

Atendendo solicitação da
autora, o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a
partir de 20/05/2024



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Camila Soares Lopes

**Propriedades biológicas, físicas e químicas de uma medicação intracanal
biocerâmica**

Araraquara

2022



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Camila Soares Lopes

**Propriedades biológicas, físicas e químicas de uma medicação
intra canal biocerâmica**

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista (Unesp) - Faculdade de Odontologia, Araraquara, para obtenção do título de Doutor em Odontologia, na Área de Endodontia.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Sérgio Cerri

Coorientadora: Prof^a Dr^a Juliane Maria
Guerreiro-Tanomaru

Araraquara

2022

L864p Lopes, Camila Soares
Propriedades biológicas, físicas e químicas de uma medicação
intracanal biocerâmica / Camila Soares Lopes. -- Araraquara, 2022
139 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Odontologia, Araraquara
Orientador: Paulo Sérgio Cerri
Coorientadora: Juliane Maria Guerreiro-Tanomaru

1. Endodontia. 2. Imuno-histoquímica. 3. Materiais dentários. 4.
Propriedades físicas. 5. Propriedades químicas. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de
Odontologia, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Camila Soares Lopes

**Propriedades biológicas, físicas e químicas de uma medicação
intracanal biocerâmica**

Comissão julgadora

Tese como requisito para obtenção do grau de doutor em Odontologia

Presidente e Orientador: Prof. Dr. Paulo Sérgio Cerri

2º Examinador: Prof. Dr. Gustavo Sivieri de Araújo

3º Examinador: Prof^a. Dr^a. Naiana Viana Viola

4º Examinador: Prof^a. Dr^a. Raquel Assed Bezerra Segato

Araraquara, 20 de maio de 2022.

DADOS CURRICULARES

Camila Soares Lopes

NASCIMENTO: 05 de março de 1989 – Alfenas - Minas Gerais

FILIAÇÃO: Ercílio Lopes e Eveline Soares Lapa Lopes

2011- 2015: Graduação em Odontologia pela Universidade Federal de Alfenas, UNIFAL/MG, Alfenas-Minas Gerais.

2016-2018: Mestre em Ciências Odontológicas, área de concentração em Odontologia, pela Universidade Federal de Alfenas, UNIFAL/MG, Alfenas-Minas Gerais.

2019-2021: Especialização em Endodontia pela Faculdade Herrero - FAEPO, Araraquara-SP.

2018-Atual: Doutoranda em Odontologia, área de concentração em Endodontia, pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Odontologia de Araraquara – FOAr/UNESP, Araraquara-SP.

Dedico este trabalho à minha avó Zilda Teodoro Miranda (*in memoriam*) e toda minha ancestralidade, que de alguma forma me permitiram estar aqui hoje lutando pelos meus ideais e mudando nossa história.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a **Deus**, pela sua infinita misericórdia, por ter abençoado esta jornada me dando força e coragem para enfrentar todos os obstáculos e por ter colocado pessoas que me ajudaram e me guiaram por toda trajetória. Aos amigos de luz que me acompanham nessa caminhada me protegendo e iluminando os meus passos, que nunca me desamparam.

Aos **meus pais** que me ensinaram que não há vitórias sem batalhas, sem esforço e gratidão. Que é preciso força e determinação para ir atrás dos sonhos. Obrigada por terem me dando o dom da vida e pela chance de trilharmos juntos esta caminhada. A **minha família**, tios e primos, por todo apoio e torcida. Em especial ao meu primo **Guilherme** que, mais que um primo, é parte de mim e me ensina os mais nobres dos sentimentos.

À minha madrinha **Maria de Lourdes** que me ajudou e financiou em todos os meus sonhos. Obrigada por tudo, por ser modelo de coragem, pelo apoio e por todas as orações e intenções emanadas. Ao meu tio **José Maria** que sempre frisou a importância do estudo e conhecimento na vida de uma pessoa (*in memoriam*). Aos **meus avôs e minhas avós** que de onde estiverem vibram pela minha felicidade (*in memoriam*).

À minha amiga de luz **Cristina** por todo amparo, conselhos e ajuda espiritual. Às minhas amigas de infância **Cínthia** por ter me apoiando na decisão de trilhar essa nova trajetória e ter me acompanhado nos primeiros dias aqui em Araraquara. A **Marília** por ser inspiração e me ensinar a lidar com os desafios da pós-graduação. À **Marcella, Karine e Luiza** pelo apoio e torcida de sempre.

À **Profª. Drª. Naiana Viana Viola**, não foi sorte, foi Deus. Essa vitória não seria possível sem você que foi minha inspiração desde a graduação e que foi meu maior apoio durante toda caminhada. Obrigada por ter reconhecido em mim o potencial que eu mesma nunca reconheci e por ser em minha vida o modelo de determinação, potência feminina, bondade e fé. Gratidão por ser mais que uma professora, uma eterna amiga.

Ao meu orientador **Prof. Dr. Paulo Sérgio Cerri**. Obrigada por ter aceitado me orientar, pelos ensinamentos e conhecimentos compartilhados, pela sua dedicação e competência, pelas vitórias e derrotas que passamos juntos durante

essa trajetória, me ensinando a levantar a cabeça e não desistir. Pela oportunidade de ter sido bolsista FAPESP, pois essa conquista não foi só minha. Minha eterna gratidão pelas experiências que passamos juntos.

À minha coorientadora **Prof^a. Dr^a. Juliane Maria Guerreiro Tanomaru** por todos os ensinamentos, tanto os profissionais quanto os pessoais. Por ser essa referência feminina e profissional que enaltece conhecimento e determinação. Ao **Prof. Dr. Mário Tanomaru Filho** por todo acolhimento, carinho, oportunidades que me deu desde minha chegada em Araraquara. Obrigada professores pela colaboração neste trabalho e minha eterna gratidão por todo apoio e incentivo na minha vida acadêmica, foi uma honra poder conviver, trabalhar e aprender com vocês.

À **Prof.^a Dr.^a Estela Sasso Cerri** pela colaboração neste trabalho, pelos ensinamentos na parte experimental com animais mostrando conhecimento e, ao mesmo tempo, amor pelos animais. À **Prof.^a Dr.^a Gisele Faria** pela sua disposição e carinho em sempre ajudar e dividir seus conhecimentos e pela colaboração na banca de qualificação deste trabalho. Ao **Prof. Dr. Guilherme Ferreira da Silva** muito obrigado pelas considerações e sugestões para o crescimento deste trabalho durante a banca de qualificação

Aos amigos e companheiros da pós-graduação **Fernanda, Mateus, Karina, Airton e Járder** que, além de todo apoio e amizade, ajudaram e dividiram seus conhecimentos para que eu pudesse realizar este trabalho e que muitas vezes me estimularam a continuar trabalhando com seriedade em busca dos meus objetivos.

À doutoranda **Jéssica Arielli Pradelli**, sou tão grata a Deus por ter te conhecido no meu primeiro dia em Araraquara. Obrigada por estar sempre do meu lado me apoiando, me acompanhando e sendo luz em meus dias. Sem você essa e tantas outras vitórias não seriam possíveis. Gratidão pela parceria nos momentos felizes e turbulentos.

À doutoranda **Rafaela Inada**, obrigada pela sua amizade e disposição em sempre me ajudar, por me acolher na sua casa e ser minha parceira de viagens, proporcionando grandes memórias registradas nas melhores fotos. Obrigada por me ensinar a ter paciência e calma no dia a dia.

À **Mariana Mena Barreto Pivoto-João**, você e sua família foram uns dos maiores presentes em Araraquara. Gratidão por essa amizade linda, saudades amiga!

Aos alunos da pós-graduação **Giselle, Evelin, Marcela, Cris, Hernan, Vitor e Livia** por fazerem parte desta trajetória, obrigada pela convivência e aprendizado durante esses anos e por estarem sempre dispostos a me ajudar. Aos alunos das disciplinas de Endodontia que sempre me acolheram e me respeitaram durante os estágios docentes.

Aos **funcionários** da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP por todo apoio e suporte, em especial ao **Pedro, Sandra, Alexandre, Cristiano e Renan**. Muito obrigada por tudo!

Aos professores que aceitaram o convite para compor a banca de defesa desta tese de doutorado, **Prof. Dr. Gustavo Sivieri de Araújo, Prof^a. Dr^a Raquel Assed Bezerra Segato e Prof^a. Dr^a Naiana Viana Viola** pela disponibilidade em melhorar nossos trabalhos.

Em especial aos **professores e alunos da Universidade Federal de Alfenas**, vocês foram a base de toda essa história incentivando, ajudando e sempre torcendo por mim.

À **Faculdade de Odontologia de Araraquara - FOAr, Universidade Estadual Paulista – UNESP**, representada pelo **Prof. Dr. Edson Alves de Campos** e pela **Prof.^a Dr.^a Patrícia P. Nordi Sasso Garcia**. Pela infraestrutura desta instituição que se tornou minha segunda casa, na qual, tenho muito orgulho de ter feito parte.

Ao **Programa de Pós-Graduação em Odontologia**, FOAr/UNESP, na pessoa do Coordenador **Prof. Dr. Paulo Sérgio Cerri**, pela oportunidade de se obter uma formação acadêmica de excelência e apoio.

À **FAPESP** – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processo nº 2018/16848-2) pelo apoio financeiro essencial para realização dessa pesquisa.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a execução desta tese.

“Que nada nos defina, que nada nos sujeite. Que a liberdade seja a nossa própria substância, já que viver é ser livre.”
Simone de Beauvoir*

*Disponível em:<https://veja.abril.com.br/coluna/pilulas-de-sabedoria/frase-do-dia-simone-de-beauvoir-2/>.

Lopes CS. Propriedades biológicas, físicas e químicas de uma medicação intracanal biocerâmica. [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2022.

RESUMO

O objetivo do estudo foi avaliar a biocompatibilidade e o potencial bioativo de uma medicação intracanal biocerâmica, Bio-C Temp (BIO; Angelus, Londrina, Brasil), em comparação a medicação à base de hidróxido de cálcio, Calen (CAL; SS White, Rio de Janeiro, Brasil) implantados nos tecidos do subcutâneo de 60 ratos, durante 7, 15, 30 e 60 dias. Análise de propriedades físico-químicas, incluindo radiopacidade, pH, solubilidade, escoamento, alteração volumétrica (%) e capacidade de preenchimento foram conduzidas com as medicações BIO e o CAL. **Publicação 1:** A espessura das cápsulas, o número de células inflamatórias (CI), células imunopositivas à interleucina-6 (IL-6) e IL-10 e conteúdo de colágeno foram mensurados. Os níveis séricos da transaminase glutâmico-oxalacética (TGO) e transaminase glutâmico-pirúvica (TGP), foram avaliados 7 e 60 dias. Os dados foram submetidos à ANOVA e teste Tukey ($p \leq 0,05$). Os níveis séricos de TGO e TGP foram semelhantes ($p > 0,05$). BIO e CAL apresentaram maior espessura das cápsulas aos 30 dias reduzindo aos 60 dias. Em todos os períodos, o número de CI e células IL-6-imunopositivas foram maiores em CAL. O número de células IL-10-imunopositivas aumentou significativamente no decorrer do tempo em BIO e CAL. Aos 60 dias, BIO mostrou maior conteúdo de colágeno em comparação ao CAL ($p < 0,0001$). Os danos teciduais inicialmente provocados por BIO foram suprimidos mais rapidamente em comparação àqueles provocados por CAL, favorecendo a reparação do tecido conjuntivo. **Publicação 2:** Neste estudo, os níveis séricos de cálcio (Ca^{+2}), fósforo (P^-) e fosfatase alcalina (ALP), a imunoexpressão de osteocalcina (OCN) e osteopontina (OPN), o número de fibroblastos e a deposição de calcita amorfa foram avaliados. Os dados foram submetidos à ANOVA/Tukey ($p \leq 0,05$). Aos 7 e 15 dias, os níveis de Ca^{+2} foram maiores nas amostras do CAL enquanto que o nível de P^- foi maior aos 7 dias em BIO e CAL. O nível de ALP foi alto em BIO e CAL até os 30 dias, reduzindo significativamente aos 60 dias. Em BIO e CAL, um aumento significativo no número de fibroblastos, na imunoexpressão de IL-10, OCN e OPN foram detectados ao longo do tempo. BIO e CAL apresentaram estruturas von Kossa-positivas e birrefringentes enquanto que, no grupo controle (tubos vazios), estas estruturas não foram observadas. BIO, assim como CAL, causou aumento dos níveis séricos de ALP, enzima essencial na biomineralização, e induziu células do tecido subcutâneo a sintetizar OCN e OPN, além da deposição de calcita, indicando que BIO tem potencial bioativo. **Publicação 3:** No presente estudo, o pH, radiopacidade, escoamento, solubilidade (após 7 e 14 dias imersão em água destilada e PBS), alteração volumétrica e capacidade de preenchimento (por micro-CT) foram avaliadas. Foram aplicados os testes estatísticos ANOVA/Tukey e teste T ($p \leq 0,05$). CAL mostrou maior pH, escoamento, alteração volumétrica e solubilidade após 14 dias de imersão em água destilada e 7 e 14 dias em PBS. BIO apresentou maior radiopacidade e capacidade de preenchimento ($p < 0,05$). Apesar de a medicação biocerâmica apresentar menor perda volumétrica e capacidade de preenchimento satisfatória, evitando vazios e falhas, o Bio-C Temp mostrou menor alcalinidade do meio em comparação ao Calen.

Palavras chave: Endodontia. Imuno-histoquímica. Materiais dentários. Propriedades físicas. Propriedades químicas.

Lopes CS. Biological, physical and chemical properties of a bioceramic intracanal medication [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2022.

ABSTRACT

The aim of the study was to evaluate the biocompatibility and bioactive potential of a bioceramic intracanal medication, Bio-C Temp (BIO; Angelus, Londrina, Brazil), in comparison to a calcium hydroxide-based medication, Calen (CAL; SS White, Rio de Janeiro, Brazil) implanted into the subcutaneous tissues of 60 rats for 7, 15, 30 and 60 days. Analyses of physicochemical properties, including radiopacity, pH, solubility, flowability, volumetric change (%) and filling capacity were conducted with BIO and CAL medications. **Publication 1:** The thickness of the capsules, the number of inflammatory cells (IC), immunopositive cells for interleukin-6 (IL-6) and IL-10, and collagen content were measured. Serum glutamic-oxalacetic transaminase (GOT) and glutamic-pyruvic transaminase (GPT) levels were evaluated at 7 and 60 days. The data were submitted ANOVA and Tukey's test ($p \leq 0.05$). Significant differences in the serum GOT and GPT levels were not detected ($p > 0.05$). The capsules around the BIO and CAL specimens were thicker at 30 days than at 60 days. In all periods, the number of IC and IL-6-immunopositive cells was significantly lower in BIO than in CAL specimens. In BIO and CAL specimens, the number of IL-10-immunopositive cells increased significantly over time. At 60 days, the capsules around the BIO contained greater collagen content than in CAL specimens ($p < 0.0001$). Tissue damage initially caused by BIO was suppressed more quickly compared to that caused by CAL, favoring connective tissue repair. **Publication 2:** In this study, the concentration of calcium (Ca^{+2}), phosphorus (P^-) and alkaline phosphatase (ALP) in the serum, the immunoexpression of osteocalcin (OCN) and osteopontin (OPN), the number of fibroblasts and the deposition of amorphous calcite were evaluated. Data were submitted to ANOVA and post-hoc Tukey test ($p \leq 0.05$). At 7 and 15 days, serum Ca^{+2} levels were higher in the CAL than in BIO samples while the P^- concentration was highest in BIO and CAL in comparison to control group (CG; empty tubes) at 7 days. The ALP level was high in BIO and CAL up to 30 days, decreasing significantly at 60 days. In BIO and CAL, a significant increase in the number of fibroblasts, in the immunoexpression of IL-10, OCN and OPN was detected over time. In contrast, OCN- and OPN-immunolabelled cells were not seen in the CG specimens. BIO and CAL specimens showed von Kossa-positive structures and birefringent deposits, while in the CG, these structures were not observed. BIO, as well as CAL, caused an increase in the serum ALP levels, an essential enzyme in biomineralization, and induced subcutaneous tissue cells to synthesize OCN and OPN, in addition to calcite deposition, indicating that BIO has bioactive potential. **Publication 3:** In the present study, pH, radiopacity, flowability, solubility (after 7 and 14 days immersion in distilled water and PBS), volumetric change and filling capacity (by micro-CT) were evaluated. ANOVA and Tukey's test and T test ($p \leq 0.05$) were applied. CAL showed higher pH, flow, volumetric change and solubility after 14 days of immersion in distilled water, and at 7 and 14 days in PBS. BIO showed greater radiopacity and filling capacity ($p < 0.05$). Despite the bioceramic medication presenting less volumetric loss and satisfactory filling capacity, avoiding voids and failures, Bio-C Temp showed lower alkalinity of the medium compared to Calen.

Keywords: Endodontics. Immunohistochemistry. Dental Materials. Physical properties. Chemical properties.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 PROPOSIÇÃO	18
3 PUBLICAÇÕES	19
3.1 Publicação 1	20
3.2 Publicação 2	49
3.3 Publicação 3	75
4 DISCUSSÃO	94
5 CONCLUSÃO	102
REFERÊNCIAS	103
APÊNDICE A	113
APÊNDICE B	127
ANEXO A	138
ANEXO B	139

1 INTRODUÇÃO

A complexidade da anatomia do sistema de canais radiculares dificulta a completa limpeza e desinfecção¹. Dessa maneira, mesmo após o preparo biomecânico os micro-organismos podem permanecer no seu interior², sendo essa a principal causa de fracasso do tratamento endodôntico³. O uso da medicação intracanal é necessária para os dentes com necrose pulpar pois a microbiota já se difundiu por todo o sistema de canais e no periápice. Assim, a medicação intracanal tem o papel de complementar a desinfecção dos canais radiculares, cemento apical e túbulos dentinários¹, se difundido pela dentina em áreas onde o preparo biomecânico não pode ser realizado, estimulando a reparação tecidual e o prognóstico endodôntico⁴. Além disso, durante o intervalo entre as sessões a medicação intracanal também atua como barreira física prevenindo a reinfecção e reduzindo o risco de proliferação dos remanescentes bacterianos⁵.

As pastas à base de hidróxido de cálcio têm sido amplamente utilizadas como medicação intracanal em diferentes condições endodônticas⁶, além de serem utilizadas no intuito de otimizar a desinfecção do canais radiculares, trocas periódicas são preconizadas em casos que há necessidade de formação e reparo de tecido mineralizado⁷, após trauma dentário⁶, no controle de reabsorções radiculares, no tratamento de lesões periapicais extensas, apicificações, perfurações radiculares⁸, na endodontia regenerativa⁶ e na pulpotomia⁹.

O hidróxido de cálcio destaca-se devido ao fato de apresentar ação antimicrobiana e excelentes propriedades biológicas⁴. As pastas de hidróxido de cálcio possuem a capacidade de inativar a endotoxina bacteriana¹⁰, dissolver tecido necrótico¹¹, estimular a diferenciação de osteoblastos¹², inibir a reabsorção dentária¹³ e possui efeito biológico mineralizador^{8,13}. A ação do hidróxido de cálcio é decorrente da dissociação iônica dos íons cálcio e hidroxila^{7,8,14}, pois proporciona um ambiente alcalino que favorece sua ação antimicrobiana e efeito mineralizante¹⁴. O efeito antimicrobiano do hidróxido de cálcio é atribuído principalmente à liberação de seus íons hidroxila em meio aquoso⁹, que se difundem através de túbulos dentinários até a superfície externa da raiz¹⁵. Estes íons são radicais livres com alto poder de reatividade¹⁶ e capacidade de destruir componentes estruturais da membrana celular das bactérias e diminuir sua atividade celular¹⁷. Além disso, os íons cálcio tem função na remoção de gás carbônico que constitui fonte respiratória

de bactérias anaeróbias¹⁸. O pH alcalino proporcionado pelo hidróxido de cálcio ao microambiente favorece o reparo e a calcificação ativa^{8,14,19}, uma vez que, neutraliza o ácido láctico dos osteoclastos e ativa fosfatase alcalina (ALP), enzima que desempenha um papel crucial na formação do tecido duro⁹. Os íons cálcio também desempenham um papel essencial na mineralização, estimulando a expressão do gene da fibronectina¹³.

Entretanto, a difusão de íons é dependente do veículo e das associações utilizadas na pasta à base de hidróxido de cálcio¹⁹. Características como a velocidade da dissociação iônica²⁰, solubilidade²¹ e difusão²² estão relacionadas ao tipo do veículo associado à medicação. Quando o hidróxido de cálcio é associado a um veículo viscoso, como propilenoglicol 400 e polietilenoglicol 400, a liberação desses íons é lenta e progressiva^{23,24}. A pasta Calen (SS White Artigos Dentários, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) é uma medicação intracanal à base de hidróxido de cálcio associada a um veículo viscoso, o polietilenoglicol 400. Esta pasta fornece ao microambiente um pH alcalino, possui ação antimicrobiana²¹ apresentando capacidade de inativar a endotoxina bacteriana¹⁰. Além disso, a pasta Calen é biocompatível^{25,26}, com capacidade de induzir a deposição de nódulos mineralizados²⁷, bem como, a formação de tecido mineralizado¹⁹, proporcionando reparo apical satisfatório^{14,19,28}.

Embora a medicação à base de hidróxido de cálcio apresente adequadas propriedades biológicas, a permanência da pasta no interior do canal radicular por longos períodos pode afetar as propriedades mecânicas da dentina radicular por degradação do colágeno⁶. A alcalinidade do hidróxido de cálcio pode também enfraquecer a raiz²⁹ aumentando a suscetibilidade à fratura³⁰, além da medicação à base de hidróxido de cálcio ser permeável aos fluídos dos tecidos e solúvel no canal radicular³¹. Por outro lado, o hidróxido de cálcio não é efetivo contra todas as bactérias⁹, apresentando baixa efetividade frente à espécie *Enterococcus faecalis*³². Estudos têm avaliado a associação do hidróxido de cálcio com outras substâncias com o intuito de melhorar seu espectro de ação³³⁻³⁵.

Materiais endodônticos biocerâmicos, ou seja, à base de silicatos de cálcio, têm se destacado por serem bioativos³⁶, devido a interação do material com a dentina formando uma zona intermediária mineralizada na presença de umidade³⁷. Os materiais biocerâmicos são biocompatíveis³⁸⁻⁴⁴, não citotóxicos⁴⁵⁻⁴⁷, mostram potencial biotivo^{45,47} e capacidade de induzir a regeneração óssea⁴⁸, devido pelo

menos em parte ao pH alcalino proporcionado ao meio e a liberação de íons cálcio⁴⁹. Os materiais biocerâmicos também apresentam ação antibacteriana^{45,47,50} e tomam presa em ambiente úmido⁵¹. Os materiais à base de silicato de cálcio são rotineiramente utilizados na Endodontia em procedimentos envolvendo a regeneração pulpar e o reparo de tecidos duros, como material reparador durante o capeamento pulpar, pulpotomia, apexificação, reparo de perfuração e retrobrutação, bem como, na obturação dos canais radiculares⁵².

Atualmente existe um interesse crescente no desenvolvimento de novos materiais endodônticos à base de silicato de cálcio⁵³. Deste modo, a Angelus® Indústria de Produtos Odontológicos S/A (Londrina, Brasil)⁵⁴ desenvolveu um novo medicamento endodôntico biocerâmico, o Bio-C Temp. Esta medicação é uma pasta, pronta para o uso, à base de silicatos de cálcio associada aos radiopacificadores tungstato de cálcio e óxido de titânio; esse medicamento biocerâmico também apresenta na sua composição o aluminato de cálcio, óxido de cálcio e resina base como veículo.

O Bio-C Temp é indicado como um curativo intracanal no tratamento endodôntico, retratamento, em dentes com rizogênese incompleta, perfurações e reabsorções externas e internas⁵⁴. De acordo com o fabricante, o Bio-C Temp dispensa e/ou elimina a necessidade de novas aplicações, constituindo-se numa vantagem em relação às medicações à base de hidróxido de cálcio que exigem trocas frequentes⁵⁴.

O Bio-C Temp deve ser removido do canal radicular após algum tempo por meio de protocolos semelhantes aos usados para as pastas à base de hidróxido de cálcio⁵⁴. As partículas de silicato de cálcio, presente na pasta biocerâmica, em ambiente úmido hidratam formando o silicato de cálcio hidratado na superfície da partícula. No entanto, as cadeias poliméricas presentes no material dificultam a ligação das partículas hidratadas e, em consequência, impossibilita que a medicação tome presa⁵³.

Este novo medicamento à base de silicato de cálcio mostrou efeito não citotóxico em extratos mais diluídos associados à cultura de fibroblastos⁵³, células da polpa dental humana (hDPCs)^{55,56} e células osteoblásticas humanas (Saos-2)²⁷. O Bio-C Temp induziu atividade osteogênica em ensaio *in vitro* em células da linhagem Saos-2, demonstrada pela deposição de nódulos mineralizados e atividade de ALP semelhante às medicações à base de hidróxido de cálcio, UltraCal XS (UltraDent

Product, Inc., Indaiatuba, SP, Brasil) e Calen. No entanto, com relação à atividade antimicrobiana, o Bio-C Temp apresentou menor efetividade contra *E. faecalis* na forma planctônica e de biofilme por meio do teste de contato direto e de cristal violeta em comparação as medicações à base de hidróxido²⁷.

Embora o meio aquoso contendo o Bio- C Temp tenha apresentado pH alcalino, o valor deste foi inferior ao Ultracal XS, uma medicação à base de hidróxido de cálcio associada a um veículo aquoso, nos períodos de 1, 24 e 72 horas. No entanto, diferenças significantes nos valores do pH das soluções contendo Bio-C Temp e Ultracal XS não foram detectadas aos 7 dias. A liberação de cálcio do material biocerâmico para o microambiente foi menor do que a pasta de hidróxido de cálcio apenas no período de 24 horas. Baseado nas normas *International Organization for Standardization* (ISO 6876:2016), o Bio-C Temp apresentou maior radiopacidade (cerca de 7 mm/Al) e ambos os materiais não promoveram penetração nos túbulos dentinários como foi demonstrado pela análise com microscopia confocal de varredura a laser (CLSM)⁵³.

Quando comparado aos materiais reparadores biocerâmicos, Bio-C Repair (Angelus, Londrina - PR, Brasil) e Biodentine (Septodont, Saint Maur des Fossés, France), o Bio-C Temp forneceu soluções com alcalinidade semelhante, porém maior liberação de cálcio após 24 horas de imersão. Utilizando dentes bovinos, os autores observaram que os três materiais foram associandos com a descolaração dental e a medicação biocerâmica mostrou menor radiopacidade que o Bio-C Repair que apresenta na composição óxido de zircônia como radiopacificador²². Estudo similar em dentes bovinos demonstrou que o Bio-C Temp apresentou maior radiopacidade e promoveu menor alteração de cor dentinária em comparação ao Ultracal XS e ao material reparador MTA Flow (UltraDent Product, Inc., Indaiatuba, SP, Brasil)⁵⁵.

Uma vez que a medicação entra em íntimo contato com tecidos perirradiculares, sua composição química e os compostos tóxicos liberados podem interferir na resposta inflamatória e, conseqüentemente, no processo de reparo⁵⁷. O implante de materiais dentários no tecido conjuntivo subcutâneo de ratos é um método recomendado pela ISO 10993⁵⁸ que permite avaliar a reação inflamatória em resposta aos materiais bem como permite avaliar as cascatas de eventos que culminam na regressão do processo inflamatório e a sua substituição por tecido conjuntivo denso, contendo fibroblastos e fibras colágenas^{40,42}. Assim, a análise em

diferentes períodos permite avaliar a intensidade do processo inflamatório, os principais tipos celulares e se o mesmo persiste ao longo do tempo, constituindo-se num parâmetro de avaliação das propriedades biológicas dos materiais dentários⁵⁹.

Os materiais endodônticos podem liberar substâncias que estimulam a migração e a diferenciação das células inflamatórias, induzindo também a produção de citocinas moduladoras da inflamação, tais como a interleucina 6 (IL-6)^{40-44,60,61}. Esta citocina tem se constituído num parâmetro de análise do processo inflamatório, pois apresenta uma correlação direta com a regressão do processo inflamatório nas cápsulas formadas em resposta aos implantes de materiais endodônticos³⁹. Em contrapartida a IL-10 apresenta uma marcante função anti-inflamatória mostrando a capacidade de inibir a síntese e liberação de citocinas pró-inflamatórias, como a IL-1, IL-6 e IL-8^{62,63}. Portanto, a detecção da IL-10 possibilita uma melhor compreensão dos mecanismos relacionados na regressão da resposta inflamatória induzida pelos biomateriais endodônticos⁶⁴.

Além disso, a neoformação de constituintes da matriz dos tecidos mineralizados pode ser avaliada por imuno-histoquímica para detectar as diversas proteínas existentes, como osteocalcina e osteopontina⁶⁵. Estudos relataram que materiais contendo silicato de cálcio induziram a imunoexpressão de osteopontina^{66,67} e osteocalcina^{38,43,66,67} nas células do tecido conjuntivo do subcutâneo de ratos. Adicionalmente, estudos reportaram que materiais à base de silicato de cálcio induzem a precipitação de cálcio nas cápsulas formadas adjacentes aos implantes no subcutâneo de ratos, evidenciado pelo método histoquímico de von Kossa^{38,41-44,60}.

A implantação no subcutâneo de ratos também permite investigar se os materiais odontológicos podem promover alterações sistêmicas, uma vez que estes materiais liberam substâncias que podem por via sanguínea podem atingir órgãos intimamente associados à manutenção do metabolismo do organismo⁴⁴. A dosagem dos níveis séricos das enzimas transaminase glutâmico-oxalacética (TGO) e transaminase glutâmico-pirúvica (TGP) podem ser utilizadas como parâmetros bioquímicos da função hepática⁶⁸. Além disso, constituintes inorgânicos de tecidos mineralizados, incluindo cálcio (Ca^{+2}) e fósforo (P^-), e ALP, uma enzima envolvida na mineralização, podem ser mesurados por meio da coleta de sangue no intuito de investigar se os materiais endodônticos causam alterações nesses parâmetros associados à biomineralização⁶⁶.

Por outro lado, a reação tecidual (biocompatibilidade e potencial bioativo) de um material odontológico, incluindo a medicação intracanal, está intimamente associada às suas propriedades físico-químicas. Deste modo, a investigação destas propriedades, dentre elas o pH, liberação de íons cálcio e solubilidade são relevantes para prever o comportamento clínico das medicações²¹. É importante que a medicação se difunda pelos túbulos dentinários e ramificações laterais do sistema de canais radiculares, preenchendo todo o canal e agindo por contato direto ou indireto nos túbulos dentinários⁶⁹. A radiopacidade da medicação intracanal é importante para avaliar se o preenchimento dos canais radiculares ocorreu satisfatoriamente, além de permitir o acompanhamento clínico do tratamento²¹.

A microtomografia computadorizada (micro-CT) é uma ferramenta de análise tridimensional não destrutiva⁷⁰ que complementa o teste convencional de análise de solubilidade permitindo uma análise volumétrica (em mm³) dos materiais e a capacidade de preenchimento dos materiais⁷¹ por meio da análise da interface dentina e material, uma vez que, a alta resolução, permite observar a presença de defeitos e espaços vazios⁷². Essas análises são importantes, pois a perda volumétrica do material, bem como, a presença de espaços vazios após o preenchimento do canal impede o contato direto do material com as bactérias prejudicando a ação antimicrobiana, além de permitir a reinfecção bacteriana no interior do canal radicular²¹.

Portanto, a total eliminação de micro-organismos resistentes continua sendo um grande desafio na terapia endodôntica, sendo fundamental a busca por medicamentos eficazes⁷³. Considerando que é essencial o conhecimento das propriedades físico-químicas para a escolha de uma de medicação intracanal²³ e o possível contato de um material endodôntico com os tecidos periapicais, é importante que as propriedades físico-químicas e biológicas de novos materiais, ou modificações na composição de materiais já conhecidos, sejam avaliadas por diferentes metodologias^{74,75}.

5 CONCLUSÃO

O Bio-C Temp é biocompatível, permite a reparação do tecido conjuntivo e não deve induzir alterações hepáticas, desde que não causou alterações nos níveis das enzimas TGP e TGO.

O Bio-C Temp é uma medicação com potencial bioativo e, portanto, espera-se que quando a pasta biocerâmica entre em contato com os tecidos periapicais possa induzir a reparação óssea.

O Bio-C Temp apresentou propriedades físico-químicas adequadas, como melhor capacidade de preenchimento, radiopacidade, menor solubilidade e alteração volumétrica, no entanto, promoveu menor alcalinidade do meio, uma propriedade importante para uma maior ação antimicrobiana.

REFERÊNCIAS*

1. Ricucci D, Siqueira JF Jr. Biofilms and apical periodontitis: study of prevalence and association with clinical and histopathologic findings. *J Endod.* 2010; 36(8): 1277-88.
2. Vera J, Siqueira JF Jr, Ricucci D, Loghin S, Fernandez N, Flores B et al. One-versus two-visit endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: a histobacteriologic study. *J Endod.* 2012; 38(8): 1040-52.
3. Nair PN. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2004; 15(6): 348-81.
4. Holland R, Gomes-Filho JE, Cintra LTA, Queiroz ÍOA, Estrela C. Factors affecting the periapical healing process of endodontically treated teeth. *J Appl Oral Sci.* 2017; 25(5): 465-76.
5. Murad C, Fariniuk LF, Fidel S, Fidel RA, Sassone LM. Bacterial leakage in root canals filled with calcium hydroxide paste associated with different vehicles. *Braz Dent J.* 2008; 19(3): 232-7.
6. Alsubait S, Alsaad N, Alahmari S, Alfaraj F, Alfawaz H, Alqedairi A. The effect of intracanal medicaments used in Endodontics on the dislocation resistance of two calcium silicate-based filling materials. *BMC Oral Health.* 2020; 20(1): 57.
7. Estrela C, Decurcio DA, Rossi-Fedele G, Silva JA, Guedes OA, Borges ÁH. Root perforations: a review of diagnosis, prognosis and materials. *Braz Oral Res.* 2018; 32(suppl 1): e73.
8. Estrela C, Sydney GB, Bammann LL, Felipe Júnior O. Mechanism of action of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide on tissue and bacteria. *Braz Dent J.* 1995; 6(2): 85-90.
9. Mohammadi Z, Dummer PM. Properties and applications of calcium hydroxide in endodontics and dental traumatology. *Int Endod J.* 2011; 44(8): 697-730.
10. Tanomaru JM, Leonardo MR, Tanomaru Filho M, Bonetti Filho I, Silva LA. Effect of different irrigation solutions and calcium hydroxide on bacterial LPS. *Int Endod J.* 2003; 36(11): 733-9.
11. Hasselgren G, Olsson B, Cvek M. Effects of calcium hydroxide and sodium hypochlorite on the dissolution of necrotic porcine muscle tissue. *J Endod.* 1988; 14(3): 125-7.
12. Yang WK, Kim MR, Lee Y, Son HH, Lee W. Effect of calcium hydroxide-treated *Prevotella nigrescens* on the gene expression of matrix metalloproteinase and its inhibitor in MG63 cells. *J Endod.* 2006; 32(12): 1142-5.

* De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver. Disponível no site da Biblioteca: <http://www.foar.unesp.br/Home/Biblioteca/guia-de-normalizacao-atualizado.pdf>

13. Mizuno M, Banzai Y. Calcium ion release from calcium hydroxide stimulated fibronectin gene expression in dental pulp cells and the differentiation of dental pulp cells to mineralized tissue forming cells by fibronectin. *Int Endod J*. 2008; 41(11): 933-8.
14. Leonardo MR, Hernandez ME, Silva LA, Tanomaru-Filho M. Effect of a calcium hydroxide-based root canal dressing on periapical repair in dogs: a histological study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006; 102(5): 680-5.
15. Andreasen J, Christensen S. Relationship between calcium hydroxide pH levels in the root canals and periodontal healing after replantation of avulsed teeth. *Endod Topics*. 2006; 14: 93-101.
16. Tanomaru-Filho M, Sacaki JN, Faleiros FB, Guerreiro-Tanomaru JM. pH and calcium ion release evaluation of pure and calcium hydroxide-containing Epiphany for use in retrograde filling. *J Appl Oral Sci*. 2011; 19(1): 1-5.
17. Zmener O, Pameijer CH, Banegas G. An in vitro study of the pH of three calcium hydroxide dressing materials. *Dent Traumatol*. 2007; 23(1): 21-5.
18. Kontakiotis E, Nakou M, Georgopoulou M. In vitro study of the indirect action of calcium hydroxide on the anaerobic flora of the root canal. *Int Endod J*. 1995; 28(6): 285-9.
19. Leonardo MR, da Silva LA, Leonardo Rde T, Utrilla LS, Assed S. Histological evaluation of therapy using a calcium hydroxide dressing for teeth with incompletely formed apices and periapical lesions. *J Endod*. 1993; 19(7): 348-52.
20. de Andrade Ferreira FB, Silva ESPA, do Vale MS et al. Evaluation of pH levels and calcium ion release in various calcium hydroxide endodontic dressings. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2004; 97(3): 388–92.
21. Zancan RF, Vivan RR, Milanda Lopes MR, Weckwerth PH, de Andrade FB, Ponce JB, Duarte MA. Antimicrobial activity and physicochemical properties of calcium hydroxide pastes used as intracanal medication. *J Endod*. 2016; 42(12): 1822-8.
22. Fava LR, Saunders WP. Calcium hydroxide pastes: classification and clinical indications. *Int Endod J*. 1999; 32(4): 257–82.
23. Leonardo MR, Reis RT, Silva LAB, Loffredo LCM. Hidróxido de cálcio em Endodontia: avaliação da alteração do pH e da liberação de íons cálcio em produtos endodônticos à base de hidróxido de cálcio. *RGO*. 1992; 40(1): 69-72.
24. Ballal NV, Shavi GV, Kumar R, Kundabala M, Bhat KS. In vitro sustained release of calcium ions and pH maintenance from different vehicles containing calcium hydroxide. *J Endod*. 2010; 36(5): 862-6.

25. Nelson-Filho P, Silva LA, Leonardo MR, Utrilla LS, Figueiredo F. Connective tissue responses to calcium hydroxide-based root canal medicaments. *Int Endod J*. 1999; 32(4): 303-11.
26. Andolfatto C, da Silva GF, Cornélio AL, Guerreiro-Tanomaru JM, Tanomaru-Filho M, Faria G et al. Biocompatibility of intracanal medications based on calcium hydroxide. *ISRN Dent*. 2012; 2012: 904963
27. Guerreiro JCM, Ochoa-Rodríguez VM, Rodrigues EM, Chavez-Andrade GM, Tanomaru-Filho M, Guerreiro-Tanomaru JM, Faria G. Antibacterial activity, cytocompatibility and effect of Bio-C Temp bioceramic intracanal medicament on osteoblast biology. *Int Endod J*. 2021.
28. Tanomaru-Filho M, Leonardo MR, Silva LA, Anibal FF, Faccioli LH. Inflammatory response to different endodontic irrigating solutions. *Int Endod J*. 2002; 35(9): 735-9.
29. Kahler SL, Shetty S, Andreasen FM, Kahler B. The effect of long-term dressing with calcium hydroxide on the fracture susceptibility of teeth. *J Endod*. 2018; 44(3): 464-9.
30. Dudeja C, Taneja S, Kumari M, Singh N. An *in vitro* comparison of effect on fracture strength, pH and calcium ion diffusion from various biomimetic materials when used for repair of simulated root resorption defects. *J Conserv Dent*. 2015; 18(4): 279-83.
31. Segato RA, Pucinelli CM, Ferreira DC, Daldegan Ade R, Silva RS, Nelson-Filho P et al. Physicochemical Properties of Root Canal Filling Materials for Primary Teeth. *Braz Dent J*. 2016 ; 27(2): 196-201.
32. Evans M, Davies JK, Sundqvist G, Figdor D. Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. *Int Endod J*. 2002; 35(3): 221-8.
33. Lima LK, Guerreiro-Tanomaru JM, Faria-Júnior NB, Tanomaru-Filho M. Effectiveness of calcium hydroxide-based intracanal medicaments against *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J*, 2012; 45(4): 311-6.
34. Javidi M, Afkhami F, Zarei M, Ghazvini K, Rajabi O. Efficacy of a combined nanoparticulate/calcium hydroxide root canal medication on elimination of *Enterococcus faecalis*. *Aust Endod J*. 2014; 40(2): 61-5.
35. Aguiar AS, Guerreiro-Tanomaru JM, Faria G, Leonardo RT, Tanomaru-Filho M. Antimicrobial Activity and pH of Calcium Hydroxide and Zinc Oxide Nanoparticles Intracanal Medication and Association with Chlorhexidine. *J Contemp Dent Pract*. 2015; 16(8): 624-9.
36. Zare Jahromi M, Kalantar Motamedi MR. Effect of calcium hydroxide on inflammatory root resorption and ankylosis in replanted teeth compared with other intracanal materials: a review. *Restor Dent Endod*. 2019; 44(3): e32.

37. Prati C, Gandolfi MG. Calcium silicate bioactive cements: Biological perspectives and clinical applications. *Dent Mater.* 2015; 31(4): 351-70.
38. Viola NV, Guerreiro-Tanomaru JM, da Silva GF, Sasso-Cerri E, Tanomaru-Filho M, Cerri PS. Biocompatibility of an experimental MTA sealer implanted in the rat subcutaneous: quantitative and immunohistochemical evaluation. *J Biomed Mater ResB Appl Biomater.* 2012; 100(7): 1773-81.
39. da Fonseca TS, da Silva GF, Tanomaru-Filho M, Sasso-Cerri E, Guerreiro-Tanomaru JM, Cerri PS. In vivo evaluation of the inflammatory response and IL-6 immunoexpression promoted by Biodentine and MTA Angelus. *Int Endod J.* 2016; 49(2): 145-53.
40. Silva GF, Guerreiro-Tanomaru JM, da Fonseca TS, Bernardi MIB, Sasso-Cerri E, Tanomaru-Filho M et al. Zirconium oxide and niobium oxide used as radiopacifiers in a calcium silicate-based material stimulate fibroblast proliferation and collagen formation. *Int Endod J.* 2017; 50(Suppl 2): e95-e108.
41. Delfino MM, Guerreiro-Tanomaru JM, Tanomaru-Filho M, Sasso-Cerri E, Cerri PS. Immunoinflammatory response and bioactive potential of GuttaFlow bioseal and MTA Fillapex in the rat subcutaneous tissue. *Sci Rep.* 2020; 10(1): 7173.
42. Hoshino RA, Delfino MM, da Silva GF, Guerreiro-Tanomaru JM, Tanomaru-Filho M, Sasso-Cerri E et al. Biocompatibility and bioactive potential of the NeoMTA Plus endodontic bioceramic-based sealer. *Restor Dent Endod.* 2020; 46(1): e4.
43. Silva ECA, Tanomaru-Filho M, Silva GF, Lopes CS, Cerri PS, Guerreiro Tanomaru JM. Evaluation of the biological properties of two experimental calcium silicate sealers: an in vivo study in rats. *Int Endod J.* 2021; 54(1): 100-11.
44. Delfino MM, de Abreu Jampani JL, Lopes CS, Guerreiro-Tanomaru JM, Tanomaru-Filho M, Sasso-Cerri E et al. Comparison of Bio-C Pulpo and MTA Repair HP with White MTA: effect on liver parameters and evaluation of biocompatibility and bioactivity in rats. *Int Endod J.* 2021; 54(9): 1597-613.
45. Zordan-Bronzel CL, Mario-Tanomaru M, Rodrigues EM, Chávez-Andrade GM, Faria G, Guerreiro-Tanomaru JM. Cytocompatibility, bioactive potencial and antimicrobial activity of an experimental calcium silicate-based endodontic sealer. *Int Endod J.* 2019; 52(7): 979-86.
46. Zordan-Bronzel CL, Tanomaru-Filho M, Torres FFE, Chávez-Andrade GM, Rodrigues EM, Guerreiro-Tanomaru JM. Physicochemical Properties, Cytocompatibility and Antibiofilm Activity of a New Calcium Silicate Sealer. *Braz Dent J.* 2021; 32(4): 8-18.
47. Queiroz MB, Torres FFE, Rodrigues EM, Viola KS, Bosso-Martelo R, Chavez-Andrade GM, Guerreiro-Tanomaru JM, Tanomaru-Filho M. Physicochemical, biological, and antibacterial evaluation of tricalcium silicate-based reparative cements with different radiopacifiers. *Dent Mater.* 2021; 37(2): 311-20.

48. Camps J, Jeanneau C, El Ayachi I, Laurent P, About I. Bioactivity of a calcium silicate-based endodontic cement (BioRoot RCS): Interactions with human periodontal ligament cells *in vitro*. J Endod. 2015; 41(9): 1469-73.
49. Duarte MAH, Marciano MA, Vivian RR, Tanomaru Filho M, Tanomaru JMG, Camilleri J. Tricalcium silicate-based cements: properties and modifications. Braz Oral Res. 2018; 32(suppl 1):e70.
50. Candeiro GT, Correia FC, Duarte MA, Ribeiro-Siqueira DC, Gavini G. Evaluation of radiopacity, pH, release of calcium ions, and flow of a bioceramic root canal sealer. J Endod. 2012; 38(6): 842-5.
51. Gandolfi MG, Siboni F, Botero T, Bossù M, Riccitiello F, Prati C. Calcium silicate and calcium hydroxide materials for pulp capping: Biointeractivity, porosity, solubility and bioactivity of current formulations. J Appl Biomater Funct Mater. 2015;13(1):1–18.
52. Dawood AE, Parashos P, Wong RHK, Reynolds EC, Manton DJ. Calcium silicate-based cements: composition, properties, and clinical applications. J Investig Clin Dent. 2017; 8(2): e12195.
53. Villa N, dos Santos VV, da Costa UM, Mendes AT, Duarte PHM, da Rosa RA et al. A new calcium silicate-based root canal dressing: physical and chemical properties, cytotoxicity and dentinal tubule penetration. Braz Dent J. 2020; 31(6): 598-604.
54. Bio-C® Temp [bula]. Londrina: Angelus Indústria de Produtos Odontológicos S/A; 2022 [acesso em 2022 mar. 30]. Disponível em: <http://www.angelusdental.com/products/details/id/214>.
55. Oliveira LV, da Silva GR, Souza GL, Magalhães TEA, Barbosa GLR, Turrioni AP et al. A laboratory evaluation of cell viability, radiopacity and tooth discoloration induced by regenerative endodontic materials. Int Endod J. 2020; 53(8): 1140-52.
56. Oliveira LV, de Souza GL, da Silva GR, Magalhães TEA, Freitas GAN, Turrioni AP et al. Biological parameters, discolouration and radiopacity of calcium silicate-based materials in a simulated model of partial pulpotomy. Int Endod J. 2021; 54(11): 2133-44.
57. Gomes BP, Montagner F, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CC, de Almeida JF et al. Antimicrobial action of intracanal medicaments on the external root surface. J Dent. 2009; 37(1): 76–8.
58. International Organization for Standardization. Biological evaluation of medical devices. Part 6: tests for local effects after implantation. Geneve: ISO; 2016.
59. Lalis RM, Esaín ML, Kokubu GA, Willis J, Chaves C, Grana DR. Rat subcutaneous tissue response to modified portland cement, a new mineral trioxide aggregate. Braz Dent J. 2009; 20(2): 112-7.

60. Silva GF, Bosso R, Ferino RV, Tanomaru-Filho M, Bernardi MI, Guerreiro-Tanomaru JM et al. Microparticulated and nanoparticulated zirconium oxide added to calcium silicate cement: Evaluation of physicochemical and biological properties. *J Biomed Mater Res A*. 2014; 102(12): 4336-45.
61. Saraiva JA, da Fonseca TS, da Silva GF, Sasso-Cerri E, Guerreiro-Tanomaru JM, Tanomaru-Filho M et al. Reduced interleukin-6 immunoexpression and birefringent collagen formation indicate that MTA Plus and MTA Fillapex are biocompatible. *Biomed Mater*. 2018; 13(3): 035002.
62. Wang P, Wu P, Siegel MI, Egan RW, Billah MM. Interleukine-10 inhibits transcription of cytokine genes in human peripheral blood mononuclear cells. *J Immunol*. 1994; 153:811–6.
63. Huang TH, Ding SJ, Hsu TC, Kao CT. Effects of mineral trioxide aggregate (MTA) extracts on mitogen-activated protein kinase activity in human osteosarcoma cell line (U2OS). *Biomaterials*. 2003; 24(22): 3909-13.
64. Lopes CS, Delfino MM, Tanomaru-Filho M, Sasso-Cerri E, Guerreiro-Tanomaru JM, Cerri PS. Hepatic enzymes and immunoinflammatory response to Bio-C Temp bioceramic intracanal medication implanted into the subcutaneous tissue of rats. *Sci Rep*. 2022; 12(1): 2788.
65. Penteado R, Romito GA, Pustiglioni FE, Marques MM. Morphological and proliferative analysis of the healing tissue in human alveolar sockets covered or not by an e-PTFE Membrane: a preliminar immunohistochemical and ultrastructural study. *Braz J Oral Sci*. 2005; 4(12): 664-9.
66. de Azevedo Queiroz IO, Mello WG, Martins CM, Dal Fabbro R, Narciso LG, Massunari L et al. Expressão sistêmica de marcadores ósseos induzida por agregado de trióxido mineral cinza e branco em condições normais e diabéticas. *Int Endod J*. 2018; 51 (8): 889-900.
67. Cosme-Silva L, Gomes-Filho JE, Benetti F, Dal-Fabbro R, Sakai VT, Cintra LTA et al. Biocompatibility and immunohistochemical evaluation of a new calcium silicate-based cement, Bio-C Pulpo. *Int Endod J*. 2019; 52(5): 689-700.
68. Mahmud Z, Bachar S, Qais N. Antioxidant and hepatoprotective activities of ethanolic extracts of leaves of *prema esculenta* roxb. Against carbon tetrachloride-induced liver damage in rats. *J Young Pharm*. 2012; (4): 228-34
69. Solak H, Oztan MD. The pH changes of four different calcium hydroxide mixtures used for intracanal medication. *J Oral Rehabil*. 2003; 30(4): 436-9.
70. Celikten B, Jacobs R, de Faria Vasconcelos K, Huang Y, Shaheen E, Nicolielo LF et al. Comparative evaluation of cone beam CT and micro-CT on blooming artifacts in human teeth filled with bioceramic sealers. *Clin Oral Investig*. 2019; 23(8): 3267–73.

71. Tanomaru-Filho M, Torres FFE, Bosso-Martelo R, Chávez-Andrade GM, Bonetti-Filho I, Guerreiro-Tanomaru JM. A Novel Model for Evaluating the Flow of Endodontic Materials Using Micro-computed Tomography. *J Endod*. 2017; 43(5): 796-800.
72. Gandolfi MG, Parrilli AP, Fini M, Prati C, Dummer PM. 3D micro-CT analysis of the interface voids associated with Thermafil root fillings used with AH Plus or a flowable MTA sealer. *Int Endod J*. 2013; 46(3): 253-63.
73. de Lucena JM, Decker EM, Walter C, Boeira LS, Löst C, Weiger R. Antimicrobial effectiveness of intracanal medicaments on *Enterococcus faecalis*: chlorhexidine versus octenidine. *Int Endod J*. 2013; 46(1): 53-6.
74. López-García S, Pecci-Lloret MR, Guerrero-Gironés J, Pecci-Lloret MP, Lozano A, Llena C, et al. Comparative Cytocompatibility and Mineralization Potential of Bio-C Sealer and TotalFill BC Sealer. *Materials (Basel)*. 2019; 12(19).
75. Ferreira CMA, Sassone LM, Gonçalves AS, de Carvalho JJ, Tomás-Catalá CJ, García-Bernal D, et al. Physicochemical, cytotoxicity and in vivo biocompatibility of a high-plasticity calcium-silicate based material. *Sci Rep*. 2019; 9(1): 3933.
76. Silva GF, Tanomaru-Filho M, Bernardi MI, Guerreiro-Tanomaru JM, Cerri PS. Niobium pentoxide as radiopacifying agent of calcium silicate-based material: evaluation of physicochemical and biological properties. *Clin Oral Investig*. 2015; 19(8): 2015-25.
77. Sitaru A, Hantoiu T, Monea M. Tissue reactions induced by dental pulp capping materials. *Europ Sci J*. 2014; 10(9):95-104.
78. Massi S, Tanomaru-Filho M, Silva GF, Duarte MAH, Grizzo LT, Buzalaf MAR, et al. pH, calcium ion release and setting time of an experimental mineral trioxide aggregate-based root canal sealer. *J Endod*. 2011; 37(6):844-6.
79. Holland R. Histochemical response of amputated pulps to calcium hydroxide. *Rev Bras Pesq Med Biol*. 1971;4:83-95.
80. Midená RZ, Garcia RB, Cavenago BC, Marciano MA, Minotti PG, Ordinola-Zapata R, et al. Analysis of the reaction of subcutaneous tissues in rats and the antimicrobial activity of calcium hydroxide paste used in association with different substances. *J Appl Oral Sci*. 2015; 23(5):508-14.
81. Silva GF, Cesário F, Garcia AMR, Weckwerth PH, Duarte MAH, de Oliveira RC, Vivan RR. Effect of association of non-steroidal anti-inflammatory and antibiotic agents with calcium hydroxide pastes on their cytotoxicity and biocompatibility. *Clin Oral Investig*. 2020;24(2):757-63.
82. Lima CC, Conde Júnior AM, Rizzo MS, Moura RD, Moura MS, Lima MD et al. Biocompatibility of root filling pastes used in primary teeth. *Int Endod J*. 2015; 48(5): 405-16.

83. da Fonseca TS, Silva GF, Guerreiro-Tanomaru JM, Sasso-Cerri E, Tanomaru-Filho M, Cerri PS. Mast cells and immunoexpression of FGF-1 and Ki-67 in rat subcutaneous tissue following the implantation of Biodentine and MTA Angelus. *Int Endod J*. 2019; 52(1):54-67.
84. Economides N, Kotsaki-Kovatsi VP, Pouloupoulos A, Kolokuris I, Rozos G, Shore R. Experimental study of the biocompatibility of four root canal sealers and their influence on the zinc and calcium content of several tissues. *J Endod*. 1995; 21(3):122-7.
85. Silva RA, Assed S, Nelson-Filho P, Silva LA, Consolaro A. Subcutaneous tissue response of isogenic mice to calcium hydroxide-based pastes with chlorhexidine. *Braz Dent J*. 2009; 20(2):99-106.
86. Cosme-Silva L, Gomes-Filho JE, Benetti F, Dal-Fabbro R, Sakai VT, Cintra LTA, et al. Biocompatibility and immunohistochemical evaluation of a new calcium silicate-based cement, Bio-C Pulpo. *Int Endod J*. 2019;52(5):689-700.
87. de Oliveira PA, de Pizzol-Júnior JP, Longhini R, Sasso-Cerri E, Cerri PS. Cimetidine reduces interleukin-6, matrix metalloproteinases-1 and -9 immunoexpression in the gingival mucosa of rat molars with induced periodontal disease. *J Periodontol*. 2017;88(1):100-11.
88. Moore KW, de Waal Malefyt R, Coffman RL, O'Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol*. 2001; 19: 683-765.
89. Iyer SS, Cheng G. Role of interleukin 10 transcriptional regulation in inflammation and autoimmune disease. *Crit Rev Immunol*. 2012; 32(1): 23-63.
90. Bambirra W Jr, Maciel KF, Thebit MM, de Brito LC, Vieira LQ, Sobrinho AP. Assessment of Apical Expression of Alpha-2 Integrin, Heat Shock Protein, and Proinflammatory and Immunoregulatory Cytokines in Response to Endodontic Infection. *J Endod*. 2015; 41(7): 1085-90.
91. Cavenago BC, Del Carpio-Perochena AE, Ordinola-Zapata R, Estrela C, Garlet GP, Tanomaru-Filho M et al. Effect of Using Different Vehicles on the Physicochemical, Antimicrobial, and Biological Properties of White Mineral Trioxide Aggregate. *J Endod*. 2017; 43(5): 779-86.
92. Martinho FC, Leite FRM, Chiesa WMM, Nascimento GG, Feres M, Gomes BPFA. Signaling Pathways Activation by Primary Endodontic Infectious Contents and Production of Inflammatory Mediators. *J Endod*. 2014; 40(4): 484-9.
93. Blank U, Madera-Salcedo IK, Danelli L. Vesicular trafficking and signaling for cytokine and chemokine secretion in mast cells. *Front Immunol*. 2014; 5: 453.
94. Marshall JS, Leal-Berumen I, Nielsen L, Glibetic M, Jordana M. Interleukin (IL)-10 inhibits long-term IL-6 production but not preformed mediator release from rat peritoneal mast cells. *J Clin Invest*. 1996; 97: 1122-8.

95. Montazeri-Najafabady N, Ghasemi Y, Dabbaghmanesh MH, Talezadeh P, Koohpeyma F, Gholami A. Supportive Role of Probiotic Strains in Protecting Rats from Ovariectomy-Induced Cortical Bone Loss. *Probiotics Antimicrob Proteins*. 2019; 11(4): 1145-54.
96. Niu LN, Jiao K, Wang TD, Zhang W, Camilleri J, Bergeron BE et al. A review of the bioactivity of hydraulic calcium silicate cements. *J Dent*. 2014; 42(5): 517-33.
97. Scholz-Ahrens KE, Ade P, Marten B, Weber P, Timm W, Açıl Y, Glüer CC, Schrezenmeir J. Prebiotics, probiotics, and synbiotics affect mineral absorption, bone mineral content, and bone structure. *J Nutr*. 2007; 137(3 Suppl 2): 838S-46S.
98. Blanquer A, Musilkova J, Barrios L, Ibáñez E, Vandrovcova M, Pellicer E et al. Cytocompatibility assessment of Ti-Zr-Pd-Si-(Nb) alloys with low Young's modulus, increased hardness, and enhanced osteoblast differentiation for biomedical applications. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2018; 106(2): 834-42.
99. Benetti F, Briso ALF, Carminatti M, de Araújo Lopes JM, Barbosa JG, Ervolino E et al. The presence of osteocalcin, osteopontin and reactive oxygen species-positive cells in pulp tissue after dental bleaching. *Int Endod J*. 2019; 52(5): 665-75.
100. Holland R, de Souza V, Nery MJ, Otoboni Filho JA, Bernabé PFE, Dezan Junior E. Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tubes filled with mineral trioxide aggregate or calcium hydroxide. *J Endod*. 1999; 25(3): 161-6.
101. Esberard RM, Carnes DL Jr, Del Rio CE. Changes in pH at the dentin surface in roots obturated with calcium hydroxide pastes. *J Endod*. 1996; 22: 402-5.
102. International Organization for Standardization (ISO). ISO 6876: root canal sealing materials. Geneva; 2012.
103. Ochoa-Rodríguez VM, Tanomaru-Filho M, Rodrigues EM, Guerreiro-Tanomaru JM, Spin-Neto R, Faria G. Addition of zirconium oxide to Biodentine increases radiopacity and does not alter its physicochemical and biological properties. *J Appl Oral Sci*. 2019; 1(27):e20180429.
104. Hawkins JJ, Torabinejad M, Li Y, Retamozo B. Effect of three calcium hydroxide formulations on fracture resistance of dentin over time. *Dent Traumatol*. 2015; 31(5): 380-4.
105. Oliveira LD, Jorge AO, Carvalho CA, Koga-Ito CY, Valera MC. In vitro effects of endodontic irrigants on endotoxins in root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2007; 104(1): 135-42.
106. Silva L, Nelson-Filho P, Leonardo MR, Rossi MA, Pansani CA. Effect of calcium hydroxide on bacterial endotoxin in vivo. *J Endod*. 2002; 28(2): 94-8.

107. McHugh CP, Zhang P, Michalek S, Eleazer PD. pH required to kill *Enterococcus faecalis* in vitro. J Endod. 2004; 30(4) :218-9.