; 108: 110-4.

22. Lussi A. Dental erosion, from diagnosis to therapy. Basel: Karger; 2006.
23. Lussi A, Schlueter N, Rakhmatullina E, Ganss C. Dental erosion – an overview with emphasis on chemical and histopathological aspects. *Caries Res.* 2011; 45(suppl1): 2-12.
24. Margaritis V, Mamai-Homata E, Koletsi-Kounari H, Polychronopoulou A. Evaluation of three different scoring systems for dental erosion: a comparative study in adolescents. *J Dent.* 2011; 39: 88-93.
25. Michael JA, Townsend GC, Greenwood LF, Kaidonis JA. Abfraction: separating fact from fiction. *Aust Dent J.* 2009; 54: 2-8.
26. Oderinu OH, Savage KO, Uti OG, Adegbulugbe IC. Prevalence of self-reported hypersensitive teeth among a group of Nigerian undergraduate students. *Niger Postgrad Med J.* 2011; 18: 205-9.
27. Panagakos F, Schiff T, Guignon A. Dentin hypersensitivity: effective treatment with an in-office desensitizing paste containing 8% arginine and calcium carbonate. *Am J Dent.* 2009; 22(Spc Is A): 1A-24A.
28. Pashley DH. Dentin permeability and dentin sensitivity. *Proc Fin Dent Soc.* 1992; 88: 31-7.
29. Pashley DH. Theory of dentin sensitivity. *J Clin Dent.* 1994; 5 (Spec Iss): 65-7.

30. Peacock JM, Orchardson R. Effects of potassium ions on action potential conduction in A- and C-Fibers of rat spinal nerves. *J Dent Res.* 1995; 74: 634-41.
31. Petrou I, Heu R, Stranick M, Lavender S, Zaidel L, Cummins D, et al. A breakthrough therapy for dentin hypersensitivity: How dental products containing 8% arginine and calcium carbonate work to deliver effective relief of sensitive teeth. *J Clin Dent.* 2009; 20(Spec Iss): 23-31.
32. Pinto SC, Batitucci RG, Pinheiro MC, Zandim DL, Spin-Neto R, Sampaio JE. Effect of an acid diet allied to sonic toothbrushing on root dentin permeability: an in vitro study. *Braz Dent J.* 2010; 21: 390-5.
33. Pradeep AR, Sharma A. Comparison of clinical efficacy of a dentifrice containing calcium sodium phosphosilicate to a dentifrice containing potassium nitrate and to a placebo on dentinal hypersensitivity: a randomized clinical trial. *J Periodontol.* 2010; 81: 1167-73.
34. Prati C, Montebugnoli I, Suppa P, Valdrè G, Mongiorgi R. Permeability and morphology of dentin after erosion induced by acidic drinks. *J Periodontol.* 2003; 74: 428-36.
35. Rios D, Magalhães AC, Polo RO, Wiegand A, Attin T, Buzalaf MA. The efficacy of a highly concentrated fluoride dentifrice on bovine enamel subjected to erosion and abrasion. *J Am Dent Assoc.* 2008; 139: 1652-6.

36. Rios D, Santos FC, Honório HM, Magalhães AC, Wang L, de Andrade Moreira Machado MA, et al. An in situ/ex vivo comparison of the ability of regular and light colas to induce enamel wear when erosion is combined with abrasion. *Quintessence Int.* 2011; 42: 244-50.
37. Ritter AV, de L Dias W, Miguez P, Caplan DJ, Swift EJ Jr. Treating cervical dentin hypersensitivity with fluoride varnish: a randomized clinical study. *J Am Dent Assoc.* 2006; 137: 1013-20.
38. Schiff T, Delgado E, Zhng YP, DeVizio W, Mateo LR. Clinical evaluation of the efficacy of a desensitizing paste containing 8% arginine and calcium carbonate in providing instant and lasting in-office relief of dentin hypersensitivity. *Am J Dent.* 2009; 22(Spec Iss A): 8A-15A.
39. Schlueter N, Hara A, Shellis RP, Ganss C. Methods for the measurement and characterization of erosion in enamel and dentine. *Caries Res.* 2011; 45(suppl 1): 13-23.
40. Shellis RP. A microcomputer program to evaluate the saturation of complex solutions with respect to biominerals. *Comput Appl Biosci.* 1988; 4: 373-9.
41. Sobral MAP, Carvalho RCR, Garone Netto N. Prevalência de hipersensibilidade dentinária cervical. *Rev Odontol Univ São Paulo.* 1995; 9: 177-81.

42. Sowinski J, Ayad F, Petrone M, DeVizio W, Volpe A, Ellwood R, et al. Comparative investigations of the desensitizing efficacy of new dentifrice. *J Clin Periodontol*. 2001; 28: 1032-8.
43. Tirapelli C, Panzeri H, Soares RG, Zanotto ED. A novel bioactive glass-ceramic for treating dentin hypersensitivity. *Braz Oral Res*. 2010; 24: 381-7.
44. Walters PA. Dentine hypersensitivity: a review. *J Contemp Dent Pract*. 2005; 6: 107-17.
45. Wara-aswapati N, Krongnawakul D, Jiraviboon D, Adulyanon S, Karimbux N, Pitiphat W. The effect of a new toothpaste containing potassium nitrate and triclosan on gingival health, plaque formation and dentine hypersensitivity. *J Clin Periodontol*. 2005; 32: 53-8.
46. Wang X, Megert B, Hellwig E, Neuhaus KW, Lussi A. Preventing erosion with novel agents. *J Dent*. 2011; 39: 163-70.
47. West NX, Hooper SM, O'Sullivan D, Hughes N, North M, Macdonald EL, et al. In situ randomized trial investigating abrasive effects of two desensitizing toothpastes on dentine with acidic challenge prior to brushing. *J Dent*. 2011; 25 [Epub ahead of print].
48. Zandim DL, Corrêa FOB, Sampaio JEC, Rossa JrC . The influence of vinegars on exposure of dentinal tubules: a SEM evaluation. *Braz Oral Res*. 2004; 18: 63-8.

49. Zandim DL, Leite FRM, Sampaio JEC. In vitro evaluation of the effect of dietary acids and toothbrushing on human root dentin permeability. *Quintessence Int.* 2010; 41: 257-63.

Anexos



ANEXO 1 – CERTIFICADO COMITÊ DE ÉTICA CAPÍTULO 1

ANEXO 2 – CERTIFICADO COMITÊ DE ÉTICA CAPÍTULO 2

ANEXO 3 – CERTIFICADO COMITÊ DE ÉTICA CAPÍTULO 3

ANEXO 4 – CARTA DE ENVIO ARTIGO CAPÍTULO 3

Autorizo a reprodução deste trabalho.
(Direitos de publicação reservados ao autor)

Araraquara, 20 de Janeiro de 2012.

SHELON CRISTINA SOUZA PINTO

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA



Comitê de Ética em Pesquisa



Certificado

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado "AVALIAÇÃO IN VITRO DO EFEITO DE ÁCIDOS DA DIETA NA PERMEABILIDADE E MORFOLOGIA DENTINÁRIA", sob o protocolo nº 52/04, de responsabilidade do Pesquisador (a) JOSÉ EDUARDO CEZAR SAMPAIO, está de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/MS, de 10/10/96, tendo sido aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa-FOAR, com validade de 02 (dois) anos, quando será avaliado o relatório final da pesquisa.

Certify that the research project titled "IN VITRO EVALUATION OF THE EFFECT OF DIETARY ACIDS ON PERMEABILITY AND MORPHOLOGY OF HUMAN DENTIN", protocol number 52/04, under Dr JOSÉ EDUARDO CEZAR SAMPAIO responsibility, is under the terms of Conselho Nacional de Saúde/MS resolution # 196/96, published on May 10, 1996. This research has been approved by Research Ethic Committee, FOAR-UNESP. Approval is granted for 02 (two) years when the final review of this study will occur.

Araraquara, 04 de outubro de 2004.


Profª Drª Marian Aparecida Onofre
Coordenadora

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA



Comitê de Ética em Pesquisa

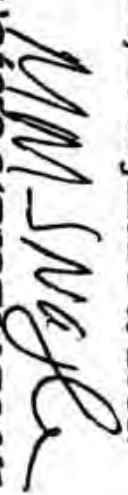


Certificado

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado "O ANÁLISE DA SUPERFÍCIE DENTINÁRIA POR DUAS DIFERENTES TÉCNICAS ÓPTICAS ANTES E APÓS O TRATAMENTO COM DENTIFRÍCIO AGENTE DESSENSIBILIZANTE. ESTUDO IN VITRO", sob o protocolo nº 34/10, de responsabilidade do Pesquisador (a) JOSÉ EDUARDO CEZAR SAMPELIO está de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/MS, de 10/10/96, tendo sido aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa-FOAR, com validade de 02 (dois) anos, quando será avaliado o relatório final da pesquisa.

Certify that the research project titled "ANALYSIS OF THE DENTINE SURFACE BY TWO DIFFERENT OPTICAL TECHNIQUES BEFORE AND AFTER TREATMENT WITH TOOTHPASTE CONTAINING DESENSITIZING AGENTS. IN VITRO STUDY", protocol number 34/10, under Dr JOSÉ EDUARDO CEZAR SAMPELIO responsibility, is under the terms of Conselho Nacional de Saúde/MS resolution # 196/96, published on May 10, 1996. This research has been approved by Research Ethic Committee, FOAR-UNESP. Approval is granted for 02 (two) years when the final review of this study will occur.

Araraquara, 27 de janeiro de 2011.


Prof. Dr. MAURÍCIO MEIRELLES MAGALHÃES
Coordenador

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA



Comitê de Ética em Pesquisa



Certificado

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado "AVALIAÇÃO DE NOVOS PRODUTOS NA REDUÇÃO DA PERMEABILIDADE DA DENTINA RADICULAR E RESISTÊNCIA A DESAFIOS ÁCIDOS" sob o protocolo nº 60/10, de responsabilidade do Pesquisador (a) JOSÉ EDUARDO CEZAR SAMPELIO está de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/MS, de 10/10/96, tendo sido aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa-FOAr, com validade de 2 (dois) ano, quando será avaliado o relatório final da pesquisa.

Certify that the research project titled "EVALUATION OF NOVEL PRODUCTS TO REDUCE PERMEABILITY AND INCREASE ACID CHALLENGE RESISTANCE OF HUMAN DENTIN", protocol number 60/10, under Dr JOSÉ EDUARDO CEZAR SAMPELIO responsibility, is under the terms of Conselho Nacional de Saúde/MS resolution # 196/96, published on May 10, 1996. This research has been approved by Research Ethic Committee, FOAr-UNESP. Approval is granted for 2 (two) year when the final review of this study will occur.

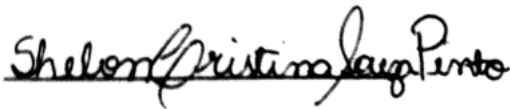
Araraquara, 8 de fevereiro de 2011.

M. M. S. Nagle
Prof. Dr. Maurício Menezes Nagle
Coordenador


Araraquara, 15th November, 2011

Jesus Djalma Pécora
Paulo Cesar Saquy
Manoel Damião de Souza Neto
Editors, Brazilian Dental Journal

We would like to submit the paper entitled “Preventive effect of a high fluoride toothpaste and arginine-carbonate toothpaste on dentinal tubules exposure followed by acid challenge: a dentine permeability evaluation” for consideration by this highly regarded journal. The authors state that this manuscript is an original paper which is not concurrently under consideration for publication elsewhere. In addition, this investigation is free conflict of interest. The authors also confirm the final manuscript has been read and each author’s contribution has been approved by the appropriated author.



Shelon Cristina Souza Pinto



Michele Carolina Pinheiro



Rodrigo Cavassim



José Eduardo Cezar Sampaio