

EROSÃO DENTAL: INFLUÊNCIA DO FOSFATO DE CÁLCIO, MATERIAIS RESINOSOS E IONOMÉRICOS NA PERMEABILIDADE DENTINÁRIA

DENTAL EROSION: INFLUENCE OF CALCIUM PHOSPHATE, RESIN AND IONOMERIC MATERIALS ON DENTAL PERMEABILITY

Fábia Regina Vieira de Oliveira Roma¹, Carlos Rocha Gomes Torres², Leily Macedo Firoozmand³

Resumo

Introdução: Com o aumento do consumo de dietas ácidas, desajustes oclusais e envelhecimento da população, há um aumento de lesões dentais não cáries e hipersensibilidade dental. **Objetivo:** Avaliar, *in vitro*, por meio do teste da condutância hidráulica, a influência de fosfato de cálcio, materiais resinosos, resinosos-ionoméricos na permeabilidade dentinária, e seu efeito após desafio erosivo. **Métodos:** Foram confeccionados 40 discos de dentina bovina com 6mm de diâmetro e 1mm de espessura. A condutância hidráulica inicial foi medida, após a remoção da *smear layer* e abertura tubular, com o auxílio do aparelho de permeabilidade dentinária (ODEME). Os espécimes foram divididos estratificadamente em 4 grupos experimentais (n=10): Single Bond 2 (3M), Clinpro XT Varnish (3M), Nano P Dessensibilize (FGM), e Controle (sem tratamento). Estes foram imersos em água deionizada (37±1°C) por 24. Mensurações da condutância hidráulica foram realizadas após os tratamentos e após a realização do desafio erosivo. Foram calculadas as variações percentuais (%P) para os valores de permeabilidade pós-tratamento (%PPT) e pós-desafio erosivo (%PPDE). Os testes ANOVA e pos-hoc Scheffe analisaram (%PPT), e Test-T pareado para as condições (%PPT e %PPDE) (p<0,05). **Resultados:** Os sistemas adesivo Single Bond 2 e ionomérico-resinoso Clinpro XT promoveram maior redução da permeabilidade dentinária (>90%), e o agente dessensibilizante Nano P apresentou significativa redução da permeabilidade quando comparada ao grupo sem tratamento (p<0,001). Os tratamentos realizados foram resistentes ao desafio erosivo. **Conclusão:** Os sistemas à base de componentes resinosos, ionoméricos e fosfato de cálcio reduzem a permeabilidade dentinária, e apresentam resistência ao desafio erosivo.

Descritores: Permeabilidade da Dentina. Sensibilidade da Dentina. Adesivos Dentinários.

Abstract

Introduction: The increase in consumption of acidic diets, occlusal maladjustments and an aging population, leads to an increase in non-cariou dental lesions and dental hypersensitivity. **Objective:** The aim of this *in vitro* study was to assess the influence of calcium phosphate, resinous, resinous-ionomeric materials, in the dentin permeability, and its effect after erosive challenge, using hydraulic conductance test. **Methods:** Forty discs of bovine dentine (6mm diameter x 1mm thickness) were made. After removal of the smear layer and tubular opening, with the aid of the permeability device (ODEME), the initial hydraulic conductance was measured. Specimens were randomly assigned in 4 groups (n=10), to receive the following treatments: Single Bond 2 (3M), Clinpro XT Varnish (3M), Nano P Desensitize (FGM), and Control (without treatment). They were immersed in deionized water and kept (37±1°C) for 24 hours. Measurements of hydraulic conductance were performed after treatments and after erosive challenge. Percentage permeability variations (%P) for the post-treatment (%PPT) and post-erosive challenge (%PPEC) values were calculated. The ANOVA and post-hoc Scheffe tests analyzed (%PPT), and Test-T paired for the conditions (%PPT and %PPEC) (p<0,05). **Results:** The adhesive Single Bond 2 and ionomer-resinous system Clinpro XT promoted a greater reduction in dentin permeability (> 90%), and the desensitizing agent Nano P showed a significant reduction in permeability when compared to the group without treatment (p<0.001). The treatments were resistant to the erosive challenge. **Conclusion:** Systems based on resinous, ionomeric and calcium phosphate components reduce dentin permeability and are resistant to the erosion challenge.

Keywords: Dentin Permeability. Dentin Sensitivity. Dentin-Bonding Agents.

Introdução

A hipersensibilidade dentinária é uma queixa bastante frequente na população adulta com prevalência variando de 2,8% a 46%¹⁻⁴. Esta é uma condição clínica relevante pois pode afetar negativamente a qualidade de vida das pessoas uma vez que pode limitar as escolhas alimentares, dificultar a realização de uma higiene oral adequada ou até mesmo interferir na respiração⁵.

Os dentes com hipersensibilidade dentinária caracterizam-se pela presença de dentina exposta com túbulos dentinários abertos⁶. A hipótese mais aceita para explicar o mecanismo de ação da hipersensibilidade dentinária é a Teoria Hidrodinâmica que afirma que estímulos externos são capazes de promover a

movimentação do fluido dos túbulos dentinários que ativa as fibras nervosas e resulta na sensação dolorosa^{5,7,8}. Assim a maioria dos tratamentos para esta condição dolorosa visam a obliteração dos túbulos, evitando a movimentação do fluido dentinário e consequentemente reduzindo a sensação de dor⁶.

Por conseguinte, a maioria dos tratamentos de hipersensibilidade dentinária têm sido direcionados para a oclusão dos túbulos dentinários por meio de diferentes agentes seladores⁹. Dentre as terapêuticas propostas com esta finalidade, tem sido indicada a aplicação de: sistemas adesivos, vernizes fluoretados, agentes dessensibilizantes baseados em partículas de fosfato de cálcio e ionômero de vidro⁹⁻¹². O estudo do mecanismo de ação destes materiais faz-se necessário a fim de verificar a qualidade

¹ Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Universidade Federal do Maranhão - UFMA.

² Departamento de Dentística Restauradora da UNESP-ICT-SJC.

³ Departamento de Odontologia I. Universidade Federal do Maranhão-UFMA.
Contato: Leily Macedo Firoozmand. E-mail: leilyfiroozmand@hotmail.com

da resposta da dentina submetida a estes tratamentos.

Uma vez que abertura dos túbulos dentinários presente nos dentes com hipersensibilidade dentinária pode ter sido causada pela presença de ácidos de origem intrínseca ou extrínseca (erosão dental), os materiais empregados para terem ação duradoura devem ser resistentes à influência desses ácidos¹³.

Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar *in vitro* por meio do teste de condutância hidráulica a influência do uso do sistema adesivo, verniz resinoso-ionomérico, e fosfato de cálcio nanométrico (na forma e hidroxiapatita) na permeabilidade dentinária após os tratamentos e após desafio erosivo.

Método

Este estudo laboratorial "*in vitro*" foi realizado utilizando-se quarenta incisivos bovinos recém-extraídos que foram limpos e armazenados em água destilada, trocada semanalmente, num período que não excedeu 6 meses.

Preparação dos espécimes

Os dentes foram seccionados abaixo da junção amelocementária, com o auxílio de um disco diamantado (Dremel, Campinas, SP, Brasil) acoplado a um torno de alta rotação (Nevoni, São Paulo, Brasil), para remoção da raiz.

Com auxílio de uma broca trefina (6mm Ø interno) adaptada a uma máquina de corte (Micro Mill – Washington, EUA), sob abundante irrigação foram obtidas amostras circulares de esmalte e dentina da porção central mais plana da face vestibular do dente.

Para remoção do esmalte e padronização da espessura de dentina em 1 mm, as amostras foram desgastadas, em uma politriz circular (DP-10, Panambra, São Paulo, SP, Brasil), com lixa de carbetto de silício de granulação P600, P800, P1200 e polidas com lixas na granulação P2400 (Fepa P, Extex, Enfield, CT, USA), sob refrigeração constante de água.

Abertura dos túbulos dentinários

Para remoção da *smear layer* e abertura tubular as amostras foram imersas em solução de ácido fosfórico 37% por 30 segundos¹⁴. Decorrido este período, as amostras foram lavadas com água deionizada por 30 segundos e armazenadas em timol a 0,1%.

Condutância hidráulica

A permeabilidade dentinária foi determinada a partir da condutância hidráulica, utilizando-se o aparelho, modelo câmara dividida, THD 03 (ODEME Equipamentos médicos e odontológicos Ltda., Joaçaba, SC, Brasil). A condutância hidráulica (Lp) foi obtida utilizando-se fórmula: $Lp=Q/(AS.P)^{11}$ onde;

Lp=condutância hidráulica expressa em $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{cmH}_2\text{O}^{-1}$,

Q= taxa de filtração em $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$,

AS= área de superfície exposta à filtração em cm^2 ,

P = pressão hidrostática que atravessa a dentina em cmH_2O .

Desta forma, a condutância hidráulica foi mensurada em três momentos: após remoção da *smear layer* - inicial (CH0) (PI), após os tratamentos (aplicação dos materiais) (CH1) e após o desafio erosivo (CH2).

Para a determinação da condutância hidráulica, as amostras foram posicionadas entre dois anéis que permitiram a padronização da área de dentina disponível para filtração da água deionizada ($0,03801\text{ cm}^2$) e adequada vedação. A face pulpar permaneceu em contato com o fluido (água deionizada) sob a pressão de $703\text{ cmH}_2\text{O}$ e o lado externo voltado para o meio ambiente, de acordo com a estrutura dental¹⁵. A filtração do fluido através da dentina foi acompanhada, durante 2 min, por meio do deslocamento linear de uma bolha de ar inserida no capilar de vidro, utilizando-se um paquímetro digital. Este capilar de vidro (volume interno de $75\mu\text{L}$ e comprimento de 101 mm) é responsável por unir o reservatório de água e a câmara de perfusão. Três medidas consecutivas do deslocamento linear da bolha foram registradas para cada amostra e a média dessas medidas foi utilizada para a determinação da permeabilidade dentinária.

Distribuição dos grupos experimentais

Após a leitura da (CH0) as amostras foram divididas de forma estratificada em 4 grupos (n=10) de modo que os mesmos tivessem médias de condutância hidráulica inicial semelhantes. A aplicação dos materiais sobre a dentina foi realizada conforme instruções dos fabricantes. Após a realização dos tratamentos os espécimes foram armazenados em água deionizada a $37\pm 1^\circ\text{C}$ por 24 h (Quadro 1).

Desafio erosivo

O desafio erosivo foi realizado na face externa (vestibular) dos espécimes, por meio de quatro ciclos diários de erosão durante cinco dias. Cada ciclo consistiu na imersão das amostras em solução de ácido cítrico a 0,3%, com pH 2,3 por 2 minutos, seguida pela lavagem em água ultrapura e imersão em saliva artificial (pH=7) por 1 hora, formulação proposta por Gohring *et al.*¹⁶ Previamente ao início de um novo ciclo, as amostras foram lavadas com água ultrapura e novas soluções de ácido cítrico e de saliva artificial foram utilizadas. A sequência de 4 ciclos de desafio erosivo e 20 horas de imersão em saliva artificial foi repetida por 5 dias consecutivos¹⁷. Após o desafio erosivo as amostras foram mantidas em água ultrapura a $37\pm 1^\circ\text{C}$ por 24h.

Percentual de permeabilidade dentinária

A permeabilidade inicial calculada a partir de CH0, foi considerada como sendo o valor de 100% para cada amostra analisada. O percentual de permeabilidade dentinária para cada amostra foi calculada após o tratamento (%PPT) e após o desafio erosivo (%PPDE), sendo que cada amostra foi seu próprio controle.

Para a obtenção destes valores de permeabilidade, foi aplicada a seguinte fórmula: $P\% = (Lp.100)/Lp_{\text{inicial}}$, onde P%= percentual de permeabilidade em relação à permeabilidade inicial, Lp = condutância hidráulica em

Quadro 1 - Materiais/tratamentos realizados sobre a dentina.

Material/lote	Composição	Modo de aplicação
Single Bond 2 (3M) L: N587475	Etanol, Bis-GMA, silano tratado com partícula de sílica coloidal, 2-hidrosietilmetacrilato, glicerol 1,3 dimetacrilato, copolímero de ácido acrílico e ácido itacônico e diuretano dimetacrilato	-Secagem da superfície com papel absorvente -Aplicação de ácido fosfórico a 37% por 15s -Lavagem com água por 10s e secagem com papel absorvente -Duas camadas de Single Bond 2 consecutivas, aplicadas ativamente por 15s -Leve jato de ar por 5s -Fotopolimerização por 10s
Clinpro XT Varnish (3M) L: 1432800813	Pasta A: Pó de vidro silanizado, sílica tratada com silício, metacrilato 2-hidroxietila, água, bisfenol A diglicidil éter dimetacrilato (BIS-GMA) Líquido B: Copolímero de ácido acrílico e itacônico, água, metacrilato 2-hidroxietila	-Secagem da superfície com papel absorvente. -Foi dispensado um click do produto no bloco de mistura. Liberada a alavanca após parar de sair o produto (2s) -Misturado os componentes por 10 a 15 s, em área de 2,5 cm de diâmetro, obtendo-se uma mistura de aparência lisa e brilhante -Aplicação da mistura, formando uma camada uniforme de 0,5 mm, com um microbrush -Fotoativar por 20s -Limpar a superfície com bolinha de algodão umedecida
Dessensibilize Nano P (FGM) L: 250614	Ingredientes ativos: Fosfato de cálcio nanométrico (na forma de hidroxiapatita), fluoreto de sódio, nitrato de potássio Ingredientes inativos: água destilada, espessante, tensoativo, umectante, aroma, adoçante e conservante.	-Secagem da superfície com papel absorvente -Aplicação do produto com microbrush -Fricção da superfície com um disco de feltro (Diamond flex, FGM) por 10s, adaptado em baixa rotação com velocidade baixa -Deixar o produto em repouso por 5 min -Remover o excesso com bolinha de algodão
Controle (sem tratamento)	Dentina sem smear layer	

cada momento (após tratamento ou após desafio erosivo), L_{pinicial} = condutância hidráulica inicial (CH0) considerada após a remoção da smear layer e abertura tubular.

Micrografias em microscópio eletrônico de varredura (MEV)

Foram realizadas micrografias (5000x) ilustrativas da superfície tratada nos diferentes grupos experimentais. Para isso as amostras foram dissecadas em uma cuba contendo sílica por 24h. Posteriormente, as amostras foram posicionadas em um stub de alumínio com o auxílio de uma fita de carbono condutora e levadas ao aparelho metalizador (SC7620 Sputter Coater, Emitech). A análise das amostras foi realizada pela captação das imagens por meio de um software acoplado ao MEV (Inspect 550, Fei).

Análise estatística

Foram calculados os valores médios (desvio-padrão) e mediana da variação do percentual de permeabilidade dentinária pós-tratamento (%PPT) e pós-desafio ácido (%PPDE).

O Teste de homogeneidade das variâncias (Teste de Levene) indicou $p=0,021$, então foram empregados os testes ANOVA *one way* e *pos-hoc Scheffe* para testar a hipótese diferença entre os grupos (%PPT). Já a hipótese que avaliou as condições %PPT e %PPDE, foi testada empregado o teste T para amostras pareadas ($p<0,05$).

O nível de significância adotado foi de 5%. O programa estatístico utilizado foi o SPSS 23.0 (IBM, Armonk, NY, USA).

Resultados

Os valores médios de porcentagem de permeabilidade dentinária após o tratamento (%PPT) (Figura 1).

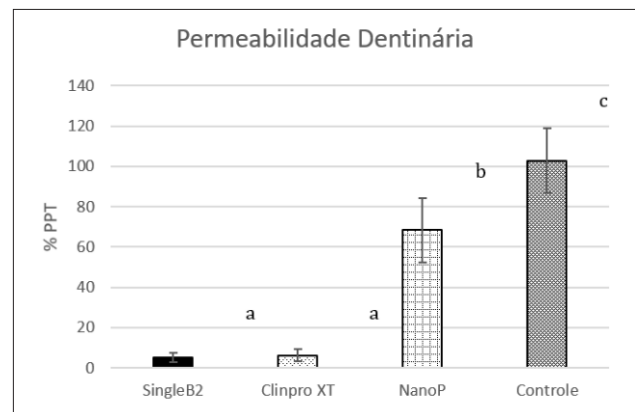


Figura 1 - Média e desvio-padrão da permeabilidade dentinária após os diferentes tratamentos ($p<0,001$).

Enquanto o grupo controle (sem tratamento) apresentou maior permeabilidade, menores valores de permeabilidade foram encontrados para o sistema adesivo e verniz resinoso-ionomérico ($p<0,001$). A permeabilidade foi reduzida em mais de 90% com o uso dos sistemas resinoso e resinoso-ionomérico, que apresentam uma barreira mecânica, composta por partículas inorgânicas (Figura 2).

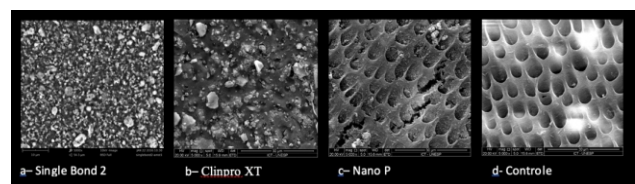


Figura 2 - Micrografias em MEV (5000x) das superfícies dentinárias tratadas e submetidas à avaliação da permeabilidade.

Quando comparada a permeabilidade da dentina tratada (%PPT) e após o desafio erosivo (%PPDE), verifica-se que apenas o grupo não tratado (controle)

aumentou a permeabilidade após o desafio erosivo. Os demais tratamentos mantiveram os valores de permeabilidade mesmo após o desafio erosivo (Tabela 1).

Tabela 1 - Valores médios (desvio-padrão) mediana da variação percentual de permeabilidade dentinária pós-tratamento e pós desafio erosivo.

Grupos	%PPT	%PPDE	p-Value*
Single B2	5,22 (2,26)	7,21(5,47)	0,27
Clinpro XT Varnish	6,21 (3,08)	7,32 (5,61)	0,49
Nano P	68,32 (15,78)	109,44 (51,84)	0,09
Controle	102,97 (16,09)	162,83 (49,55)	0,04*

*Test-T pareado (p<0,05)

Discussão

A avaliação da eficácia de diferentes materiais e técnicas na oclusão dos túbulos dentinários é de grande relevância para auxílio da escolha do tratamento mais adequado para o tratamento da hipersensibilidade dentinária¹⁰. No presente estudo, verificou-se que os materiais utilizados (sistema adesivo, verniz resinoso-ionomérico, e fosfato de cálcio nanométrico) reduziram a permeabilidade dentinária.

A avaliação da condutância hidráulica tem sido apontada como uma forma adequada de quantificar a permeabilidade dentinária, sendo este um método empregado em diversos estudos^{11,14,18}. Os estudos de hipersensibilidade dentinária que avaliam a permeabilidade da dentina, os tratamentos dentinários foram realizados após remoção total da *smear layer*^{11,14}. Esta manobra foi realizada com o intuito de simular as condições observadas nos dentes com hipersensibilidade dentinária, ou seja, dentina com túbulos abertos. Dentes com hipersensibilidade dentinária apresentam um substrato dentinário com oito vezes mais túbulos abertos e com diâmetro tubular duas vezes maior do que em dentes com ausência de sensibilidade¹³. Algumas vezes, é ainda observado perda de dentina peritubular representada pela presença de sulcos entre os túbulos¹⁹.

A fim de estabelecer um critério de comparação e efetividade entre os diferentes tratamentos, e não apenas verificar o grau de obliteração dentinária em relação ao dente estudado, foi adotado o grupo controle. O estabelecimento de um grupo controle auxiliou na obtenção de resultados sem a existência de falsos positivos^{11,14}.

Neste estudo, foi avaliada a influência da aplicação, em uma única sessão, de materiais resinosos, resinosos-ionoméricos e a base de fosfato de cálcio para o tratamento do substrato dentinário, principalmente observado nos casos de lesões não cáries ocasionadas em decorrência de erosão. Os materiais resinosos apresentaram melhores resultados, pois funcionaram como uma barreira semi-permeável

Referências

- Rees JS, Addy M. A cross sectional study of buccal cervical sensitivity in UK general dental practice and a summary review of prevalence studies. *Int J Dent Hyg*, 2004; 2(2): 64-69.
- West NX, Sanz M, Lussi A, Bartlett D, Bouchard P, Bourgeois D. Prevalence of dentine hypersensitivity and study of associated factors: a European population-based cross-sectional study. *J Dent*, 2013; 41(10): 841-851.
- Costa RS, Rios FS, Moura MS, Jardim JJ, Maltz M, Haas AN. Prevalence and risk indicators of dentin hypersensitivity in adult and elderly populations from Porto Alegre, Brazil. *J Periodontol*, 2014; 85(9): 1247-1258.
- Scaramucci T, Anfe TEA, Ferreira SS, Frias AC, Sobral MAP. Investigation of the prevalence, clinical features, and risk factors of dentin hypersensitivity in a selected Brazilian population. *Clin Oral Invest*, 2014; 18(2): 651-657.

vedando parcialmente os túbulos dentinários.

O sistema adesivo (Single Bond 2) e o verniz resinoso-ionomérico (Clinpro XT) são materiais polimerizáveis que reduziram em mais de 90% a permeabilidade dentinária, não apresentando diferença estatística entre si. Enquanto o Single Bond 2 atua pelo micro-embriamento de monômeros hidrofóbicos, componentes hidrofílicos e solvente que auxilia sua penetração na trama de colágeno, o Clinpro XT Varnish é material ionomérico modificado por resina que adere à dentina graças às trocas iônicas entre o material e a estrutura dentária, promovendo a oclusão mecânica dos túbulos dentinários. Além disso, o Clinpro XT Varnish libera flúor e possui cálcio e fosfato importantes no processo de remineralização, além da matriz orgânica destes materiais (Single Bond e Clinpro XT), as micrografias em MEV, demonstram a presença de inúmeras partículas inorgânicas de tamanhos variados obliterando os túbulos dentinários²⁰⁻²².

Já Dessensibilize Nano P, atua pela deposição de nanopartículas de fosfato de cálcio no interior dos túbulos dentinários. Este, apresentou valores de permeabilidade menor que o grupo controle, porém maiores que os materiais resinosos. Segundo o fabricante, é indicado que o Nano P pode ser aplicado uma única vez ou quantas sessões forem necessárias para a dessensibilização dentinária. O Nano P possui em sua composição, o fluoreto que age em conjunto com o fosfato de cálcio remineralizando a dentina, e, o nitrato de potássio que além disto, age sobre as fibras nervosas despolarizando-as e reduzindo a transmissão do impulso nervoso. É também relatado que a aplicação única do fosfato de cálcio CPD-100 (TTCP- Fosfato tetracálcico) e fosfato dicálcico anidro (DCPA) promove uma efetiva redução da permeabilidade dentinária, com a cobertura da dentina com obliteração dos túbulos, estendendo-se a aproximadamente 5 µm de profundidade¹¹.

Diante do desafio erosivo, todos os materiais estudados apresentaram resistência ao aumento da permeabilidade e o grupo não tratado apresentou significativo aumento da permeabilidade dentinária. Os ciclos erosivos com ácido cítrico foram simulados a fim de auxiliar na verificação da permeabilidade o comportamento da dentina diante de desafios mais agressivos¹⁷.

Por se tratar de um estudo “in vitro” a impossibilidade de reproduzir todas as condições orais representaram limitação do estudo.

Os resultados permitiram concluir que os sistemas à base de componentes resinosos, ionoméricos e fosfato de cálcio (NANO P) apresentaram grande potencial de redução da permeabilidade dentinária, e promoveram uma maior resistência ao desafio erosivo.

Enfatiza-se que avaliações laboratoriais prévias são necessárias, a fim de posteriormente estudo “in vivo” possam ser realizados.

5. Chu CH, Lo ECM. Dentin hypersensitivity: a review. *Hong Kong Dent J*, 2010; 7(1): 15-22.
6. Lopes AO, Aranha ACC. Comparative evaluation of the effects of Nd:YAG laser and a desensitizer agent on the treatment of dentin hypersensitivity: a clinical study. *Photomed Laser Surg*, 2013; 31(3): 132-138.
7. Rosing CK, Fiorini T, Liberman DN, Cvagni J. Dentine hypersensitivity: analysis of self-car products. *Braz Oral Res*, 2009; 23(Suppl 1): 56-63.
8. Brännström M. The hydrodynamic theory of dentinal pain: sensation in preparations, caries and dentinal crack. *Journal of Endodontics*, 1986; 12(10), 453-457
- Cunha-Cruz J, Stout JR, Heaten LJ, Wataha JC. Dentin hypersensitivity and oxalates: a systematic review. *J Dent Rest*, 2011; 90(3): 304-310.
9. Davari AR, Ataei E, Assarzadeh H. Dentin hypersensitivity: etiology, diagnosis and treatment; a literature review. *J Dent Shiraz Univ Med Sci*, 2013; 14(3): 136-145.
10. Thanatvarakorn O, Nakashima S, Sadr A, Prasansutti-porn T, Ikeda M, Tagami J. In vitro evaluation of dentinal hydraulic conductance and tubule sealing by a novel calcium-phosphate desensitizer. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2013; 101(2): 303-309.
11. Ding YJ, Yao H, Wang GH, Song H. A randomized double-blind placebo-controlled study of the efficacy of Clinpro XT varnish and Gluma dentin desensitizer on dentin hypersensitivity. *Am J Dent*, 2014; 27(2): 79-83.
12. 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(5): 280-284.
13. Calabria M, Porfirio R, Fernandes S, Wang L, Buzalaf M, Pereira J, et al. Comparative in vitro effect of TiF4 to NaF and potassium oxalate on reduction of dentin hydraulic conductance. *Oper Dent*, 2014; 39(4): 427-432.
14. Carvalho AO, Oliveira MT, Nikaido T, Tagami J, Giannini M. Effect of adhesive system and application strategy on reduction of dentin permeability. *Braz Oral Res*, 2012; 26(5): 397-403.
15. Carvalho AO, Oliveira MT, Nikaido T, Tagami J, Giannini M. Effect of adhesive system and application strategy on reduction of dentin permeability. *Braz Oral Res*, 2012; 26(5): 397-403.
16. Göhring TN, Zehnder M, Sener B, Schmidlin PR. In vitro microleakage of adhesive-sealed dentin with lactic acid and saliva exposure: a radio-isotope analysis. *J Dent*, 2004; 32(3): 235-240.
17. Chiga S, Toro CV, Lepri TP, Turssi CP, Colucci V, Corona SA. Combined effect of fluoride varnish to Er:YAG or Nd:YAG laser on permeability of eroded root dentine. *Arch Oral Biol*, 2016; 64: 24-27.
18. Kolker JL, Vargas MA, Armstrong SR, Dawson DV. Effect of desensitizing agents on dentin permeability and dentin tubule occlusion. *J Adhes Dent*, 2002 Fall; 4(3): 211-221.
19. Rimondini L, Baroni C, Carrassi A. Ultrastructure of hypersensitive and non-sensitive dentine. A study on replica models. *J Clin Periodontol*, 1995; 22(12): 899-902.
20. Sahin C, Cehreli ZC, Yenigul M, Dayangac B. In vitro permeability of etch-and-rinse and self-etch adhesives used for immediate dentin sealing. *Dent Mater J*, 2012; 31(3): 401-408.
21. Zhou SL, Zhou J, Watanabe S, Watanabe K, Wen LY, Xuan K. In vitro study of the effects of fluoride-releasing dental materials on remineralization in an enamel erosion model. *J Dent*, 2012; 40(3): 255-263.
22. Thimmaiah C, Shetty P, Shetty SB, Natarajan S, Thomas NA. Comparative analysis of the remineralization potential of CPP-ACP with Fluoride, Tri-Calcium Phosphate and Nano Hydroxyapatite using SEM/EDX - An in vitro study. *J Clin Exp Dent*, 2019; 11(12): 1120-1126.