

# RESSALVA

Atendendo solicitação do autor, o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 24/04/2022.



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



**Roberto Almela Hoshino**

**Biocompatibilidade e potencial bioativo de cimentos endodônticos com  
silicato de cálcio**

**Araraquara**  
**2020**



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



**Roberto Almela Hoshino**

**Biocompatibilidade e potencial bioativo de cimentos endodônticos à base de silicato de cálcio**

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara para Obtenção do grau de Doutor em Odontologia na Área de Endodontia

**Prof. Dr. Paulo Sérgio Cerri**

**Araraquara**  
**2020**

Hoshino, Roberto Almela

Biocompatibilidade e potencial bioativo de cimentos endodônticos NeoMTA Plus e MTA Fillapex no subcutâneo de ratos / Roberto Almela Hoshino.-Araraquara: [s.n.], 2020. 70 f.; 30 cm.

Tese (Doutorado em Odontologia) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia  
Orientador: Prof. Dr. Paulo Sergio Cerri

1. Endodontia 2. Materiais dentários 3. Teste de materiais 4. Imuno-Histoquímica 5. Interleucina-6. I. Título

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marley C. Chiusoli Montagnoli, CRB/5646  
Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara  
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação

**Biocompatibilidade e potencial bioativo de cimentos endodônticos à base de silicato de cálcio**

**Comissão julgadora**

**Tese para obtenção do grau de doutor em Odontologia**

Prof. Dr. Paulo Sérgio Cerri

2º Profª. Drª. Raquel Assed Bezerra Segato

3º Prof. Dr. Guilherme Ferreira da Silva

3º Prof. Dr. Mario Tanomaru Filho

5º Profª. Drª. Gisele Faria

Araraquara, 24 de abril de 2020

## **Dados Curriculares**

### **Roberto Almela Hoshino**

NASCIMENTO: 10 de Outubro de 1990 – São José do Rio Preto – SP

#### FILIAÇÃO:

- Roberto Kioshi Hoshino
- Rosangela Maria Almela Hoshino

2009-2013: Graduação em Odontologia pelo Centro Universitário do Norte Paulista, UNORP, São José do Rio Preto – SP.

2014-2016: Mestrado em Odontologia, área de concentração em Endodontia, pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Faculdade de Odontologia de Araraquara.

Dedico esta tese às pessoas mais importantes da minha vida...

## À Deus

Não há palavras que possam descrever minha gratidão. Obrigado pelo dom da vida, pela família maravilhosa e pelas pessoas especiais que estão ao redor. Toda a minha jornada foi abençoada com conquista.

Aos meus queridos pais, **Roberto e Rosangela**, exemplos de luta, dignidade e honestidade. Obrigado pela sua força, por sua dedicação, por toda a sua capacidade de compreensão, por sua confiança em mim, enfim, pela sua presença em minha vida. Esta vitória é nossa!

À minha irmã, **Isis**, pela convivência todos esses anos e que mesmo à distância sempre me ajudou e torceu pela minha vitória.

À minha noiva, **Daniely**, que me fez acreditar que sonhos são possíveis de serem realizados, mesmo quando todas as adversidades da vida dizem que não.

Ao meu amigo, **Prof. Dr. Guilherme**, admiro o senhor, além de ser um excelente profissional clínico, é também um formidável professor, ensina com carinho e amor. Agradeço imensamente por todas as oportunidades, aprendizado e pela confiança depositada.

A **Prof. Dra. Estela Sasso Cerri**, agradeço por todas as oportunidades, aprendizado, confiança, por sanar minhas dúvidas durante as aulas na graduação e pela ajuda na correção dos artigos!

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Paulo Sérgio Cerri**, pelas orientações teóricas, pela paciência, pelas palavras de alívio e conforto, por ter se tornado um grande amigo para a vida.



## AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Paulo Sérgio Cerri**, nesse curto período, tive o privilégio de conviver e aprender muito com o senhor, mesmo diante de momentos adversos sempre se mostrou uma pessoa de grande competência e de integridade. Agradeço imensamente pelo carinho, respeito e pela orientação. Sua ajuda foi imprescindível para a concretizado desse estudo. Sinto me privilegiado por ser seu orientado. Em momentos difíceis, diante das minhas fraquezas e das incertezas, o senhor me aconselhou, transmitiu calma, segurança e amparo. Sei que estou muito distante de ter cumprido todas as suas expectativas, mas espero ter feito pelo menos o mínimo para honrar a confiança em mim depositada. Muito obrigado por tudo.

Ao **Prof. Dr. Mario Tanomaru Filho**, sua generosidade, humildade, bondade, ética e conhecimento. Agradeço por todas as oportunidades, aprendizado e pela confiança em mim depositada.

Ao **Prof. Dr. Idomeo Bonetti Filho**, sua generosidade, humildade, bondade, ética, conhecimento e paciência. Agradeço por me orientar no mestrado e por todas as lições transmitidas.

Aos colegas **Flavia, Fabi, Tiago Fonseca, Saraiva e Mateus** pela boa convivência e por estarem sempre dispostos a me ajudar. Sabemos bem que a Pós-graduação é feita de momentos bons, ruins e péssimos. Somos muitas vezes incumbidas de árduas tarefas, que faz duvidarmos da nossa própria capacidade. Apesar de estamos cercadas por diversas pessoas, que são nossos colegas e amigos de Pós-graduação, poucos estende uma mão amiga. Diante das minhas incertezas,

medos e momentos que eu não poderia fraquejar, vocês estiveram lá para me apoiar.

Sou imensamente grato por isso e pela amizade

Aos colegas **Flavia, JP e Mateus Delfino**, admiro a determinação de vocês, o compromisso com a pós-graduação e a coragem de não se deixarem se deter diante dos obstáculos. A presença de vocês torna o departamento mais alegre e produtivo. Obrigada pela ajuda, amizade, risos e momentos descontraídos.

À CAPES:

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001.

"Olho para minhas mãos, descubro nela a leveza para alcançar o detalhe, a força exata para interferir na dor, a impermanência necessária para atingir o mais difícil, a sensibilidade que percebe o que não pode ser dito. No sorriso descubro a perfeição, que faz de minhas mãos um instrumento. A simplicidade que torna claro o mais difícil. A sensibilidade que me diz tudo sem nada dizer. Gestos, sorrisos, e expressões que unem dom e desejo, auxílio e agradecimento, odontologia e arte."

Autor desconhecido

## Lista de Figuras

Figuras 1A e 1B: Preparação dos tubos de polietileno.....	27
Figuras 2A e 2B. Proporções de mistura dos cimentos .....	28
Figuras 3A, 3B e 3C : Inserção do tubo de polietileno .....	29
Figura 4: Fluxograma mostrando o planejamento experimental .....	30
Figuras 5A, 5B, 5C: Remoção do tubo de polietileno .....	30
Figura 6: Fluxograma mostrando as etapas do processamento histológico ....	31
Figuras 7A, 7B e 7C: Etapas do processamento histológico .....	32
Figura 8: Programa Image-Pro Express 6.0 .....	33
Figura 9A e 9B: Imagens evidenciando a espessura das cápsulas.....	34
Figura 10: Quantificação das células positivas à IL-6 (em castanho) usando o programa Image-Pro Express 6.0 (Olympus – Japão) .....	35
Figura 11: - Imagem do programa <i>ImageJ</i> utilizado para a mensuração do colágeno birrefringente .....	37
Figuras 12A-12F: Fotomicrografias de cortes de cápsulas após 7 e 15 dias ....	41
Figuras 13A-13M: Fotomicrografias de cortes de cápsulas após 30 dias e gráficos .....	42
Figuras 14A-14M: Cortes submetidos à imuno-histoquímica e gráfico .....	45
Figuras 15A-15M: Cortes submetidos ao picrosirius-red e gráfico .....	48
Figuras 16A-16J: von Kossa e Cortes Não Corados Analisados Sob Luz Polarizada.....	51

## Lista de Abreviaturas

Betazoid DAB: cromógeno 3.3-diaminobenzidina

BR: Brasil

$\text{Bi}_2\text{O}_3$ : Óxido de bismuto

BSA: Bovine Serum Albumin

BV: Vaso sanguíneo

C: Cápsulas

$\text{Ca}^{+2}$ : Cálcio

CA: Califórnia

$\text{CaSO}_4$ : Sulfato de cálcio

$\text{CaWO}_4$ : Tungstato de cálcio

CEUA: Comitê de Ética no uso de animais.

CF: Feixes de fibras de colágeno

CP: Cimento Portland

EDTA: Ácido etilenodiamino tetra-acético

EUA: Estados Unidos da América

Fb: Fibroblastos

GC: Célula gigante multinucleada

FOAr: Faculdade de Odontologia de Araraquara

FL: Flórida

GraphPad Prism: GraphPad Software

hDPSCs: Células-tronco da polpa dental humana

HE: Hematoxilina e Eosina.

I: Espaço dos tubos de polietileno

ISO: International Organization for Standardization

IL-6: Interleucina 6

mm<sup>2</sup>: Milímetro quadrado

MTA: Agregado Trióxido Mineral

NaOCl: hipoclorito de sódio

OH<sup>-</sup>: Hidroxila

pH: Potencial Hidrogeniônico

Ru: Rússia

Saos-2: Células humanas semelhantes a osteoblastos

SiO<sub>2</sub>: Sílica

Ta<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: Óxido de tântalo

Tris-HCl: Tris(hidroximetil)aminometano HCl:Ácido clorídrico

µm: micrometro

3CaO•SiO<sub>2</sub>:Silicato tricálcico

2CaO•SiO<sub>2</sub>: Silicato dicálcico

PR: Paraná

Hoshino RA. Biocompatibilidade e potencial bioativo de cimentos endodônticos à base de silicato de cálcio [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2020.

## **RESUMO**

**OBJETIVO:** Avaliar a reação tecidual e bioatividade provocada por NeoMTA Plus e MTA Fillapex em subcutâneo de ratos. **MATERIAL E MÉTODOS:** Para este estudo foram utilizados 60 ratos Holtzman, sendo distribuídos aleatoriamente em três grupos (n= 20): NeoMTA Plus (Avalon Biomed Inc. Bradenton, FL, EUA), MTA Fillapex (Angelus Ciência e Tecnologia, Londrina - PR – Brasil) e Controle (tubos de polietileno vazios). Para avaliar a reação tecidual provocada pelos materiais, foram implantados tubos de polietileno preenchidos com os cimentos endodônticos no tecido conjuntivo do subcutâneo na região dorsal dos ratos. No grupo controle (GC), tubos de polietileno vazios foram implantados. Após os períodos de 7, 15, 30 e 60 dias, cinco animais de cada grupo por período foram eutanasiados e os tubos implantados com os tecidos adjacentes foram removidos e submetidos ao processamento para inclusão em parafina. A partir dos cortes corados com HE, foram realizadas análises morfológicas, mensuração da espessura da cápsula e densidade numérica de células inflamatórias. Os cortes foram também submetidos à reação imuno-histoquímica para detecção de interleucina-6 (IL-6), uma citocina pró-inflamatória, e o número de células imunopositivas foi computado. A quantidade de colágeno nas cápsulas foi estimada a partir de cortes submetidos ao método do picrosirius-red e analisados sob luz polarizada. A bioatividade dos cimentos endodônticos foi avaliada por meio da reação histoquímica von Kossa e a análise sob luz polarizada. Os dados foram submetidos à ANOVA a dois critérios e teste post hoc de Tukey ( $p < 0,05$ ). **RESULTADOS:** Aos 7 dias, as cápsulas ao redor do NeoMTA Plus e MTA Fillapex exibiram maior número de células inflamatórias do que no GC. No entanto, não foi observada diferença significativa no número de células inflamatórias entre o NeoMTA Plus e o GC ( $p = 0,1117$ ) aos 60 dias. Nesse período, não foi detectada diferença significativa no número de células inflamatórias entre as amostras NeoMTA Plus e MTA Fillapex ( $p = 0,4062$ ), embora tenha sido observada uma maior imunexpressão de IL-6 no MTA Fillapex ( $p = 0,0353$ ). De 7 para 60 dias, observou-se uma redução significativa na espessura das cápsulas do NeoMTA Plus e MTA Fillapex em paralelo ao aumento significativo no colágeno. As estruturas von Kossa positivas e birrefringentes foram observadas nas cápsulas adjacentes aos cimentos endodônticos. **CONCLUSÕES:**

Considerando que o NeoMTA Plus e o MTA Fillapex são biocompatíveis e exibem bioatividade, estes cimentos endodônticos podem ser uma alternativa viável para uso clínico.

**Palavras – chave:** Endodontia. Materiais dentários. Teste de materiais. Imuno-Histoquímica. Interleucina-6.



Hoshino RA. Biocompatibility and bioactive potential of endodontic sealers based on calcium silicate [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2020.

## **ABSTRACT**

To evaluate the tissue reaction and bioactivity caused by NeoMTA Plus and MTA Fillapex in connective tissue of subcutaneous. **MATERIAL AND METHODS:** For this study, 60 Holtzman male rats were used, which were randomly distributed in three groups (n = 20): NeoMTA Plus (Avalon Biomed Inc. Bradenton, FL, USA), MTA Fillapex (Angelus Ciência e Tecnologia, Londrina - PR - Brazil) and Control (empty polyethylene tubes). To verify the tissue reaction caused by root canal sealers, the polyethylene tubes were filled with endodontic sealers and were implanted into dorsal subcutaneous tissues. In the control group (CG), empty polyethylene tubes were implanted. After 7, 15, 30 and 60 days, five animals from each group per period were sacrificed and implants surrounded by tissues were removed and processed for paraffin-embedding. From HE-stained sections, the morphological analysis, measurement of capsule thickness and numerical density of inflammatory cells were carried out. Sections were also subjected to immunohistochemical reaction to detect interleukin-6, a pro-inflammatory cytokine, and the number of immunopositive cells was computed. The amount of collagen in the capsules was measured in the sections stained with picosirius-red method and analyzed under polarized light. The bioactivity of endodontic sealers was evaluated by von Kossa histochemical reaction and the analysis of under polarized light. The data were submitted to two-way ANOVA and post-hoc Tukey test ( $p < 0.05$ ). **RESULTS:** At 7 days, the capsules around NeoMTA Plus and MTA Fillapex exhibited a greater number of inflammatory cells than in the CG. However, no significant difference was observed in the number of inflammatory cells between NeoMTA Plus and CG ( $p = 0.1137$ ) at 60 days. In this period, significant difference in the number of inflammatory cells was not also detected between NeoMTA Plus and MTA Fillapex specimens ( $p = 0.4062$ ), although a higher IL-6-immunoexpression was observed in the MTA Fillapex specimens ( $p = 0.0353$ ). From 7 to 60 days, a significant reduction in the capsule thickness of NeoMTA Plus and MTA Fillapex was observed in parallel to a significant increase in the collagen. von Kossa-positive and birefringent structures were observed in the capsules of root canal sealers. These findings indicate that NeoMTA Plus and MTA Fillapex can be a viable alternative

for clinical use since these endodontic sealers are biocompatible and exhibit bioactivity.

**Keywords:** Endodontics. Dental materials. Materials testing. Immuno-histochemistry. Interleukin-6.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>18</b>
<b>2 PROPOSIÇÃO .....</b>	<b>20</b>
<b>3 REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>21</b>
<b>4 MATERIAL E MÉTODO .....</b>	<b>26</b>
<b>4.1 Material .....</b>	<b>26</b>
<b>4.2 Método .....</b>	<b>28</b>
<b>4.3 Processamento Histológico .....</b>	<b>31</b>
<b>4.4 Análise da Reação Inflamatória nas Cápsulas .....</b>	<b>32</b>
<b>4.4.1 Densidade numérica de células inflamatórias .....</b>	<b>32</b>
<b>4.4.2 Mensuração da espessura da cápsula .....</b>	<b>33</b>
<b>4.4.3 Detecção imuno-histoquímica da IL-6 .....</b>	<b>34</b>
<b>4.4.4 Densidade numérica de células positivas à IL-6 .....</b>	<b>35</b>
<b>4.4.5 Mensuração do colágeno birrefringente .....</b>	<b>36</b>
<b>4.5 Análises para Avaliar a Capacidade de Bioatividade   dos Cimentos Endodônticos .....</b>	<b>37</b>
<b>4.5.1 Reação histoquímica von Kossa .....</b>	<b>37</b>
<b>4.5.2 Análise dos cortes não corados com luz polarizada .....</b>	<b>38</b>
<b>4.6 Análise Estatística .....</b>	<b>38</b>
<b>5 RESULTADO .....</b>	<b>39</b>
<b>5.1 Descrição Morfológica, Densidade Numérica de Células   Inflamatórias e Espessura das Cápsulas .....</b>	<b>39</b>
<b>5.2 Interleucina-6 .....</b>	<b>44</b>
<b>5.3 Conteúdo de Colágeno .....</b>	<b>47</b>
<b>5.4 von Kossa e Cortes Não Corados Analisados   Sob Luz Polarizada .....</b>	<b>50</b>
<b>6 DISCUSSÃO .....</b>	<b>53</b>
<b>7 CONCLUSÃO .....</b>	<b>57</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>58</b>
<b>ANEXO A .....</b>	<b>69</b>
<b>ANEXO B .....</b>	<b>70</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os materiais à base de silicato de cálcio são amplamente atraentes na odontologia devido às suas propriedades biológicas e físico-químicas<sup>1-3</sup>. Os materiais à base de silicato tricálcico têm sido amplamente estudados, pois estimulam o reparo tecidual permitindo a deposição de tecido mineralizado<sup>4,5</sup>. Embora seja um material biocompatível e utilizado para diversas aplicações, dentre elas no tratamento de perfuração de furca ou radicular, retro-obturação em microcirurgia apical, capeamento pulpar, pulpotomia e reparo radicular<sup>6-8</sup>, o Agregado de Trióxido Mineral (MTA) apresenta algumas desvantagens<sup>6</sup>. Sua consistência após a manipulação impede sua inserção no canal radicular<sup>9</sup>. Para superar essas desvantagens, os fabricantes realizaram alterações na sua composição química, bem como na proporção de diferentes veículos e componentes nos materiais à base de silicato tricálcico. Os cimentos endodônticos à base de MTA contêm principalmente silicato tricálcico e bicálcico<sup>4</sup>, com adição de agentes radiopacificantes, óxido de tântalo e tungstato de cálcio. Os cimentos endodônticos à base de MTA são designados como bioativos quando possuem a capacidade de desenvolver uma ligação estável com tecidos vivos via a deposição de hidroxiapatita<sup>10</sup>, ou seja, em contato com fluidos biológicos formam uma camada interfacial na superfície do material, na interface material/dentina e nos túbulos dentinários<sup>10</sup>. Acredita-se que essa camada interfacial contendo cristais de apatita pode reduzir a microinfiltração e aumentar a força de tração, melhorando a adaptação e induzindo a remineralização<sup>11,12</sup>.

O NeoMTA Plus é um material bioativo composto por partículas finas de tricálcio e silicato bicálcico, tantalita, sulfato de cálcio e sílica, conforme indicado pelo fabricante com um curto tempo de endurecimento e não promove a pigmentação da dentina<sup>13</sup>. Além do cimento em pó, o NeoMTA Plus contém um gel à base de água que, de acordo com a proporção pó-gel misturado, fornece um material com consistência variada<sup>7</sup>. Assim, o material com consistência fluida pode ser usado como preenchimento de canal radicular, enquanto uma mistura densa é indicada como cimento obturador de canais radiculares<sup>7,14</sup>. Um estudo *in vitro* avaliou o efeito do NeoMTA Plus espesso (material de reparo) em cultura de células humanas semelhantes a osteoblastos (Saos-2) e demonstrou que esse material induz a formação de nódulos mineralizados, indicando um potencial bioativo<sup>6,15</sup>.

A primeira versão do MTA Fillapex (Angelus Dental Industry S/A, Londrina, Brasil) consistia em aproximadamente 13,2% de silicato tricálcico<sup>16</sup>, com adição de resina natural, resina salicilada, óxido de bismuto, nanopartículas de sílica e pigmentos<sup>17,18</sup>. Segundo o fabricante, as propriedades do MTA Fillapex incluem boa radiopacidade, bom tempo de trabalho e facilidade de manuseio<sup>18</sup>. Como o óxido de bismuto inibe várias propriedades, incluindo a proliferação celular<sup>19</sup>, esse radiopacificador foi substituído pelo tungstato de cálcio na tentativa de melhorar suas propriedades biológicas. Embora o MTA Fillapex com tungstato de cálcio tenha promovido inicialmente um infiltrado inflamatório moderado no tecido conjuntivo subcutâneo, foi observada uma redução na imunexpressão da interleucina-6, uma citocina pró-inflamatória ao longo do tempo. Além disso, o índice apoptótico nas cápsulas ao redor das amostras MTA Fillapex foi semelhante ao do grupo controle após 60 dias de implantação, indicando que a integridade estrutural dos tecidos é recuperada com o decorrer do tempo<sup>20</sup>. Assim, considerando que escassos são os estudos envolvendo NeoMTA Plus e o MTA Fillapex com o tungstato de cálcio, torna-se oportuno a avaliação da reação tecidual e bioatividade destes cimentos à base de silicato de cálcio. A hipótese nula foi de que o selante NeoMTA Plus não seria biocompatível e não apresentaria potencial bioativo.

## 7 CONCLUSÃO

- Nossos resultados indicam que os cimentos NeoMTA Plus e MTA Fillapex promovem o recrutamento de células que culminam com a instalação de uma reação inflamatória moderada.
- A acentuada imunoexpressão de IL-6 nos períodos iniciais indica que esta interleucina deve ter um papel no recrutamento das células inflamatórias em resposta aos cimentos endodônticos NeoMTA Plus e MTA Fillapex.
- A redução significativa da reação inflamatória paralelamente ao aumento de colágeno culminou na formação de delgadas cápsulas de tecido conjuntivo denso (fibroso) apontando para a biocompatibilidade dos cimentos endodônticos avaliados.
- A presença de estruturas positivas ao von Kossa e birrefringentes sugerem que os cimentos NeoMTA Plus e MTA Fillapex apresentam potencial bioativo.

## REFERÊNCIAS\*

1. Walsh RM, Woodmansey KF, He J, Svoboda KK, Primus CM, Opperman LA. Histology of NeoMTA Plus and Quick-Set2 in contact with pulp and periradicular tissues in a canine model. *Endod.* 2018; 44(9): 1389-95.
2. Tomás-Catalá CJ, Collado-González M, García-Bernal D, Oñate-Sánchez RE, Forner L, Llena C, Lozano A, et al. Biocompatibility of new pulp-capping materials NeoMTA Plus, MTA Repair HP, and Biodentine on human dental pulp stem cells. *J Endod.* 2018; 44(1): 126-132.
3. Hursh KA, Kirkpatrick TC, Cardon JW, Brewster JA, Black SW, Himel VT, Sabey KA. Shear Bond Comparison between 4 bioceramic materials and dual-cure composite resin. *J Endod.* 2019; 45(11): 1378-83.
4. Cintra LTA, Benetti F, de Azevedo Queiroz ÍO, de Araújo Lopes JM, Penha de Oliveira SH, Sivieri Araújo G, et al. Cytotoxicity, biocompatibility, and biomineralization of the new high-plasticity mta material. *J Endod.* 2017; 43(5): 774-8.
5. Mondelli JAS, Hoshino RA, Weckwerth PH, Cerri PS, Leonardo RT, Guerreiro-Tanomaru JM, et al. Biocompatibility of mineral trioxide aggregate flow and biodentine. *Int Endod J.* 2019; 52(2): 193-200.
6. Parirokh M, Torabinejad M, Dummer PMH. Mineral trioxide aggregate and other bioactive endodontic cements: an updated overview - part I: vital pulp therapy. *Int Endod J.* 2018; 51(2): 177-205.
7. Siboni F, Taddei P, Prati C, Gandolfi MG. Properties of NeoMTA Plus and MTA Plus cements for endodontics. *Int Endod J.* 2017;50 Suppl 2:e83-e94a.
8. Benetti F, de Azevedo Queiroz ÍO, Oliveira PHC, Conti LC, Azuma MM, Oliveira SHP, Cintra LTA. Cytotoxicity and biocompatibility of a new bioceramic endodontic sealer containing calcium hydroxide. *Braz Oral Res.* 2019; 33:e042
9. Bogen G, Kim JS, Bakland LK. Direct pulp capping with mineral trioxide aggregate: an observational study. *J Am Dent Assoc.* 2008; 139(3): 305-15
10. Bozeman TB, Lemon RR, Eleazer PD. Elemental analysis of crystal precipitate from gray and white MTA. *J Endod.* 2006; 32(5): 425-8.

---

\* 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>

11. Martin RL, Monticelli F, Brackett WW, Loushine RJ, Rockman RA, Ferrari M, Pashley DH, Tay FR. Sealing properties of mineral trioxide aggregate orthograde apical plugs and root fillings in an in vitro apexification model. *J Endod.* 2007; 33(3): 272-5.
12. Torabinejad M, Parirokh M. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review--part II: leakage and biocompatibility investigations. *J Endod.* 2010; 36(2): 190-202.
13. Avalon Biomed Inc. Safety Data Sheet - NeoMTA Plus Powder. Bradenton, FL, USA: Directions for use. [accessed April 2017]. Disponível em: URL [avalonbiomed.com/wp-content/uploads/2014/04/DFU-NeoMTA-Plus-REV-1601.pdf](http://avalonbiomed.com/wp-content/uploads/2014/04/DFU-NeoMTA-Plus-REV-1601.pdf).
14. McMichael GE, Primus CM, Opperman LA. Dentinal Tubule Penetration of Tricalcium Silicate Sealers. *J Endod.* 2016; 42(4): 632-6.
15. Tanomaru-Filho M, Andrade AS, Rodrigues EM, Viola KS, Faria G, Camilleri J, et al. Biocompatibility and mineralized nodule formation of Neo MTA Plus and an experimental tricalcium silicate cement containing tantalum oxide. *Int Endod J.* 2017; 50 Suppl 2:e31-e39.
16. Prüllage RK, Urban K, Schäfer E, Dammaschke T. Material Properties of a Tricalcium Silicate-containing, a Mineral Trioxide Aggregate-containing, and an Epoxy Resin-based Root Canal Sealer. *J Endod.* 2016; 42(12): 1784-88.
17. Bosso-Martelo R, Guerreiro-Tanomaru JM, Viapiana R, Berbert FL, Duarte MA, Tanomaru-Filho M. Physicochemical properties of calcium silicate cements associated with microparticulate and nanoparticulate radiopacifiers. *Clin Oral Investig.* 2016; 20(1): 83-90.
18. Collado-González M, García-Bernal D, Oñate-Sánchez RE, Ortolani-Seltenerich PS, Lozano A, Forner L, Llana C, et al. Biocompatibility of three new calcium silicate based endodontic sealers on human periodontal ligament stem cells. *Int Endod J.* 2017; 50(9): 875-884.
19. Camilleri J, Montesin FE, Papaioannou S, McDonald F, Pitt Ford TR. Biocompatibility of two commercial forms of mineral trioxide aggregate. *Int Endod J.* 2004; 37(10): 699-704.
20. Delfino MM, Guerreiro-Tanomaru JM, Tanomaru-Filho M, Sasso-Cerri E, Cerri. Immunoinflammatory response and bioactive potential of GuttaFlow bioseal and MTA Fillapex in the rat subcutaneous tissue. *Sci Rep.* 2020 28;10(1):7173. doi: 10.1038/s41598-020-64041-0.
21. Siqueira JF Jr, Rôças IN. Treponema species associated with abscesses of endodontic origin. *Oral Microbiol Immunol.* 2004;19(5): 336-9.
22. Nair PN. On the causes of persistent apical periodontitis: a review. *Int Endod J.* 2006; 39(4): 249-81. Review.



23. Siqueira JF Jr, Rôças IN, Debelian GJ, Carmo FL, Paiva SS, Alves FR, et al. Profiling of root canal bacterial communities associated with chronic apical periodontitis from Brazilian and Norwegian subjects. *J Endod.* 2008; 34(12): 1457-61.
24. Whitworth JM, Myers PM, Smith J, Walls AW, McCabe JF. Endodontic complications after plastic restorations in general practice. *Int Endod J.* 2005; 38(6): 409-16.
25. Ari H, Belli S, Gunes B. Sealing ability of Hybrid Root SEAL (MetaSEAL) in conjunction with different obturation techniques. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010; 109(6):e113-6.
26. Wu MK, Fan B, Wesselink PR. Diminished leakage along root canals filled with guttapercha without sealer over time: a laboratory study. *Int Endod J.* 2000; 33(2): 121-5.
27. Grossman SJ and Stiglitz JE *The American Economic Review* Vol. 70, No. 3 (jun., 1980), pp. 393-408.
28. Siew K, Lee AH, Cheung GS. Treatment outcome of repaired root perforation: A systematic review and meta-analysis. *J Endod.* 2015; 41(11): 1795-804.
29. Leonardo MR, Leal JM (in memoriam). Materiais obturadores de canais radiculares. In: Leonardo MR. *Endodontia: tratamento de canais radiculares: princípios técnicos e biológicos.* São Paulo: Artes Médicas; 2005. p. 1063-145.
30. Faria-Júnior NB, Tanomaru-Filho M, Berbert FL, Guerreiro-Tanomaru JM. Antibiofilm activity, pH and solubility of endodontic sealers. *Int Endod J.* 2013; 46(8): 755-62.
31. Zhou HM, Shen Y, Zheng W, Li L, Zheng YF, Haapasalo M. Physical properties of 5 root canal sealers. *J Endod.* 2013; 39(10): 1281-6.
32. Bueno CR, Valentim D, Marques VA, Gomes-Filho JE, Cintra LT, Jacinto RC et al. Biocompatibility and biomineralization assessment of bioceramic-, epoxy-, and calcium hydroxide-based sealers. *Braz Oral Res.* 2016; 14; 30(1):81. 14;30(1):S1806-83242016000100267.
33. Viola NV, Guerreiro-Tanomaru JM, Silva GF, Sasso-Cerri E, Tanomaru-Filho M, Cerri PS. Morphological and morphometric analysis of the biocompatibility of na experimental MTA Sealer. *J. biomed. mater. res. B appl. biomater.* 2012; 100B(7): 1773-81.
34. Viapiana R, Flumignan DL, Guerreiro-Tanomaru JM, Camilleri J, Tanomaru-Filho M. Physicochemical and mechanical properties of zirconium oxide and niobium oxide modified Portland cement-based experimental endodontic sealers. *Int Endod J.* 2014; 47(5): 437-48.

35. Assmann E, Böttcher DE, Hoppe CB, Grecca FS, Kopper PM. Evaluation of bone tissue response to a sealer containing mineral trioxide aggregate. *J Endod.* 2015; 41(1): 62-6.
36. Tran D, He J, Glickman GN, Woodmansey KF. Comparative Analysis of Calcium Silicate-based Root Filling Materials Using an Open Apex Model. *J Endod.* 2016; 42(4): 654-8.
37. Gürel MA, Kivanç BH, Ekici A, Alaçam T. Evaluation of crown discoloration induced by endodontic sealers and colour change ratio determination after bleaching. *Aust Endod J.* 2016; 42(3): 119-123.
38. Flores DS, Rached FJ Jr, Versiani MA, Guedes DF, Sousa-Neto MD, Pécora JD. Evaluation of physicochemical properties of four root canal sealers. *Int Endod J.* 2011; 44(2): 126-35.
39. Vitti RP, Prati C, Silva EJ, Sinhoreti MA, Zanchi CH, de Souza e Silva MG, et al. Physical properties of MTA Fillapex sealer. *J Endod.* 2013; 39(7): 915-8.
40. Gandolfi MG, Siboni F, Prati C. Properties of a novel polysiloxane-guttapercha calcium silicate-bioglass-containing root canal sealer. *Dent Mater.* 2016; 32(5): e113-26.
41. Kuga MC, Faria G, Weckwerth, PH Duarte MAH, Campos E.A., Reis MV. Evaluation of the pH, calcium release and antibacterial activity of MTA Fillapex. *Rev Odontol UNESP.* 2013; 42(5) :330–5.
42. Okabe T, Sakamoto M, Takeuchi H, Matsushima K. Effects of pH on mineralization ability of human dental pulp cells. *J Endod.* 2006; 32(3): 198-201.
43. Rodríguez-Lozano FJ, García-Bernal D, Oñate-Sánchez RE, Ortolani-Seltenerich PS, Forner L, Moraleda JM. Evaluation of cytocompatibility of calcium silicate-based endodontic sealers and their effects on the biological responses of mesenchymal dental stem cells. *Int Endod J.* 2017; 50(1): 67-76.
44. Salles LP, Gomes-Cornélio AL, Guimarães FC, Herrera BS, Bao SN, Rossa-Junior C, et al. Mineral trioxide aggregate-based endodontic sealer stimulates hydroxyapatite nucleation in human osteoblast-like cell culture. *J Endod.* 2012; 38(7): 971-6.
45. Bin CV, Valera MC, Camargo SE, Rabelo SB, Silva GO, Balducci I, Camargo CH. Cytotoxicity and genotoxicity of root canal sealers based on mineral trioxide aggregate. *J Endod.* 2012; 38(4): 495-500.
46. Zmener O, Martinez Lalis R, Pameijer CH, Chaves C, Kokubu G, Grana D. Reaction of rat subcutaneous connective tissue to a mineral trioxide aggregate-based and a zinc oxide and eugenol sealer. *J Endod.* 2012; 38(9): 1233-8.

47. Marques NC, Lourenço Neto N, Fernandes AP, Rodini Cde O, Duarte MA, Oliveira TM. Rat subcutaneous tissue response to MTA Fillapex® and Portland cement. *Braz Dent J.* 2013; 24(1): 10-4.
48. Tavares CO, Böttcher DE, Assmann E, Kopper PM, de Figueiredo JA, Grecca FS, et al. Tissue reactions to a new mineral trioxide aggregate-containing endodontic sealer. *J Endod.* 2013; 39(5): 653-7.
49. Bósio CC, Felipe GS, Bortoluzzi EA, Felipe MC, Felipe WT, Rivero ER. Subcutaneous connective tissue reactions to iRoot SP, mineral trioxide aggregate (MTA) Fillapex, DiaRoot BioAggregate and MTA. *Int Endod J.* 2014; 47(7): 667-74.
50. Neelakantan P, Grotra D, Sharma S. Retreatability of 2 mineral trioxide aggregatebased root canal sealers: a cone-beam computed tomography analysis. *J Endod.* 2013; 39(7): 893-6.
51. Saraiva JA, da Fonseca TS, da Silva GF, Sasso-Cerri E, Guerreiro-Tanomaru JM, Tanomaru-Filho M et al. Reduced interleukin-6 immunoexpression and birefringente collagen formation indicate that MTA Plus and MTA Fillapex are biocompatible. *Biomed Mater.* 2018; 20;13(3): 035002.
52. Ioannidis K, Mistakidis I, Beltes P, Karagiannis V. Spectrophotometric analysis of coronal discolouration induced by grey and white MTA. *Int Endod J.* 2013 ;46(2): 137-44.
53. Marciano MA, Duarte MA, Camilleri J. Dental discoloration caused by bismuth oxide in MTA in the presence of sodium hypochlorite. *Clin Oral Investig.* 2015; 19(9): 2201-9.
54. Chen C, Hsieh SC, Teng NC, Kao CK, Lee SY, Lin CK, et al. Radiopacity and cytotoxicity of Portland cement containing zirconia doped bismuth oxide radiopacifiers. *J Endod.* 2014; 40(2): 251-4.
55. Beyer-Olsen EM, Orstavik D. Radiopacity of root canal sealers. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1981; 51(3): 320-8.
56. Camilleri J. Hydration mechanisms of mineral trioxide aggregate. *Int Endod J.* 2007; 40(6): 462-70.
57. Antonijevic D, Medigovic I, Zrilic M, Jokic B, Vukovic Z, Todorovic L. The influence of different radiopacifying agents on the radiopacity, compressive strength, setting time, and porosity of Portland cement. *Clin Oral Investig.* 2014; 18(6): 1597-604.
58. Cutajar A, Mallia B, Abela S, Camilleri J. Replacement of radiopacifier in mineral trioxide aggregate; characterization and determination of physical properties. *Dent Mater.* 2011; 27(9): 879-91.

59. 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.
60. Marciano MA, Duarte MA, Camilleri J. Calcium silicate-based sealers: Assessment of physicochemical properties, porosity and hydration. *Dent Mater.* 2016; 32(2): e30-40.
61. 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.
62. Lee J, Rancilio NJ, Poulson JM, Won YY. Block copolymer-encapsulated CaWO<sub>4</sub> nanoparticles: synthesis, formulation, and characterization. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2016; 8(13): 8608-19.
63. Hungaro Duarte MA, Minotti PG, Rodrigues CT, Zapata RO, Bramante CM, Tanomaru Filho M, et al. Effect of different radiopacifying agents on the physicochemical properties of white Portland cement and white mineral trioxide aggregate. *J Endod.* 2012; 38(3): 394-7
64. Tanomaru-Filho M, Morales V, da Silva GF, Bosso R, Reis JM, Duarte MA, Guerreiro-Tanomaru JM. Compressive strength and setting time of MTA and Portland Cement associated with Different radiopacifying agents. *ISRN Dent.* 2012;(2012): 898051.
65. Guerreiro-Tanomaru JM, Cornélio AL, Andolfatto C, Salles LP, Tanomaru-Filho M. pH and Antimicrobial Activity of Portland Cement Associated with Different Radiopacifying Agents. *ISRN Dent.* 2012; (2012): 469019.
66. Amoroso-Silva PA, Marciano MA, Guimarães BM, Duarte MA, Sanson AF, Moraes IG. Apical adaptation, sealing ability and push-out bond strength of five root-end filling materials. *Braz Oral Res.* 2014; 28(1): 1-6.
67. Collares FM, Klein M, Santos PD, Portella FF, Ogliari F, Leitune VC, et al. Influence of radiopaque fillers on physicochemical properties of a model epoxy resin-based root canal sealer. *J Appl Oral Sci.* 2013; 21(6): 533-9.
68. Güven EP, Yalvaç ME, Kayahan MB, Sunay H, Şahin F, Bayirli G. Human tooth germ stem cell response to calcium-silicate based endodontic cements. *J Appl Oral Sci.* 2013; 21(4): 351-7.
69. Walsh RM, Woodmansey KF, Glickman GN, He J. Evaluation of compressive strength of hydraulic silicate-based root-end filling materials. *J Endod.* 2014; 40(7): 969-72.
70. Formosa LM, Mallia B, Camilleri J. Mineral trioxide aggregate with anti-washout gel - properties and microstructure. *Dent Mater.* 2013; 29(3): 294-306.

71. Rodrigues EM, Cornélio AL, Mestieri LB, Fuentes AS, Salles LP, Rossa-Junior C, et al. Human dental pulp cells response to mineral trioxide aggregate (MTA) and MTA Plus: cytotoxicity and gene expression analysis. *Int Endod J.* 2017; 50(8): 780-789.
72. Camilleri J, Formosa L, Damidot D. The setting characteristics of MTA Plus in different environmental conditions. *Int Endod J.* 2013; 46(9): 831-40a.
73. Gandolfi MG, Siboni F, Primus CM, Prati C. Ion release, porosity, solubility, and bioactivity of MTA Plus tricalcium silicate. *J Endod.* 2014; 40(10): 1632-7.
74. Eid AA, Gosier JL, Primus CM, Hammond BD, Susin LF, Pashley DH, et al. In vitro biocompatibility and oxidative stress profiles of different hydraulic calcium silicate cements. *J Endod.* 2014; 40(2): 255-60.
75. Chan DC, Titus HW, Chung KH, Dixon H, Wellinghoff ST, Rawls HR. Radiopacity of tantalum oxide nanoparticle filled resins. *Dent Mater.* 1999; 15(3): 219-22.
76. Donkov N, Zykova A. Tantalum pentoxide ceramic coatings deposition on Ti4Al6V substrates for biomedical applications. *Prob. At. Sci. Technol. Ser. Plasma Phys.* 2011:131–133.
77. Cho YD, Shin JC, Kim HL, Gerelmaa M, Yoon HI, Ryoo HM, Kim DJ, Han JS. Comparison of the osteogenic potential of titanium- and modified zirconia-based bioceramics. *Int J Mol Sci.* 2014; 15(3): 4442-52.
78. Levine BR, Sporer S, Poggie RA, Della Valle CJ, Jacobs JJ. Experimental and clinical performance of porous tantalum in orthopedic surgery. *Biomaterials.* 2006; 27(27): 4671-81.
79. Camilleri J. Staining Potential of Neo MTA Plus, MTA Plus, and Biodentine Used for Pulpotomy Procedures. *J Endod.* 2015; 41(7): 1139-45.
80. Govindaraju L, Neelakantan P, Gutmann JL. Effect of root canal irrigating solutions on the compressive strength of tricalcium silicate cements. *Clin Oral Investig.* 2017; 21(2): 567-571.
81. Saghiri MA, Garcia-Godoy F, Asatourian A, Lotfi M, Banava S, Khezri-Boukani K. Effect of pH on compressive strength of some modification of mineral trioxide aggregate. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2013;18(4): e714-20.
82. Pinheiro LS, Iglesias JE, Boijink D, Mestieri LB, Poli Kopper PM, Figueiredo JAP, et al. Cell Viability and Tissue Reaction of NeoMTA Plus: An In Vitro and In Vivo Study. *J Endod.* 2018; 44(7): 1140-45.
83. Konjhodzic-Prcic A, Jakupovic S, Hasic-Brankovic L, Vukovic A. Evaluation of Biocompatibility of Root Canal Sealers on L929 Fibroblasts with Multiscan EX Spectrophotometer. *Acta Inform Med.* 2015; 23(3): 135-7.

84. Shahi S, Rahimi S, Lotfi M, Yavari H, Gaderian A. A comparative study of the biocompatibility of three root-end filling materials in rat connective tissue. *J Endod.* 2006; 32(8): 776-80.
85. Chang SW, Lee SY, Kang SK, Kum KY, Kim EC. In vitro biocompatibility, inflammatory response, and osteogenic potential of 4 root canal sealers: Sealapex, Sankin apatite root sealer, MTA Fillapex, and iRoot SP root canal sealer. *J Endod.* 2014; 40(10): 1642-8.
86. American National Standard/American Dental Associations Standard No. 41
87. International Organization for Standardization – ISO 10993 (2016)
88. 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.
89. Manni ML, Czajka CA, Oury TD, Gilbert TW. Extracellular matrix powder protects against bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Tissue Eng Part A.* 2011; 17(21-22): 2795-804.
90. Koshimizu JY, Beltrame FL, de Pizzol JP Jr, Cerri PS, Caneguim BH, Sasso-Cerri E. NF- $\kappa$ B overexpression and decreased immunoexpression of AR in the muscular layer is related to structural damages and apoptosis in cimetidine-treated rat vas deferens. *Reprod Biol Endocrinol.* 2013; 9; 11:29.
91. Bills CE, Eisenberg H, Pallante SL. Complexes of organic acids with calciumphosphate: the Von Kossa stain as a clue to the composition of bone mineral. *Johns Hopkins Med J.* 1974; 128(4): 194-207.
92. Puchtler H, Meloan SN. Demonstration of phosphates in calcium deposits: a modification of von Kossa's reaction. *Histochemistry.* 1978; 12;56(3-4): 177-85.
93. Holland R, de Souza V, Nery MJ, Otoboni Filho JA, Bernabé PF, Dezan Júnior 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.
94. Junqueira LC, Bignolas G, Brentani RR. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. *Histochem J.* 1979; 11(4): 447-55.
95. Gomes-Filho JE, Watanabe S, Bernabé PF, de Moraes Costa MT. A mineral trioxide aggregate sealer stimulated mineralization. *J Endod.* 2009; 35(2): 256-60.
96. Siboni F, Taddei P, Zamparini F, Prati C, Gandolfi MG. Properties of BioRoot RCS, a tricalcium silicate endodontic sealer modified with povidone and polycarboxylate. *Int Endod J.* 2017; 50 Suppl 2:e120-e136.

97. Shakya VK, Gupta P, Tikku AP, Pathak AK, Chandra A, Yadav RK, et al. An In vitro evaluation of antimicrobial efficacy and flow characteristics for AH Plus, MTA Fillapex, CRCS and Gutta Flow 2 root Canal Sealer. *J Clin Diagn Res.* 2016; 10(8): ZC104-8.
98. Arias-Moliz MT, Camilleri J. The effect of the final irrigant on the antimicrobial activity of root canal sealers. *J Dent.* 2016 Sep;52:30-6.
99. Urban K, Neuhaus J, Donnermeyer D, Schäfer E, Dammaschke T. Solubility and pH Value of 3 Different Root Canal Sealers: A Long-term Investigation. *J Endod.* 2018;44(11):1736-1740.
100. Quintana RM, Jardine AP, Grechi TR, Grazziotin-Soares R, Ardenghi DM, Scarparo RK, et al. Bone tissue reaction, setting time, solubility, and pH of root repair materials. *Clin Oral Investig.* 2019; 23(3): 1359-1366.
101. Li Y, Chi L, Stechschulte DJ, Dileepan KN. Histamine-induced production of interleukin-6 and interleukin-8 by human coronary artery endothelial cells is enhanced by endotoxin and tumor necrosis factor-alpha. *Microvasc Res.* 2001; 61(3): 253-62.
102. Sundararaj KP, Samuvel DJ, Li Y, Sanders JJ, Lopes-Virella MF, Huang Y. Interleukin-6 released from fibroblasts is essential for up-regulation of matrix metalloproteinase-1 expression by U937 macrophages in coculture: cross-talking between fibroblasts and U937 macrophages exposed to high glucose. *J Biol Chem.* 2009; 284(20): 13714-24.
103. 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): 100-111.
104. da Fonseca TS, Silva GF, Guerreiro-Tanomaru JM, Delfino MM, Sasso-Cerri E, Tanomaru-Filho M, Cerri PS. Biodentine and MTA modulate immunoinflammatory response favoring bone formation in sealing of furcation perforations in rat molars. *Clin Oral Investig.* 2019; 23(3): 1237-52.
105. Kang S, Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. Targeting Interleukin-6 signaling in clinic. *Immunity.* 2019; 50(4): 1007-1023.
106. Hashizume M, Mihara M. The roles of interleukin-6 in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Arthritis.* 2011; 2011:765624.
107. Silva EJ, Accorsi-Mendonça T, Pedrosa AC, Granjeiro JM, Zaia AA. Long-Term Cytotoxicity, pH and dissolution rate of AH Plus and MTA F2illapex. *Braz Dent J.* 2016; 27(4): 419-23.
108. Silva EJ, Rosa TP, Herrera DR, Jacinto RC, Gomes BP, Zaia AA. Evaluation of cytotoxicity and physicochemical properties of calcium silicate-based endodontic sealer MTA Fillapex. *J Endod.* 2013; 39(2): 274-7.

109. Andrade AS, Silva GF, Camilleri J, Cerri ES, Guerreiro-Tanomaru JM, Cerri PS, et al. Tissue Response and immunoexpression of interleukin 6 promoted by tricalcium silicate-based repair materials after subcutaneous implantation in rats. *J Endod.* 2018; 44(3): 458-463.
110. Sepehri ZS, Masoomi M, Ruzbehi F, Kiani Z, Nasiri AA, Kohan F, et al., Comparison of serum levels of IL-6, IL-8, TGF- $\beta$  and TNF- $\alpha$  in coronary artery diseases, stable angina and participants with normal coronary artery. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand).* 2018; 30;64(5): 1;-6.
111. Kim GW, Lee NR, Pi RH, Lim YS, Lee YM, Lee JM, Jeong HS, Chung SH. IL-6 inhibitors for treatment of rheumatoid arthritis: past, present, and future. *Arch Pharm Res.* 2015; 38(5): 575-84.
112. Narazaki M, Tanaka T, Kishimoto T. The role and therapeutic targeting of IL-6 in rheumatoid arthritis. *Expert Rev Clin Immunol.* 2017 Jun;13(6):535-551.
113. Avci AB, Feist E, Burmester GR. Targeting IL-6 or IL-6 receptor in rheumatoid arthritis: What's the difference? *BioDrugs.* 2018; 32(6): 531-546.
114. Noh MK, Jung M, Kim SH, Lee SR, Park KH, Kim DH, et al. Assessment of IL-6, IL-8 and TNF- $\alpha$  levels in the gingival tissue of patients with periodontitis. *Exp Ther Med.* 2013; 6(3): 847-851.
115. Sawada S, Chosa N, Ishisaki A, Naruishi K. Enhancement of gingival inflammation induced by synergism of IL-1 $\beta$  and IL-6. *Biomed Res.* 2013; 34(1): 31-40.
116. Gomes-Filho JE, Watanabe S, Lodi CS, Cintra LT, Nery MJ, Filho JA, Dezan E Jr, Bernabé PF. Rat tissue reaction to MTA FILLAPEX®. *Dent Traumatol.* 2012; 28(6): 452-6.
117. Poggio C, Riva P, Chiesa M, Colombo M, Pietrocola G. Comparative cytotoxicity evaluation of eight root canal sealers. *J Clin Exp Dent.* 2017; 1;9(4):e574-e578.
118. Yaltirik M, Ozbas H, Bilgic B, Issever H. Reactions of connective tissue to mineral trioxide aggregate and amalgam. *J Endod.* 2004; 30(2): 95-9.
119. Susan N. Meloan & Holde Puchtler. Chemical Mechanisms of Staining Methods: Von Kossa's Technique: What von Kossa Really Wrote and a Modified Reaction for Selective Demonstration of Inorganic Phosphates, *J. Histotechnol* (1985) 8:(1), 11-13.
120. Cintra LT, Ribeiro TA, Gomes-Filho JE, Bernabé PF, Watanabe S, Facundo AC, Samuel RO, et al. Biocompatibilidade e biomineralização avaliação de um novo raiz do canal vedante e raiz-fim de enchimento de material. *Dent Traumatol. Abr* 2013; 29 (2): 145-50.
121. Hoshino RA, Silva GFD, Delfino MM, Guerreiro-Tanomaru JM, Tanomaru-Filho M, Sasso-Cerri E, et al. Physical properties, antimicrobial activity and in vivo tissue response to Apexit Plus. *Materials (Basel).* 2020; 5;13(5). pii: E1171.



122. Gomes Filho JE, Queiroz ÍO, Watanabe S, Cintra LT, Ervolino E. Influence of diabetes mellitus on the mineralization ability of two endodontic materials. *Braz Oral Res.* 2016; 30;(25). 1806-8324.