



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



Luana Raphael Da Silva

**Alteração volumétrica do cimento reparador Bio-C Repair em diferentes
condições de pH**

Araraquara

2022



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



Luana Raphael Da Silva

Alteração volumétrica do cimento reparador Bio-C Repair em diferentes condições de pH

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia de Araraquara, para obtenção do título de Mestre em Odontologia, na área de Endodontia.

Orientador: Prof. Dr. Mário Tanomaru Filho

Araraquara

2022

S586a	Silva, Luana Raphael da Alteração volumétrica do cimento reparador Bio-C Repair em diferentes condições de pH / Luana Raphael da Silva. -- Araraquara, 2022 .41 p. : tabs., fotos Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara Orientador: Mário Tanomaru Filho 1. Endodontia. 2. Materiais Dentários. 3. Microtomografia por Raio-X. 4. Propriedades Físicas. 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.

Luana Raphael Da Silva

Alteração volumétrica do cimento reparador Bio-C Repair em diferentes condições de pH

Comissão julgadora

Dissertação para obtenção de título de Mestre em Odontologia

Presidente e orientador: Prof. Dr. Mário Tanomaru Filho

2º Examinador: Profa. Dra. Gisele Faria

3º Examinador: Prof. Dr. Bruno Cavalini Cavenago

Araraquara, 24 de março de 2022.

DADOS CURRICULARES

Luana Raphael Da Silva

NASCIMENTO 02/10/1996 – São Joaquim da Barra – São Paulo

FILIAÇÃO Devair Raphael da Silva

Elisa Regina Oliveira da Silva

2015 – 2018 Graduação em Odontologia no Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos (UNIFEB), Barretos, SP – Brasil

2018 – 2018 Curso de Atualização em Endodontia, na Associação Paulista dos Cirurgiões Dentistas Regional de Barretos (APCD), Barretos, SP – Brasil

Curso de Atualização de Inter-Relação Perio, Dentística e Prótese, no Centro Universitária do Norte Paulista, UNIPÓS-UNORP, São José do Rio Preto, SP – Brasil

2020 – 2022 Especialização em Endodontia na Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista – UNESP

Pós-graduação em Odontologia, Área de Endodontia, nível Mestrado, na Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista – UNESP.

Dedico este trabalho aos meus pais Devair e Elisa, por terem me apoiado constantemente para chegar até aqui, além dos vários conselhos e amor incondicional, sendo meu exemplo e inspiração.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me dar saúde e disposição para realizar meus sonhos, por colocar pais maravilhosos e pessoas boas em meu caminho para que hoje estivesse realizando um dos meus sonhos que é o mestrado.

Aos meus pais Devair Raphael da Silva e Elisa Regina Oliveira da Silva pelo constante apoio em todos os momentos de minha vida, ensinamentos, pelo grande amor que tem por suas duas filhas e que não medem esforços para realizar nossos sonhos. Além disso, quero agradecer a oportunidade de ter estudado, ter uma profissão e continuar meus estudos. Carrego comigo a minha admiração e o exemplo que vocês são para mim hoje. Amo muito vocês e devo tudo que sou a vocês dois.

À minha irmã Aline por ser minha companheira. Pelos conselhos de vida e profissão. O caminho até aqui foi árduo, porém sempre estamos juntas, me guiando como irmã mais velha e dando conselhos de vida e profissão.

Ao meu orientador professor Mário Tanomaru Filho por ser esse grande profissional que me inspira como endodontista, pesquisador e como pessoa. Agradeço também pela confiança e oportunidade de realizar o mestrado na UNESP e sendo sua orientada. É uma grande honra em fazer parte dessa equipe e poder aprender todos os dias.

À professora Juliane Tanomaru pelo profissionalismo e carinho em ensinar nos laboratórios e clínicas, sendo muito atenciosa e prestativa quando precisei.

Aos professores Carlos Alexandre Souza Bier e Gisele Faria pela disponibilidade e contribuição neste trabalho como banca de qualificação.

Aos professores Fábio Berbert, Idomeo Bonetti Filho e Luiz Fernando Freitas por todo conhecimento clínico, principalmente na especialização.

Aos professores da UNIFEB, em especial professores da disciplina de endodontia que são: Prof. Water Antônio Almeida, Maria José Almeida, Marcelo Brunozzi, Bruno Crozeta e Juliana dos Reis Derceli por passar o verdadeiro amor em ensinar a endodontia durante a graduação.

Aos meus amigos Ana Flávia, Giulia, Sâmmea, Danilo, Anahi e Larissa que ingressaram junto comigo no programa de pós-graduação, vou sentir saudades e desejo muito sucesso para vida de todos vocês. Em especial, para meu trio Ana

Flávia, Giulia e Sâmmea que desejo de todo meu coração sucesso profissional e pessoal, vocês foram as três irmãs que o mestrado me proporcionou ter.

Aos meus amigos do Peru Victor e Hernán, grande dupla, muitas conversas, risadas e ensinamento. Hernan minha dupla de academia e ao Victor sempre nos happy hour. Muito obrigada meus grandes amigos, eu sou muito grata de ter conhecido vocês dois.

À minha querida amiga Giselle M. Chávez Andrade, muito obrigada por estar sempre disposta a ajudar, por aconselhar nos momentos difíceis e pelos ensinamentos de DEUS. Agradeço a Deus por ter conhecido você e sou eternamente grata a tudo que fez por mim durante esses anos.

Aos meus amigos de pós-graduação Airton, Karina, Jáder e Fernanda que são todos muito prestativos desde quando entrei para a pós me ajudaram. Airton com toda a sua paciência, dedicação e carisma me ensinou e me aconselhou em todos os momentos. A Karina que despertou meu amadurecimento como pesquisadora e me auxiliou em todas as etapas do meu projeto. Ao Jáder pela paciência e dedicação para que meus resultados fossem coerentes e corretos e a Fernanda que me auxiliou na escrita e esclareceu todas as minhas dúvidas. Obrigada a todos, vou guardar no meu coração cada conselho e momentos vividos com vocês.

À CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Processo nº 132179/2020-2) pelo apoio financeiro essencial para realização dessa pesquisa.

Por fim, agradeço aos demais amigos que de certa forma contribuíram na minha caminhada até aqui.

“O SENHOR é o meu pastor, nada me falta: em pastagens verdejantes faz-me deitar, para águas repousantes me conduz e reconforta minha alma. Por veredas de justiça me guia, por amor do seu nome. Mesmo se eu tiver de andar por um vale de sombra mortal, não temerei os males, porque estás comigo. O teu bordão e o teu cajado, são eles que me confortam. Diante de mim preparas a mesa em frente dos que me afligem; com óleo me unges a cabeça e meu cálice transborda. Pois a bondade e a misericórdia me seguirão todos os dias da minha vida; e habitarei na casa do SENHOR por dias sem fim.”

Salmo 23 (Salmo de Davi)*

* Bíblia Sagrada. Brasília: 1ª Editora, 2018.

Silva LR. Alteração volumétrica do cimento reparador Bio-C Repair em diferentes condições de pH [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2022.

RESUMO

Objetivo: pH ácido pode alterar propriedades de cimentos reparadores. Este estudo avaliou a alteração volumétrica do cimento reparador biocerâmico pronto para uso Bio-C Repair (BCR, Angelus, Londrina, PR, Brasil) após imersão em solução salina tamponada com fosfato (PBS) (pH 7.0) ou ácido butírico (pH 4.5). **Metodologia:** Dentes bovinos extraídos foram utilizados para confecção de tubos de dentina com 4 mm de comprimento, diâmetro interno de 1,5 mm e espessura das paredes de aproximadamente 1 mm. Os tubos de dentina foram preenchidos com BCR (n=8) e mantidos em estufa a 37 °C por 24 horas. Escaneamento inicial em microtomografia computadorizada (micro-CT; SkyScan 1176, Bruker, Kontich, Bélgica) com tamanho de voxel de 8.74 µm foi realizado. Em seguida, os espécimes foram imersos em 1,5 mL de PBS ou ácido butírico e mantidos em estufa a 37°C por 7 dias. Após esse período, novo escaneamento em micro-CT foi realizado. **Resultados:** Bio-C Repair apresentou perda volumétrica após imersão em ácido butírico, e aumento de volume após imersão em PBS ($p<0.05$). As regiões analisadas (extremidade e parte interna) mostraram comportamento volumétrico semelhante para os dois meios de imersão ($p>0.05$). **Conclusões:** O pH ácido influencia a estabilidade dimensional do cimento Bio-C Repair, promovendo perda volumétrica.

Palavras – chave: Endodontia. Materiais Dentários. Microtomografia por Raio-X. Propriedades Físicas.

Silva LR. Volumetric change of Bio-C Repair repair cement in different pH conditions [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2022.

ABSTRACT

Objective: Acidic pH can modify the properties of repair cements. This study evaluated the volumetric change of the ready-to-use bioceramic repair cement Bio-C Repair (BCR, Angelus, Londrina, PR, Brazil) after immersion in phosphate-buffered saline (PBS) (pH 7.0) or butyric acid (pH 4.5). **Methodology:** Extracted bovine teeth were used to make dentin tubes with a length of 4 mm, an internal diameter 1.5 mm and wall thickness of approximately 1 mm. The dentin tubes were filled with BCR (n=8) and kept in oven at 37 °C for 24 hours. Initial scanning in micro-computed tomography (micro-CT; SkyScan 1176, Bruker, Kontich, Belgium) with a voxel size of 8.74 µm was performed. Then, the specimens were immersed in 1.5 mL of PBS or butyric acid and kept in oven at and 37 °C for 7 days. After this period, a new micro-CT scan was performed. **Results:** Bio-C Repair showed a volumetric loss after immersion in butyric acid, and volume increase after immersion in PBS ($p<0.05$). The analyzed regions (extremity and internal part) showed similar volumetric behavior for the two immersion media ($p>0.05$). **Conclusion:** The acidic pH influences the volumetric stability of Bio-C Repair cement, promoting volumetric loss.

Keywords: Endodontics. Dental Materials. X-Ray Microtomography. Physical Properties.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 PROPOSIÇÃO	11
2.1 Objetivo Geral.....	11
2.2 Objetivo Específico	11
3 REVISÃO DA LITERATURA	12
4 MATERIAL E MÉTODO	14
4.1 Cálculo do Tamanho da Amostra	14
4.2 Preparo dos Espécimes e Escaneamento em Micro-CT	14
4.3 Avaliação por Micro-CT da Alteração Volumétrica	16
5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	19
6 RESULTADO	20
7 DISCUSSÃO	22
8 CONCLUSÃO	24
REFERÊNCIAS	25
APÊNDICE A	29
ANEXO A	41

1 INTRODUÇÃO

Bio-C Repair (BCR, Angelus, Londrina, PR, Brasil) é um cimento reparador biocerâmico pronto para uso, composto por silicato tricálcico, aluminato de cálcio, óxido de cálcio, óxido de zircônio, óxido de ferro, dióxido de silício e agente de dispersão. BCR apresenta citocompatibilidade similar e maior radiopacidade que Biodentine (Septodont, Saint Maur des Fosses, França)^{1,2}. BCR apresenta capacidade de preenchimento maior que MTA HP (Angelus, Londrina, PR, Brasil) e perda volumétrica abaixo de 3% após avaliação em microtomografia computadorizada (micro-CT)³.

Estabilidade dimensional e baixa solubilidade são propriedades essenciais para materiais endodônticos, diminuindo a possibilidade de infiltração bacteriana⁴. De acordo com as diretrizes da *International Organization for Standardization*, bem como da *American Dental Association* (ISO⁵ e ANSI/ADA⁶), a solubilidade dos cimentos endodônticos não deve exceder 3,0% de perda de massa e a alteração dimensional não deve exceder 1,0% na contração ou 0,1% na expansão⁷. Teste de solubilidade ISO 6876/2012⁵ apresenta limitações para avaliar materiais à base de silicato de cálcio pela natureza hidrofílica dos cimentos biocerâmicos⁸. A alteração dimensional é avaliada por medidor linear o que não reflete o comportamento tridimensional^{9,10}.

A imersão dos cimentos em fluidos corporais simulados como a solução salina tamponada com fosfato (PBS) permite maior proximidade com condições clínicas e promove menor solubilidade para materiais biocerâmicos quando comparados a imersão em água destilada^{11,12}. Valores de solubilidade mais baixos após imersão em PBS podem estar relacionados à interação com os íons de fosfato do fluido corporal simulado, permitindo a formação de uma camada superficial de hidroxiapatita nos materiais à base de silicato de cálcio⁴.

As propriedades físico-químicas de materiais reparadores podem apresentar alterações em ambiente ácido¹³. O pH ácido pode ocorrer na região periapical em decorrência de eventos inflamatórios^{14,15}, podendo impactar negativamente na estabilidade dimensional de materiais biocerâmicos reparadores^{16,13}. Metodologias que possibilitem simular diferentes condições clínicas, como um pH mais ácido, podem permitir melhor compreensão das propriedades físico-químicas de cimentos à

base de silicato de cálcio¹². O ácido butírico é utilizado para promover pH ácido por ser um dos subprodutos do metabolismo de bactérias anaeróbicas presentes no desenvolvimento da periodontite apical¹².

Diversos métodos são propostos para avaliar as propriedades de materiais endodônticos. Micro-CT é um método de análise tridimensional não destrutivo capaz de complementar os testes convencionais ISO/ADA^{5,6,17}. Essa metodologia não destrutiva pode ser empregada para avaliar o comportamento volumétrico de cimentos endodônticos após imersão em diferentes meios^{18,19}. No entanto, até o momento, não existem estudos que avaliaram o efeito do pH do meio de imersão na alteração volumétrica de BCR. Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da imersão em PBS (pH 7.0) ou ácido butírico (pH 4.5) na alteração volumétrica do cimento biocerâmico pronto para uso, BCR, por meio de micro-CT. A hipótese nula foi que o pH dos diferentes meios de imersão não teria influência na alteração volumétrica do cimento BCR.

2 PROPOSIÇÃO

Os objetivos do presente estudo foram:

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito de soluções com diferentes pH na estabilidade volumétrica do cimento reparador biocerâmico Bio-C Repair

2.2 Objetivo Específico

Avaliar em tubos de dentina bovina, por meio de micro-CT, o efeito do pH na alteração volumétrica do cimento reparador Bio-C Repair após imersão em ácido butírico (pH 4.5) ou PBS (pH 7.0) por 7 dias.

3 REVISÃO DA LITERATURA

O Mineral Trióxido Agregado (MTA) foi o primeiro material à base de silicato de cálcio desenvolvido como material reparador²⁰. MTA é composto por silicato tricálcico, silicato dicálcico associado ao óxido de bismuto, responsável pela radiopacidade do material^{21,22}, e o seu líquido é composto por água. Suas indicações incluem capeamento pulpar, pulpotomia, apexificação, apicigênese e como material retrobturador²³. No entanto, MTA apresenta desvantagens como tempo de presa longo e consistência arenosa²⁴, além de poder promover descoloração dentária²⁵⁻²⁷.

BCR é um cimento reparador biocerâmico pré manipulado e pronto para uso. BCR é composto por silicato tricálcico, aluminato de cálcio, óxido de cálcio, óxido de zircônio (ZrO₂), óxido de ferro, dióxido de silício e agente de dispersão. BCR apresenta citocompatibilidade, biocompatibilidade e induz biomineralização^{1,28}.

BCR apresenta resistência de união superior à dentina radicular, porém com menor resistência à compressão quando comparado com Biodentine e MTA HP²⁹. Adequada capacidade de preenchimento e baixa alteração volumétrica após imersão em água destilada foram observadas para BCR em comparação com MTA HP e IRM (Dentsply DeTrey, Konstanz, Germany)³. No entanto, maior percentual de vazios foi atribuído para BCR e MTA Repair HP quando comparado ao MTA Branco (Angelus, Londrina, PR, Brasil)³⁰.

De acordo com as normas ISO/ADA^{5,6}, materiais endodônticos devem apresentar baixa solubilidade, além de estabilidade dimensional^{31,9}. A solubilidade dos cimentos biocerâmicos não deve exceder 3% da perda de massa inicial após imersão em água destilada por 24 horas³², enquanto que a alteração dimensional não deve exceder 1,0% na contração ou 0,1% na expansão⁷. A solubilidade é determinada pela porcentagem de perda de massa, porém testes convencionais ISO/ADA^{5,6} não são ideais para avaliar cimentos à base de silicato de cálcio por não replicar situações clínicas⁷, pois a perda de massa de materiais hidráulicos ocorre devido à sua solubilidade e também pela evaporação do líquido contido nesses materiais durante a secagem dos corpos de prova³³. Além disso, alterações dimensionais são medidas apenas na direção vertical e o cimento pode expandir ou contrair em todas as direções, assim dificultando a medição de pequenas alterações³⁴.

Visando complementar os testes convencionais, a microtomografia computadorizada (micro-CT) permite avaliar as propriedades físicas de cimentos endodônticos¹⁷ como capacidade de preenchimento e alterações volumétricas. Torres et al.³ (2020) investigaram preenchimento e a alteração volumétrica de BCR após 7 dias de imersão em água destilada, demonstrando adequada capacidade de preenchimento e baixa alteração de volume. Pelepenko et al.³⁵ (2021) demonstraram similar perda volumétrica para White-MTAFlow (Ultradent Products Inc., South Jordan, UT) e Biodentine após imersão em água destilada por 28 dias. A perda de volume foi maior para Bio-C Pulpo (Angelus, Londrina, PR, Brasil) em comparação com MTA Repair HP e MTA Angelus após 28 dias de imersão em água destilada³⁶. Ainda, cimentos biocerâmicos obturadores mostraram menores valores de solubilidade e baixa alteração volumétrica após imersão em PBS¹⁹, sugerindo que o meio de imersão pode influenciar as propriedades de materiais biocerâmicos.

Ambientes ácidos também podem alterar as propriedades físico-químicas dos cimentos endodônticos e prejudicar a capacidade de selamento à longo prazo³⁷. Então, com o intuito de simular uma condição de inflamação, o ácido butírico pode ser utilizado por ser um dos subprodutos do metabolismo de bactérias anaeróbicas presente no desenvolvimento da periodontite apical^{12,38}.

Ashofteh Yazdi et al.³⁹ (2019), mostraram interferência na reação de hidratação e redução na formação de hidróxido de cálcio após avaliação da microestrutura de cimentos reparadores à base de silicato de cálcio em ácido butírico (pH=5,4). Akinci et al.¹³ (2020) apontaram que o ambiente ácido (pH < 7,0) influenciou a perda volumétrica para materiais biocerâmicos reparadores. Por outro lado, Rodríguez-Lozano et al.⁴⁰ (2019) relataram que o pH ácido (pH=5,2) não interferiu na citocompatibilidade de cimentos biocerâmicos reparadores.

PBS é um fluido tissular contendo fosfato que permite reproduzir condições fisiológicas, sendo, portanto, mais apropriado para avaliação de cimentos à base de silicato de cálcio^{41,42}. A imersão em PBS tem promovido menor solubilidade para materiais biocerâmicos quando comparados a imersão em água destilada^{4,19}, por conta da precipitação de hidroxiapatita de cálcio na superfície dos materiais⁴³.

4 MATERIAL E MÉTODO

Apresentação da abordagem metodológica empregada para o desenvolvimento do estudo.

4.1 Cálculo do Tamanho da Amostra

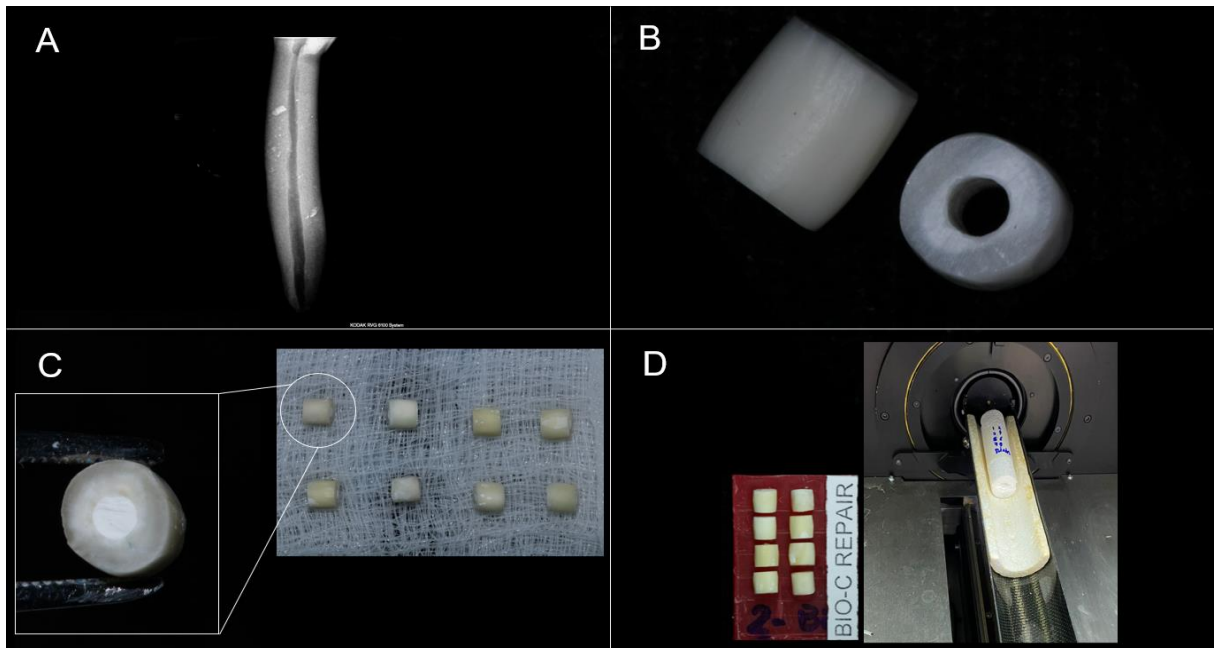
Os testes foram realizados com um software específico G * Power 3.1.7 para Windows (Heinrich-Heine-Universität Dusseldorf, Dusseldorf, Alemanha). O teste ANOVA foi utilizado com um erro do tipo Alpha de 0,05 e poder Beta de 0,95. Estudo anterior foi usado para determinar o tamanho do efeito específico para alteração volumétrica, 0,89⁴². Um total de 8 espécimes por grupo foi indicado como sendo o tamanho ideal necessário.

4.2 Preparo dos Espécimes e Escaneamento em Micro-CT

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA: nº 37/2020), dentes bovinos extraídos foram selecionados por radiografias digitais (Kodak RVG 6100 Digital Radiography System, Marne-la-Vallée, França) para confirmar a ausência de anomalias. As raízes foram seccionadas transversalmente com disco de carborundum (Dentorium Products Co. Inc., Farmingdale, Nova York), obtendo espécimes com 4 mm de comprimento. Posteriormente, um único operador previamente treinado e calibrado realizou o preparo dos canais radiculares utilizando brocas Gates-Glidden número 6 (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça) para confecção de tubos cilíndricos com diâmetro interno de 1,5 mm e espessura das paredes de aproximadamente 1 mm. Durante o preparo, os canais foram inundados com solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) a 1%. Na irrigação final, os espécimes foram imersos com 5 mL de NaOCl a 2,5% e 5 mL de EDTA 17%, por 3 minutos, seguido de água destilada. Após o preparo, os espécimes foram cobertos com gaze umedecida em água destilada e deionizada e armazenados em estufa a 37 °C por 24 horas com a finalidade de manter a dentina umedecida. Decorridas as 24 horas, as cavidades foram preenchidas com BCR (n = 8) utilizando um kit de condensadores (Ref.: 324501, nºs 2, 3 e 4; Golgran; São Caetano do Sul, SP, Brasil). As amostras foram mantidas em estufa a 37 °C e umidade relativa de 95% por 24 horas. Após esse período, os espécimes foram submetidos a escaneamento inicial em micro-CT (SkyScan 1176, Bruker, Kontich, Bélgica), utilizando os

seguintes parâmetros: filtro de cobre e alumínio, frame 4, passo de rotação de 0,5, rotação de 180°, 80 kV, 300 mA e tamanho de voxel de 8,74 μm (Figura 1).

Figura 1 - Imagem representativa da confecção dos tubos de dentina, preenchimento e escaneamento em micro-CT

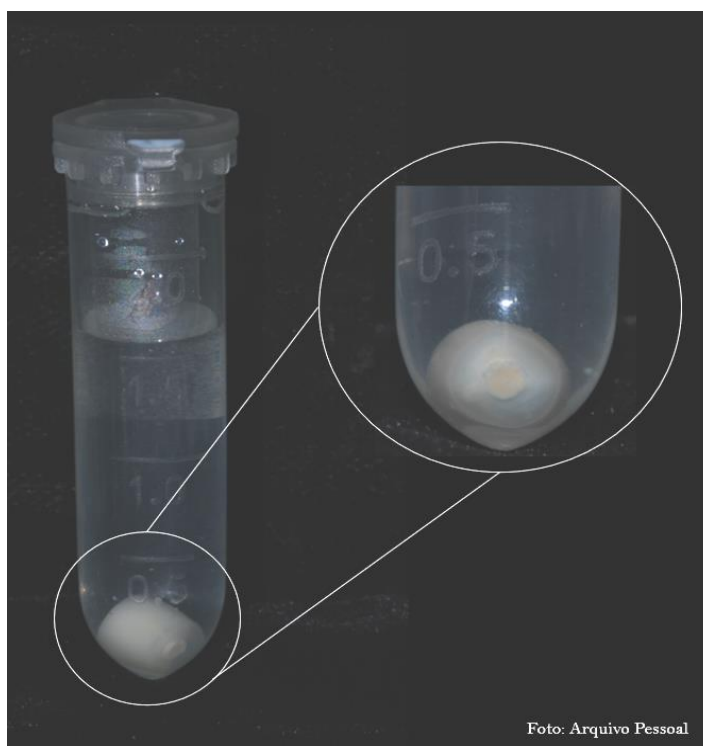


A, Radiografias dos dentes. B, Tubos de dentina com 4 mm de comprimento, diâmetro interno 1,5 mm e espessura das paredes de aproximadamente 1,0 mm. C, Tubos de dentina preenchidos com Bio-C Repair (n=8). D, Amostras posicionadas para escaneamento em micro-CT.

Fonte: Elaboração própria.

Após o escaneamento inicial das cavidades preenchidas pelo material, os espécimes foram imersos em 1,5 mL de PBS (pH 7.0) ou ácido butírico (Sigma; pH 4.5) e mantidos em estufa a 37 °C por 7 dias (Figura 2). A solução de ácido butírico foi trocada a cada 24 horas. Novos escaneamentos em micro-CT foram realizados após 7 dias usando os mesmos parâmetros descritos anteriormente.

Figura 2 - Imagem representativa dos tubos de dentina imersos em 1,5 mL de PBS ou ácido butírico por 7 dias



A solução de ácido butírico foi trocada a cada 24 horas.

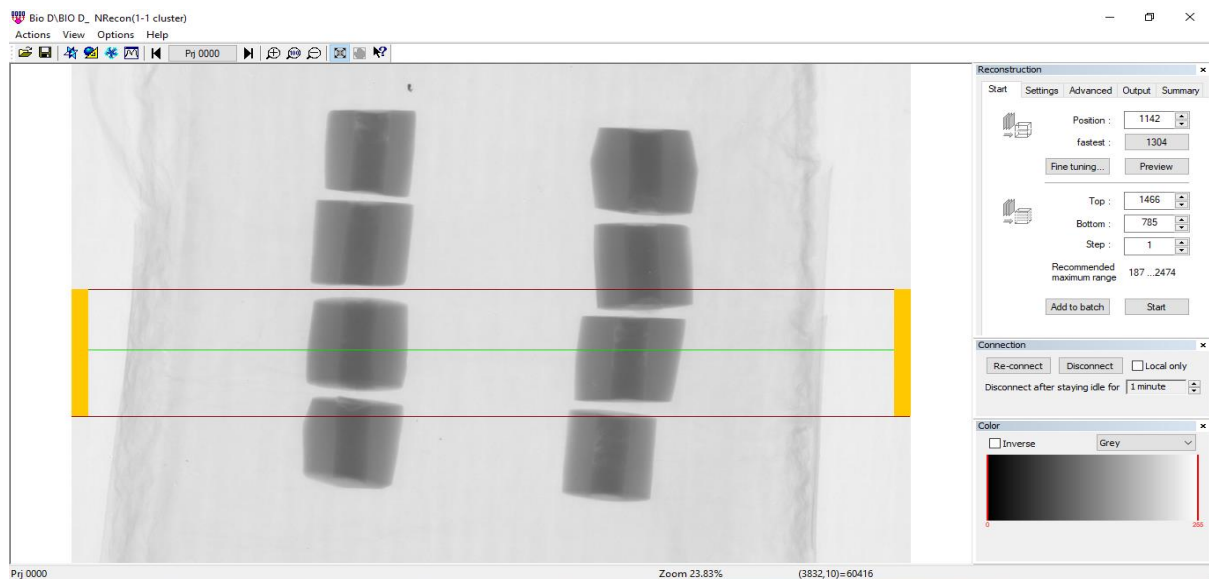
Fonte: Elaboração própria.

4.3 Avaliação por Micro-CT da Alteração Volumétrica

As reconstruções das imagens foram realizadas no programa NRecon (V1.6.4,7; SkyScan, Bélgica) (Figura 3). Um alinhamento geográfico das imagens nos diferentes períodos experimentais foi realizado utilizando a função “3D registration” do *software* Data Viewer (V1.5.2.4; SkyScan, Bélgica) (Figura 4). As análises quantitativas das imagens foram realizadas através do *software* CTAn (V1.15.4.0; SkyScan, Bélgica) (Figura 5). Para análise de alteração volumétrica, cada espécime foi dividido em três partes: 2 mm para cada extremidade e 2 mm no centro da amostra (parte interna) para observar a interferência do meio de imersão em toda a amostra, conforme demonstrado na Figura 6. Para tanto, no *software* CTAn, foi determinada a secção transversal que representa o meio do espécime e a partir deste ponto, toda extensão superior da mostra (extremidade) foi adicionada na região de interesse para análise volumétrica, sendo o mesmo procedimento repetido para a parte inferior (extremidade). Para análise da parte interna, foram removidos da região de interesse 1 mm superior e 1 mm inferior, considerando apenas os 2 mm

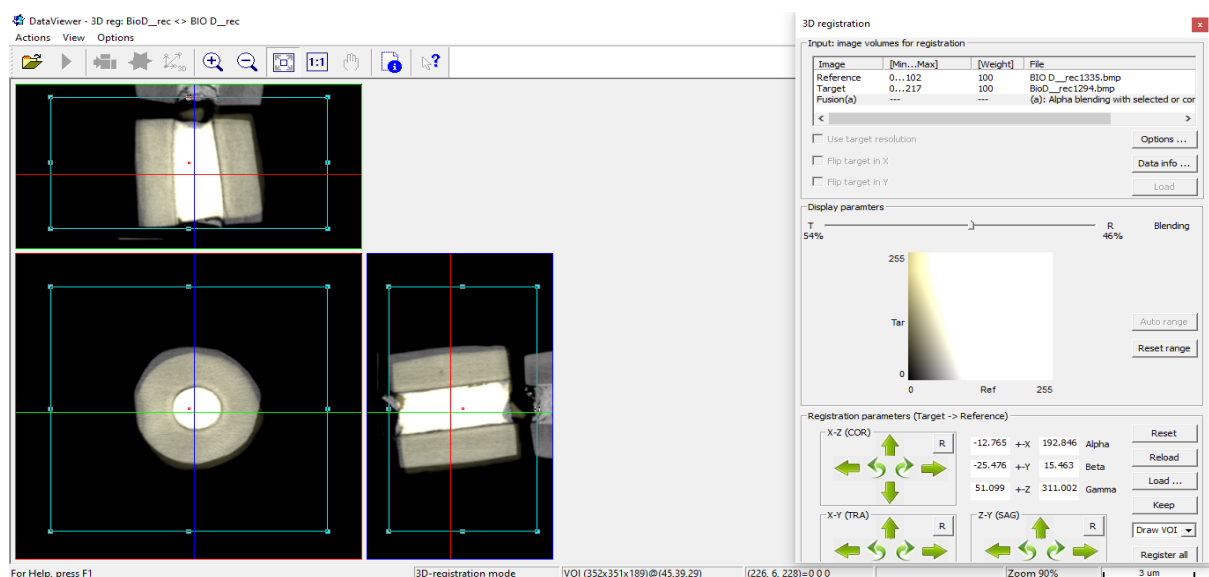
centrais. Desta forma, foi realizado o cálculo da diferença no volume total dos materiais, em mm^3 , antes e após as imersões. A faixa de escala de cinza necessária para reconhecer cada objeto do estudo foi determinada em um histograma de densidade usando *thresholding* adaptativo. Modelos tridimensionais foram criados pelo software CTVox (v.3.2, Bruker-microCT).

Figura 3 - Reconstruções das imagens através do software NRecon



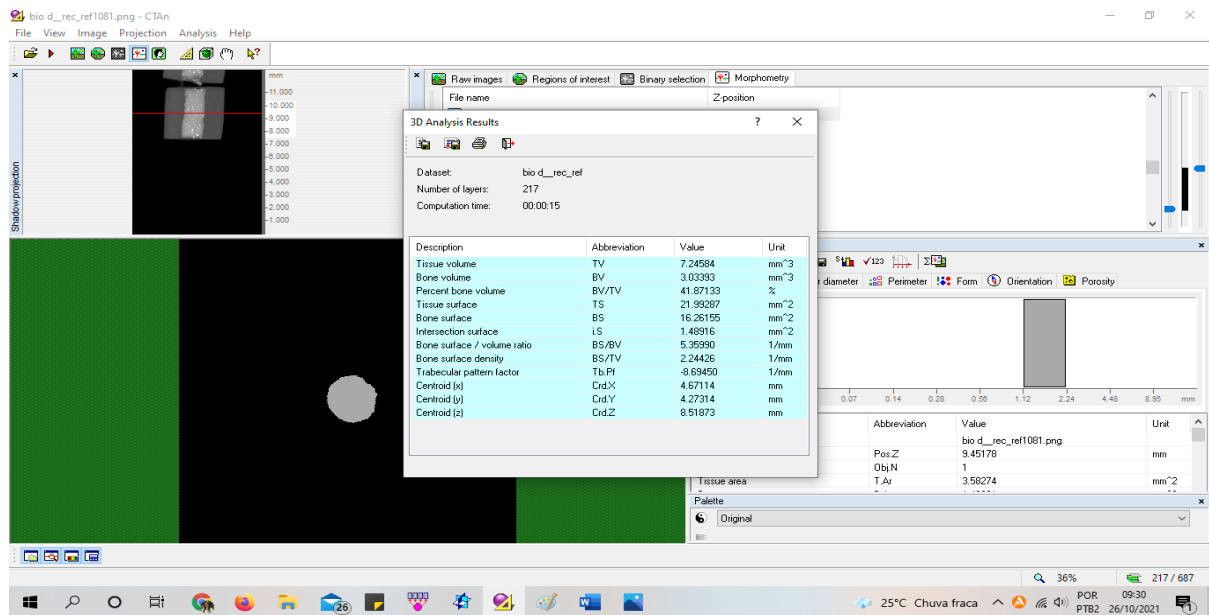
Fonte: Elaboração própria.

Figura 4 - Sobreposição das imagens antes e após os períodos experimentais utilizando o software Data Viewer



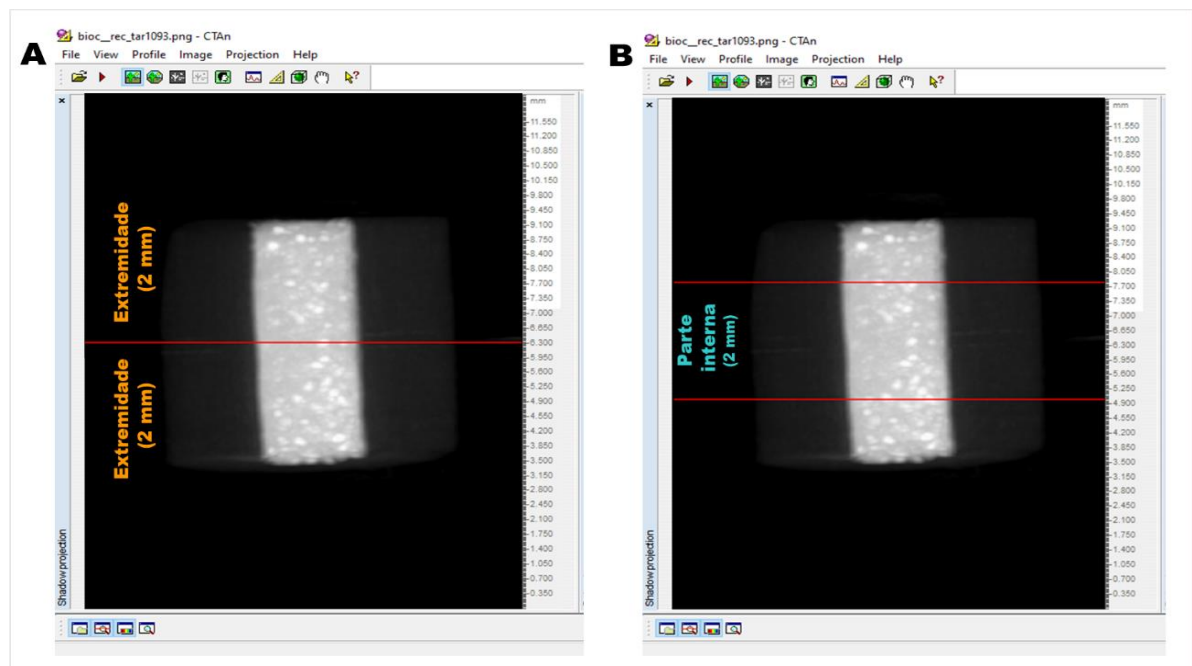
Fonte: Elaboração própria.

Figura 5 – Imagem representativa da análise de alteração volumétrica no software CTAn



Fonte: Elaboração própria.

Figura 6 – Imagem representativa da divisão da amostra em 3 partes para análise da alteração volumétrica no software CTAn



A, Extremidade e B, Parte interna.

Fonte: Elaboração própria.

5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro Wilk, e apresentaram distribuição não normal. O teste Mann Whitney foi usado para comparações entre os grupos com nível de significância de 5%.

6 RESULTADO

Bio-C Repair apresentou perda volumétrica após imersão em ácido butírico, enquanto que a imersão do material em PBS levou a um ganho de volume ($p < 0.05$). As regiões analisadas (extremidade e parte interna) mostraram comportamento volumétrico semelhante independente do meio de imersão empregado ($p > 0.05$) (Tabela 1 e Figura 7).

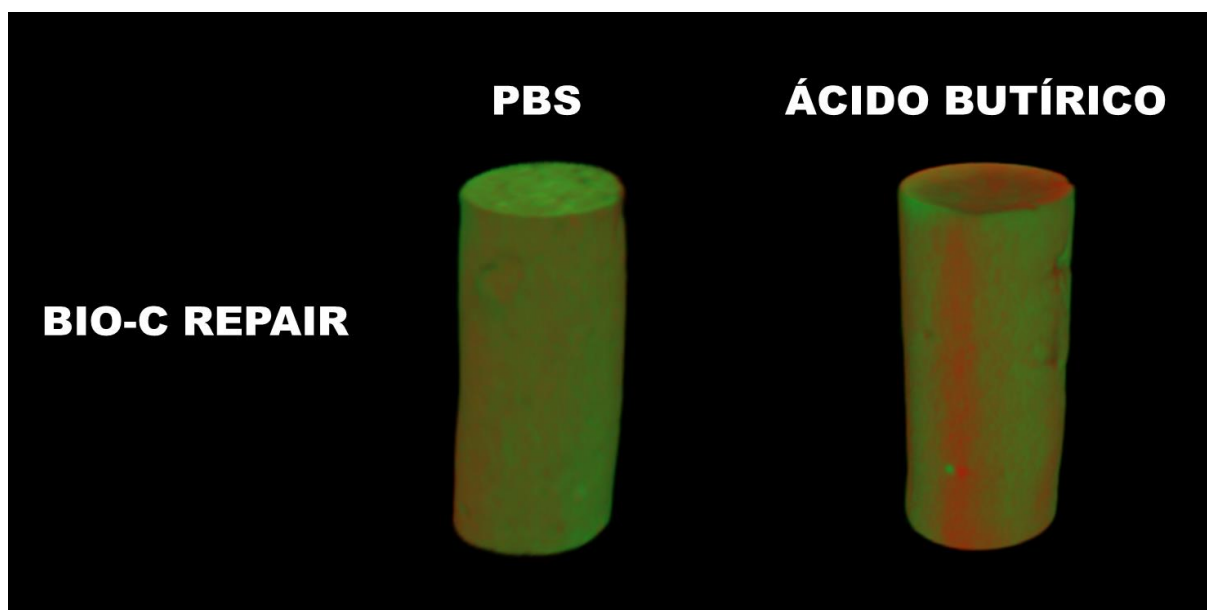
Tabela 1 – Mediana, mínima e máxima do percentual de alteração volumétrica da extremidade e parte interna do cimento Bio-C Repair em diferentes meios de imersão

	PBS	ÁCIDO BUTÍRICO
Extremidade	0,5760 (0,1112-2,2529) ^a	-0,5837 [-2,8335 – (-0,2402)] ^b
Parte interna	0,3590 (-1,785-2,0027) ^a	-0,4709 [-1,4254 – (-0,0320)] ^b

Diferentes letras minúsculas sobrescritas na mesma linha indicam diferença estatística entre os grupos ($p < 0.05$). Não houve diferença significativa entre extremidade e parte interna para o mesmo meio ($p > 0.05$).

Fonte: Elaboração própria.

Figura 7 - Modelos tridimensionais utilizando o software CTVox



Reconstruções tridimensionais de micro-CT mostrando sobreposição do volume do cimento Bio-C Repair antes (vermelho) e após (verde) imersão em PBS ou ácido butírico por 7 dias. Áreas densas em verde indicam ganho de volume, enquanto áreas em vermelho indicam perda de volume.

Fonte: Elaboração própria.

7 DISCUSSÃO

Este estudo avaliou o efeito do pH na alteração volumétrica do cimento reparador BCR após imersão em ácido butírico ou PBS por 7 dias. Foram utilizados tubos de dentina bovina, que permitem maior proximidade com a clínica e interação do material biocerâmico com a dentina⁴⁴. O ácido butírico foi utilizado para simular um pH ácido na presença de reações inflamatórias durante o desenvolvimento da periodontite apical¹³. PBS foi selecionado por simular um fluido corporal simulado⁹.

A hipótese nula foi rejeitada, uma vez que BCR mostrou comportamento volumétrico distinto após imersão nas diferentes condições de pH. Nossos resultados mostraram que BCR apresentou perda volumétrica após imersão em ácido butírico. Embora este seja o primeiro estudo a avaliar a alteração volumétrica de cimentos reparadores biocerâmicos prontos para uso em ambiente ácido, dificultando comparações diretas, cimentos reparadores biocerâmicos com apresentação pó-líquido também mostraram perda volumétrica após imersão em ácido butírico^{13,42}, corroborando com nossos achados. Os resultados podem ser relacionados ao ambiente ácido que pode interferir na formação de cristais de hidroxiapatita, alterar o processo de hidratação dos biocerâmicos, além de levar à uma rápida dissolução dos materiais, ocasionando perda de volume^{13,42}. Além disso, o pH ácido pode prejudicar a dureza superficial¹⁶, a resistência de união¹⁵, a resistência a compressão⁴⁵, bem como aumentar o grau de porosidade de materiais reparadores⁴³.

Por outro lado, BCR apresentou aumento volumétrico após imersão em PBS. Esse resultado pode ser relacionado à combinação dos íons cálcio de cimentos biocerâmicos e o fosfato da solução de imersão, formando apatita carbonatada⁴⁶, podendo resultar em ganho de volume. Além disso, a interação de materiais biocerâmicos em contato com a dentina promove precipitação de uma camada interfacial de hidroxiapatita com a estrutura dentinária⁴⁷.

Em concordância com nossos resultados, estudo prévio mostrou aumento volumétrico após imersão em PBS para materiais reparadores biocerâmicos com apresentação pó-líquido¹³. No entanto, esta é a primeira investigação quanto à alteração volumétrica de BCR em diferentes condições de pH. Assim, os resultados obtidos no presente estudo podem servir como referência para futuras investigações empregando materiais biocerâmicos reparadores prontos para uso.

As alterações volumétricas observadas neste estudo após imersão de BCR em ácido butírico ou PBS podem ser consideradas baixas, uma vez que, mesmo em meio ácido permaneceram inferiores a 3% (mediana abaixo de 1%), sugerindo adequado comportamento volumétrico. Estudo prévio demonstrou baixa alteração de volume para BCR após imersão em água destilada³.

Com base nos achados do presente estudo, as diferentes condições de pH afetaram o comportamento volumétrico do cimento biocerâmico reparador Bio-C Repair. Contudo, embora não existam normas específicas para avaliações realizadas em micro-CT, Bio-C Repair apresentou estabilidade volumétrica e potencial aplicação clínica mesmo em ambiente com pH ácido.

8 CONCLUSÃO

Os meios de imersão influenciaram na alteração volumétrica do material pronto para uso Bio-C Repair, com perda volumétrica em ácido butírico (pH 4.5) e ganho de volume em PBS (pH 7.0). As regiões analisadas não influenciaram a alteração volumétrica de Bio-C Repair.

REFERÊNCIAS*

1. Ghilotti J, Sanz JL, López-García S, Guerrero-Gironés J, Pecci-Lloret MP, Lozano A et al. Comparative surface morphology, chemical composition, and cytocompatibility of Bio-C Repair, Biodentine, and ProRoot MTA on hDPCs. *Materials*. 2020; 13(9): 2189.
2. 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.
3. Torres FFE, Pinto JC, Figueira GO, Guerreiro-Tanomaru JM, Tanomaru-Filho M. A micro-computed tomographic study using a novel test model to assess the filling ability and volumetric changes of bioceramic root repair materials. *Restor Dent Endod*. 2020; 46(1): e2.
4. 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): 1736-40.
5. International Organization for Standardization. ISO 6876: dental root canal sealing materials. Geneva: International Organization for Standardization; 2012.
6. ANSI/ADA. American National Standards Institute/American Dental Association. Specification no. 57 ADA. Laboratory testing methods: endodontic filling and sealing materials. Endodontic sealing materials. Chicago; 2000.
7. Torres FFE, Guerreiro-Tanomaru JM, Bosso-Martelo R, Espir CG, Camilleri J, Tanomaru-Filho M. Solubility, porosity, dimensional and volumetric change of endodontic sealers. *Braz Dent J*. 2019; 30(4): 368-73.
8. Elyassi Y, Moizadeh AT, Kleverlaan CJ. Characterization of leachates from 6 root canal sealers. *J Endod*. 2019; 45(5): 623-27.
9. Silva EJ, Perez R, Valentim RM, De-Deus GA, Lima IC, Neves AA. Dissolution, dislocation and dimensional changes of endodontic sealers after a solubility challenge: a micro-CT approach. *Int Endod J*. 2017; 50(4): 407–14.
10. Torres FFE, Bosso-Martelo R, Espir CG, Cirelli JA, Guerreiro-Tanomaru JM, Tanomaru Filho, M. Methods using micro-CT for evaluating physicochemical properties and volumetric changes in root-end filling materials. *J Appl Oral Sci*. 2017; 25(4): 374–80.
11. Grech L, Mallia B, Camilleri J. Investigation of the physical properties of tricalcium silicate cement-based root-end filling materials. *Dent Mater*. 2013; 29(2): e20-8.

* 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>

12. Silva EJNL, Ferreira CM, Pinto KP, Barbosa AFA, Colaço MV, Sassone LM. Influence of variations in the environmental pH on the solubility and water sorption of a calcium silicate-based root canal sealer. *Int Endod J*. 2021; 54(8): 1394-402.
13. Akinci L, Simsek N, Aydinbelge HA. Physical properties of MTA, BioAggregate and Biodentine in simulated conditions: a micro-CT analysis. *Dent Mater J*. 2020; 39(4): 601-7.
14. Nekoofar MH, Namazikhah MS, Sheykhrezae MS, Mohammadi MM, Kazemi A, Aseeley Z et al. pH of pus collected from periapical abscesses. *Int Endod J*. 2009; 42(6): 534-8.
15. Shokouhinejad N, Nekoofar MH, Iravani A, Kharrazifard MJ, Dummer PM. Effect of acidic environment on the push-out bond strength of mineral trioxide aggregate. *J Endod*. 2010; 36(5): 871-4.
16. Namazikhah MS, Nekoofar MH, Sheykhrezae MS, Salariyeh S, Hayes SJ, Bryant ST et al. The effect of pH on surface hardness and microstructure of mineral trioxide aggregate. *Int Endod J*. 2008; 41(2): 108-16.
17. Tanomaru-Filho M, Torres FFE, Chávez-Andrade GM, de Almeida M, Navarro LG, Steier L et al. Physicochemical properties and volumetric change of silicone/bioactive glass and calcium silicate-based endodontic sealers. *J Endod*. 2017; 43(12): 2097-101.
18. 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): 1359-66.
19. Torres FFE, Zordan-Bronzel CL, Guerreiro-Tanomaru JM, Chavez-Andrade GM, Pinto JC, Tanomaru-Filho M. Effect of immersion in distilled water or phosphate-buffered saline on the solubility, volumetric change and presence of voids within new calcium silicate-based root canal sealers. *Int Endod J*. 2020; 53(3): 385-91.
20. Torabinejad M, Watson TF, Pitt Ford TR. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate when used as a root end filling material. *J Endod*. 1993; 19(12): 591-5.
21. Camilleri J, Montesin FE, Brady K, Sweeney R, Curtis RV, Pitt Ford TR. The constitution of mineral trioxide aggregate. *Dent Mater*. 2005; 21(4): 297-303.
22. Camilleri J. Characterization of hydration products of mineral trioxide aggregate. *Int Endod J*. 2008; 41(5): 408-17.
23. Parirokh M, Torabinejad M. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review--Part III: clinical applications, drawbacks, and mechanism of action. *J Endod*. 2010; 36(3): 400-13.
24. Guimarães BM, Prati C, Duarte MAH, Bramante CM, Gandolfi MG. Physicochemical properties of calcium silicate-based formulations MTA Repair HP and MTA Vitalcem. *J Appl Oral Sci*. 2018; 26: e2017115.

25. Duarte MAH, Marciano MA, Vivan RR, Tanomaru Filho M, Tanomaru JMG, Camilleri J. Tricalcium silicate-based cements: properties and modifications. *Braz Oral Res.* 2018; 32(suppl 1): e70
26. Camilleri J, Grech L, Galea K, Keir D, Fenech M, Formosa L et al. Porosity and root dentine to material interface assessment of calcium silicate-based root-end filling materials. *Clin Oral Investig.* 2014; 18(5): 1437-46.
27. Marciano MA, Camilleri J, Lucateli RL, Costa RM, Matsumoto MA, Duarte MAH. Physical, chemical, and biological properties of white MTA with additions of AlF₃. *Clin Oral Investig.* 2019; 23(1): 33-41.
28. Benetti F, Queiroz ÍOA, Cosme-Silva L, Conti LC, Oliveira SHP, Cintra LTA. Cytotoxicity, biocompatibility and biomineralization of a new ready-for-use bioceramic repair material. *Braz Dent J.* 2019; 30(4): 325-32.
29. Rodrigues MNM, Bruno KF, de Alencar AHG, Silva JDS, de Siqueira PC, Decurcio DA et al. Comparative analysis of bond strength to root dentin and compression of bioceramic cements used in regenerative endodontic procedures. *Restor Dent Endod.* 2021; 46(4): e59.
30. Vergaças JHN, de Lima CO, Barbosa AFA, Vieira VTL, Dos Santos Antunes H, da Silva EJNL. Marginal gaps and voids of three root-end filling materials: a microcomputed tomographic study. *Microsc Res Tech.* 2022; 85(2): 617-22.
31. 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.
32. Poggio C, Lombardini M, Alessandro C, Simonetta R. Solubility of root-end-filling materials: a comparative study. *J Endod.* 2007; 33(9): 1094-7.
33. 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): 43-60.
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. Pelepenko LE, Saavedra F, Antunes TBM, Bombarda GF, Gomes BPFA, Zaia AA et al. Physicochemical, antimicrobial, and biological properties of White-MTAFlow. *Clin Oral Investig.* 2021; 25(2): 663-72.
36. Pelepenko LE, Saavedra F, Antunes TBM, Bombarda GF, Gomes BPFA, Zaia AA et al. Investigation of a modified hydraulic calcium silicate-based material - Bio-C Pulpo. *Braz Oral Res.* 2021; 35: e077.

37. Torres FFE, Bosso-Martelo R, Espir CG, Cirelli JA, Guerreiro-Tanomaru JM, Tanomaru-Filho M. Evaluation of physicochemical properties of root-end filling materials using conventional and Micro-CT tests. *J Appl Oral Sci.* 2017; 25(4): 374-80.
38. Tanomaru-Filho M, Cristine Prado M, Torres FFE, Viapiana R, Pivoto-João MMB, Guerreiro-Tanomaru JM. Physicochemical properties and bioactive potential of a new epoxy resin-based root canal sealer. *Braz Dent J.* 2019; 30(6): 563-68.
39. Torres FFE, Jacobs R, EzEldeen M, Guerreiro-Tanomaru JM, Dos Santos BC, Lucas-Oliveira É et al. Micro-computed tomography high resolution evaluation of dimensional and morphological changes of 3 root-end filling materials in simulated physiological conditions. *J Mater Sci Mater Med.* 2020; 31(2): 14.
40. Rodríguez-Lozano FJ, Collado-González M, López-García S, García-Bernal D, Moraleda JM, Lozano A et al. Evaluation of changes in ion release and biological properties of NeoMTA-Plus and Endocem-MTA exposed to an acidic environment. *Int Endod J.* 2019; 52(8): 1196-1209.
41. Yang DK, Kim S, Park JW, Kim E, Shin SJ. Different setting conditions affect surface characteristics and microhardness of calcium silicate-based sealers. *Scanning.* 2018; 2018: 7136345.
42. Kwon SY, Seo MS. Comparative evaluation of volumetric changes of three different retrograde calcium silicate materials placed under different pH conditions. *BMC Oral Health.* 2020; 20(1): 330.
43. Namazikhah MS, Nekoofar MH, Sheykhrezae MS, Salariyeh S, Hayes SJ, Bryant ST et al. The effect of pH on surface hardness and microstructure of mineral trioxide aggregate. *Int Endod J.* 2008; 41(2): 108-16.
44. Shokouhinejad N, Razmi H, Farbod M, Alikhasi M, Camilleri J. Coronal tooth discoloration induced by regenerative endodontic treatment using different scaffolds and intracanal coronal barriers: a 6-month ex vivo study. *Restor Dent Endod.* 2019; 44(3): e25.
45. Kayahan MB, Nekoofar MH, McCann A, Sunay H, Kaptan RF, Meraji N et al. Effect of acid etching procedures on the compressive strength of 4 calcium silicate-based endodontic cements. *J Endod.* 2013; 39(12): 1646-8.
46. Meschi N, Li X, Van Gorp G, Camilleri J, Van Meerbeek B, Lambrechts P. Bioactivity potential of Portland cement in regenerative endodontic procedures: from clinic to lab. *Dent Mater.* 2019; 35(9): 1342-50.
47. Biočanin V, Antonijević Đ, Poštić S, Ilić D, Vuković Z, Milić M et al. Marginal gaps between 2 calcium silicate and glass ionomer cements and apical root dentin. *J Endod.* 2018; 44(5): 816-21.

APÊNDICE A – ARTIGO CIENTÍFICO*

Efeito da Imersão em Solução Salina Tamponada com Fosfato ou Ácido Butírico na Alteração Volumétrica do Cimento Reparador Biocerâmico Pronto para Uso Bio-C Repair

SUMMARY

Acidic pH can modify the properties of repair cements. This study evaluated the volumetric change of the ready-to-use bioceramic repair cement Bio-C Repair (BCR, Angelus, Londrina, PR, Brazil) after immersion in phosphate-buffered saline (PBS) (pH 7.0) or butyric acid (pH 4.5). Extracted bovine teeth were used to make dentin tubes with a length of 4 mm, an internal diameter 1.5 mm and wall thickness of approximately 1 mm. The dentin tubes were filled with BCR (n=8) and kept in oven at 37 °C for 24 hours. Initial scanning in micro-computed tomography (micro-CT; SkyScan 1176, Bruker, Kontich, Belgium) with a voxel size of 8.74 µm was performed. Then, the specimens were immersed in 1.5 mL of PBS or butyric acid and kept in oven at and 37 °C for 7 days. After this period, a new micro-CT scan was performed. Bio-C Repair showed a volumetric loss after immersion in butyric acid, and volume increase after immersion in PBS ($p<0.05$). The analyzed regions (extremity and internal part) showed similar volumetric behavior for of two immersion environment ($p>0.05$). The acidic pH influences the volumetric stability of Bio-C Repair cement, promoting volumetric loss.

Keywords: endodontics, dental materials, x-ray microtomography, physical properties

* Artigo escrito nas normas do periódico *Brazilian Dental Journal* para o qual pretende-se submeter.

INTRODUÇÃO

Materiais biocerâmicos devem apresentar propriedades físico-químicas adequadas (1). Bio-C Repair (BCR, Angelus, Londrina, PR, Brasil) é um cimento reparador biocerâmico pronto para uso, composto por silicato tricálcico, aluminato de cálcio, óxido de cálcio, óxido de zircônio, óxido de ferro, dióxido de silício e agente de dispersão. BCR apresenta similar citocompatibilidade e maior radiopacidade que Biodentine (Septodont, Saint Maur des Fosses, França) (2,3). BCR mostrou baixa alteração volumétrica após imersão em água destilada, com valores inferiores a 3%, por meio de microtomografia computadorizada (micro-CT) (4).

Estabilidade dimensional e baixa solubilidade são propriedades essenciais para materiais endodônticos, diminuindo a possibilidade de infiltração bacteriana (5). De acordo com as diretrizes da *International Organization for Standardization*, bem como da *American Dental Association* (ISO (6) e ANSI/ADA (7)), a solubilidade dos cimentos endodônticos não deve exceder 3,0% de perda de massa e a alteração dimensional não deve exceder 1,0% na contração ou 0,1% na expansão (8). Teste de solubilidade ISO 6876/2012 (6) apresenta limitações para avaliar materiais à base de silicato de cálcio pela natureza hidrofílica dos cimentos biocerâmicos (9). A mensuração das alterações dimensionais são realizadas em única direção, podendo não refletir as alterações de contração ou expansão (10,11).

As propriedades físico-químicas de materiais reparadores podem apresentar alterações em ambiente ácido (12). pH ácido pode ocorrer na região periapical em decorrência da presença de reação inflamatória (13), impactando na estabilidade dimensional de materiais biocerâmicos reparadores (14,12), ocasionando perda volumétrica (12). Metodologias que possibilitem simular diferentes condições clínicas, como um pH mais ácido, podem permitir melhor compreensão das propriedades físico-químicas de cimentos à base de silicato de cálcio (15).

A imersão de cimentos biocerâmicos em fluidos corporais simulados como solução salina tamponada com fosfato (PBS) permite maior proximidade com condições clínicas e demonstra menor solubilidade para materiais à base de silicato de cálcio quando comparados a imersão em água destilada (16). Valores de solubilidade mais baixos após imersão em PBS podem estar relacionados com a interação dos íons cálcio de cimentos biocerâmicos e o fosfato do fluido corporal simulado, permitindo a formação de uma camada superficial de hidroxiapatita nos materiais à base de silicato de cálcio (5).

Diversos métodos são propostos para avaliar as propriedades de materiais endodônticos. Micro-CT é um método de análise tridimensional não destrutivo capaz de complementar os testes convencionais ISO/ADA (6,7,16). Essa metodologia pode ser empregada para avaliar o comportamento volumétrico de cimentos endodônticos após imersão em diferentes meios (17,18). No entanto, até o momento, não existem estudos que avaliaram o efeito do pH do meio de imersão na alteração volumétrica de BCR. Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da imersão em PBS (pH 7.0) ou ácido butírico (pH 4.5) na alteração volumétrica do cimento biocerâmico pronto para uso, BCR, por meio de micro-CT. A hipótese nula foi que o pH dos diferentes meios de imersão não teria influência na alteração volumétrica do cimento BCR.

MATERIAL E MÉTODOS

Cálculo do tamanho da amostra

Os testes foram realizados com um software específico G * Power 3.1.7 para Windows (Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Düsseldorf, Alemanha). O teste ANOVA foi utilizado com um erro do tipo Alpha de 0,05 e poder Beta de 0,95. Estudo anterior foi usado para determinar o tamanho do efeito específico para alteração volumétrica, 0,89 (19). Um total de 8 espécimes por grupo foi indicado como sendo o tamanho ideal necessário.

Preparo dos espécimes e escaneamento em micro-CT

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA: nº 37/2020), dentes bovinos extraídos foram selecionados por radiografias digitais (Kodak RVG 6100 Digital Radiography System, Marne-la-Vallée, França) para confirmar a ausência de anomalias. As raízes foram seccionadas transversalmente com disco de carborundum (Dentorium Products Co. Inc., Farmingdale, Nova York), obtendo espécimes com 4 mm de comprimento. Posteriormente, um único operador previamente treinado e calibrado realizou o preparo dos canais radiculares utilizando brocas Gates-Glidden número 6 (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça) para confecção de tubos cilíndricos com diâmetro interno de 1,5 mm e espessura das paredes de aproximadamente 1 mm. Durante o preparo, os canais foram inundados com solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) a 1%. A irrigação final foi realizada com 5 mL de NaOCl a 2,5% e 5 mL de EDTA 17%, por 3 minutos, seguido de água destilada. Após o preparo, os espécimes foram cobertos com gaze umedecida em água destilada e deionizada e armazenados em estufa a 37 °C por 24 horas. Decorridas as 24 horas, as

cavidades foram preenchidas com Bio-C Repair (n = 8) utilizando um kit de condensadores (Ref.: 324501, n°s 2, 3 e 4; Golgran; São Caetano do Sul, SP, Brasil). As amostras foram mantidas em estufa a 37 °C e umidade relativa de 95% por 24 horas. Após esse período, os espécimes foram submetidos a escaneamento inicial em micro-CT (SkyScan 1176, Bruker, Kontich, Bélgica), utilizando os seguintes parâmetros: filtro de cobre e alumínio, frame 4, passo de rotação de 0,5, rotação de 180°, 80 kV, 300 mA e tamanho de voxel de 8,74 µm.

Após o escaneamento inicial das cavidades preenchidas pelo material, os espécimes foram imersos em 1,5 ml de PBS (pH 7.0) ou ácido butírico (Sigma; pH 4.5) e mantidos em estufa a 37 °C por 7 dias. A solução de ácido butírico foi trocada a cada 24 horas. Novos escaneamentos em micro-CT foram realizados após 7 dias usando os mesmos parâmetros descritos anteriormente.

Avaliação por micro-CT da alteração volumétrica

As reconstruções das imagens foram realizadas no programa NRecon (V1.6.4.7; SkyScan, Bélgica). Um alinhamento geográfico das imagens nos diferentes períodos experimentais foi realizado utilizando a função “3D registration” do software Data Viewer (V1.5.2.4; SkyScan, Bélgica). As análises quantitativas das imagens foram realizadas através do software CTAn (V1.15.4.0; SkyScan, Bélgica). Para análise de alteração volumétrica, cada espécime foi dividido em três partes: 2 mm para cada extremidade e 2 mm no centro da amostra (parte interna), conforme demonstrado na Figura 1. Para tanto, no software CTAn, foi determinada a secção transversal que representa o meio do espécime e a partir deste ponto, toda extensão superior da mostra (extremidade) foi adicionada na região de interesse para análise volumétrica, sendo o mesmo procedimento repetido para a parte inferior (extremidade). Para análise da parte interna, foram removidos da região de interesse 1 mm superior e 1 mm inferior, considerando apenas os 2 mm centrais. Desta forma, foi realizado o cálculo da diferença no volume total dos materiais, em mm³, antes e após as imersões. A faixa de escala de cinza necessária para reconhecer cada objeto do estudo foi determinada em um histograma de densidade usando thresholding adaptativo. Modelos tridimensionais foram criados pelo software CTVox (v.3.2, Bruker-microCT).

Análise Estatística

Todos os dados foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro Wilk, e apresentaram distribuição não normal. O teste Mann Whitney foi usado para comparações entre os grupos com nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Bio-C Repair apresentou perda volumétrica após imersão em ácido butírico, enquanto que a imersão do material em PBS levou a um ganho de volume ($p < 0.05$). As regiões analisadas (extremidade e parte interna) mostraram comportamento volumétrico semelhante independente do meio de imersão empregado ($p > 0.05$) (Tabela 1 e Figura 2).

DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou o efeito do pH na alteração volumétrica do cimento reparador BCR após imersão em ácido butírico ou PBS por 7 dias. Foram utilizados tubos de dentina bovina, que permitem maior proximidade com a clínica, possibilitando a interação do material biocerâmico com a dentina (20). O ácido butírico foi utilizado para simular um pH ácido na presença de reações inflamatórias durante o desenvolvimento da periodontite apical (12). PBS foi selecionado como um fluido corporal simulado (10).

A hipótese nula foi rejeitada, uma vez que BCR mostrou comportamento volumétrico distinto após imersão nas diferentes condições de pH. Nossos resultados mostraram que BCR apresentou perda volumétrica após imersão em ácido butírico. Embora este seja o primeiro estudo a avaliar a alteração volumétrica de cimentos reparadores biocerâmicos prontos para uso em ambiente ácido, dificultando comparações diretas, cimentos reparadores biocerâmicos com apresentação pó-líquido também mostraram perda volumétrica após imersão em ácido butírico (12,21), corroborando com nossos achados. Tais resultados podem ser justificados uma vez que o ambiente ácido pode interferir na formação de cristais de hidroxiapatita, alterar o processo de hidratação dos biocerâmicos, além de levar à uma rápida dissolução dos materiais, ocasionando perda de volume (12,21). Além disso, o pH ácido pode prejudicar a dureza superficial (14), a resistência a compressão (22), bem como aumentar o grau de porosidade de materiais reparadores (14).

Por outro lado, BCR apresentou aumento volumétrico após imersão em PBS. Esse resultado pode estar relacionado com a combinação dos íons cálcio de cimentos biocerâmicos e o fosfato da solução de imersão, formando apatita carbonatada (23), podendo resultar em ganho de volume. Além disso, a interação de materiais biocerâmicos em contato com a dentina promove precipitação de uma camada interfacial de hidroxiapatita com a estrutura dentinária (24).

Em concordância com nossos resultados, aumento volumétrico foi observado após imersão em PBS para materiais reparadores biocerâmicos com apresentação pó-líquido (12). No entanto, esta é a primeira investigação quanto à alteração volumétrica de BCR em diferentes condições de pH. Assim, os resultados obtidos no presente estudo podem servir como referência para futuras investigações empregando materiais biocerâmicos reparadores prontos para uso.

As alterações volumétricas observadas neste estudo após imersão de BCR em ácido butírico ou PBS podem ser consideradas baixas, uma vez que permaneceram inferiores a 3% (mediana abaixo de 1%), sugerindo adequado comportamento volumétrico. Estudo prévio demonstrou baixa alteração de volume para BCR após imersão em água destilada (4).

Com base nos achados do presente estudo, as diferentes condições de pH afetaram o comportamento volumétrico do cimento biocerâmico reparador Bio-C Repair. Contudo, embora não existam normas específicas quanto às avaliações realizadas em micro-CT, Bio-C Repair apresentou estabilidade volumétrica e potencial aplicação clínica mesmo em ambiente com pH ácido.

Em conclusão, os meios de imersão influenciaram na alteração volumétrica do material pronto para uso Bio-C Repair, com perda volumétrica em ácido butírico e ganho de volume em PBS.

RESUMO (EM PORTUGUÊS)

O pH ácido pode alterar propriedades de cimentos reparadores. Este estudo avaliou a alteração volumétrica do cimento reparador biocerâmico pronto para uso Bio-C Repair (BCR, Angelus, Londrina, PR, Brasil) após imersão em solução salina tamponada com fosfato (PBS) (pH 7.0) ou ácido butírico (pH 4.5). Dentes bovinos extraídos foram utilizados para confecção de tubos de dentina com 4 mm de comprimento, diâmetro interno de 1.5 mm e espessura das paredes de aproximadamente 1 mm. Os tubos de dentina foram preenchidos com BCR (n=8) e mantidos em estufa a 37 °C por 24 horas. Escaneamento inicial em microtomografia computadorizada (micro-CT; SkyScan 1176, Bruker, Kontich, Bélgica) com tamanho de voxel de 8.74 µm foi realizado. Em seguida, os espécimes foram imersos em 1.5 mL de PBS ou ácido butírico e mantidos em estufa a 37°C por 7 dias. Após esse período, novo escaneamento em micro-CT foi realizado. Bio-C Repair apresentou perda volumétrica após imersão em ácido butírico, e aumento de volume após imersão em PBS ($p<0.05$). As regiões analisadas (extremidade e parte interna) mostraram comportamento volumétrico semelhante

para os dois meios de imersão ($p>0.05$). O pH ácido influencia a estabilidade dimensional do cimento Bio-C Repair, promovendo perda volumétrica.

REFERÊNCIAS

1. Donnermeyer D, Bürklein S, Dammaschke T, Schäfer E. Endodontic sealers based on calcium silicates: a systematic review. *Odontology*. 2019;107(4):421-436.
2. Ghilotti J, Sanz JL, López-García S, Guerrero-Gironés J, Pecci-Lloret MP, Lozano A et al. Comparative surface morphology, chemical composition, and cytocompatibility of Bio-C Repair, Biodentine, and ProRoot MTA on hDPCs. *Materials*. 2020;13(9):2189.
3. 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.
4. Torres FFE, Pinto JC, Figueira GO, Guerreiro-Tanomaru JM, Tanomaru-Filho M. A micro-computed tomographic study using a novel test model to assess the filling ability and volumetric changes of bioceramic root repair materials. *Restor Dent Endod*. 2020;46(1):e2.
5. 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.
6. International Organization for Standardization. ISO 6876: dental root canal sealing materials. Geneva: International Organization for Standardization; 2012.
7. ANSI/ADA. American National Standards Institute/American Dental Association. Specification no. 57 ADA. Laboratory testing methods: endodontic filling and sealing materials. Endodontic sealing materials. Chicago, USA, 2000.
8. Torres FFE, Guerreiro-Tanomaru JM, Bosso-Martelo R, Espir CG, Camilleri J, Tanomaru-Filho M. Solubility, porosity, dimensional and volumetric change of endodontic sealers. *Braz Dent J*. 2019;30(4):368-373.
9. Elyassi Y, Moinzadeh AT, Kleverlaan CJ. Characterization of leachates from 6 root canal sealers. *J Endod*. 2019;45(5):623-627.
10. Silva EJ, Perez R, Valentim RM, Belladonna FG, De-Deus GA, Lima IC et al. Dissolution, dislocation and dimensional changes of endodontic sealers after a solubility challenge: a micro-CT approach. *Int Endod J* 2017;50:407–14.

11. Torres FFE, Bosso-Martelo R, Espir CG, Cirelli JA, Guerreiro-Tanomaru JM, Tanomaru-Filho M. Methods using micro-CT for evaluating physicochemical properties and volumetric changes in root-end filling materials. *J Appl Oral Sci* 2017;25:374–80.
12. Akinci L, Simsek N, Aydinbelge HA. Physical properties of MTA, BioAggregate and Biodentine in simulated conditions: A micro-CT analysis. *Dent Mater J*. 2020;39(4):601-607.
13. Nekoofar MH, Namazikhah MS, Sheykhrezae MS, Mohammadi MM, Kazemi A, Aseeley Z et al. pH of pus collected from periapical abscesses. *Int Endod J*. 2009;42(6):534–8.
14. Namazikhah MS, Nekoofar MH, Sheykhrezae MS, Salariyeh S, Hayes SJ, Bryant ST et al. The effect of pH on surface hardness and microstructure of mineral trioxide aggregate. *International Endodontic Journal* 2008;41(2):108-16.
15. Silva EJNL, Ferreira CM, Pinto KP, Barbosa AFA, Colaço MV, Sassone LM. Influence of variations in the environmental pH on the solubility and water sorption of a calcium silicate-based root canal sealer. *Int Endod J*. 2021;54(8):1394-1402.
16. Tanomaru-Filho M, Torres FFE, Chávez-Andrade GM, de Almeida M, Navarro LG, Steier L et al. Physicochemical properties and volumetric change of silicone/bioactive glass and calcium silicate-based endodontic sealers. *J Endod* 2017;43(12):2097–2101.
17. 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.
18. Torres FFE, Zordan-Bronzel CL, Guerreiro-Tanomaru JM, Chavez-Andrade GM, Pinto JC, Tanomaru-Filho M. Effect of immersion in distilled water or phosphate-buffered saline on the solubility, volumetric change and presence of voids within new calcium silicate-based root canal sealers. *Int Endod J*. 2020; 53(3): 385-391.
19. Torres FFE, Bosso-Martelo R, Espir CG, Cirelli JA, Guerreiro-Tanomaru JM, Tanomaru-Filho M. Evaluation of physicochemical properties of root-end filling materials using conventional and Micro-CT tests. *J Appl Oral Sci*. 2017;25(4):374-380.
20. Shokouhinejad N, Razmi H, Farbod M, Alikhasi M, Camilleri J. Coronal tooth discoloration induced by regenerative endodontic treatment using different scaffolds and intracanal coronal barriers: a 6-month ex vivo study. *Restor Dent Endod*. 2019;44(3):e25.
21. Kwon SY, Seo MS. Comparative evaluation of volumetric changes of three different retrograde calcium silicate materials placed under different pH conditions. *BMC Oral Health*. 2020;20(1):330.

22. Kayahan MB, Nekoofar MH, McCann A, Sunay H, Kaptan RF, Meraji N et al. Effect of acid etching procedures on the compressive strength of 4 calcium silicate-based endodontic cements. *J Endod.* 2013;39(12):1646-8.
23. Meschi N, Li X, Van Gorp G, Camilleri J, Van Meerbeek B, Lambrechts P. Bioactivity potential of Portland cement in regenerative endodontic procedures: from clinic to lab. *Dent Mater.* 2019;35(9):1342-1350.
24. Biočanin V, Antonijević Đ, Poštić S, Ilić D, Vuković Z, Milić M et al. Marginal gaps between 2 calcium silicate and glass ionomer cements and apical root dentin. *J Endod.* 2018;44(5):816-821.

TABELA

Tabela 1 - Mediana, mínima e máxima do percentual de alteração volumétrica da extremidade e parte interna do cimento Bio-C Repair em diferentes meios de imersão

	PBS	ÁCIDO BUTÍRICO
Extremidade	0,5760 (0,1112-2,2529) ^a	-0,5837 [-2,8335 – (-0,2402)] ^b
Parte interna	0,3590 (-1,785-2,0027) ^a	-0,4709 [-1,4254 – (-0,0320)] ^b

Diferentes letras minúsculas sobrescritas na mesma linha indicam diferença estatística entre os grupos ($p < 0.05$). Não houve diferença significativa entre extremidade e parte interna para o mesmo meio ($p > 0.05$).

LEGENDA DAS FIGURAS

Figura 1. Imagem representativa da divisão da amostra em 3 partes para análise da alteração volumétrica no software CTAn. A, extremidade e B, parte interna.

Figura 2. Reconstruções tridimensionais de micro-CT mostrando sobreposição do volume do cimento Bio-C Repair antes (preto) e após (cinza) imersão em PBS ou ácido butírico por 7 dias. Áreas em cinza indicam ganho de volume, enquanto áreas em preto indicam perda de volume.

FIGURAS

Figura 1.

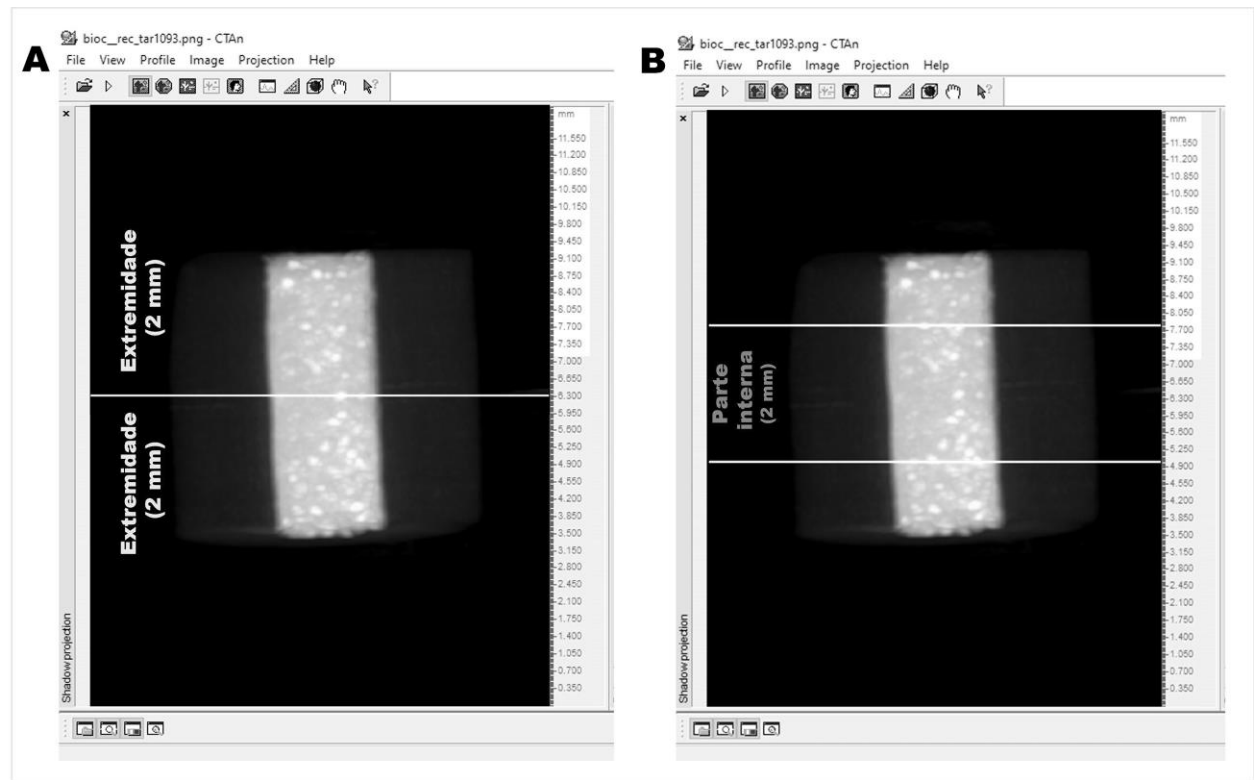
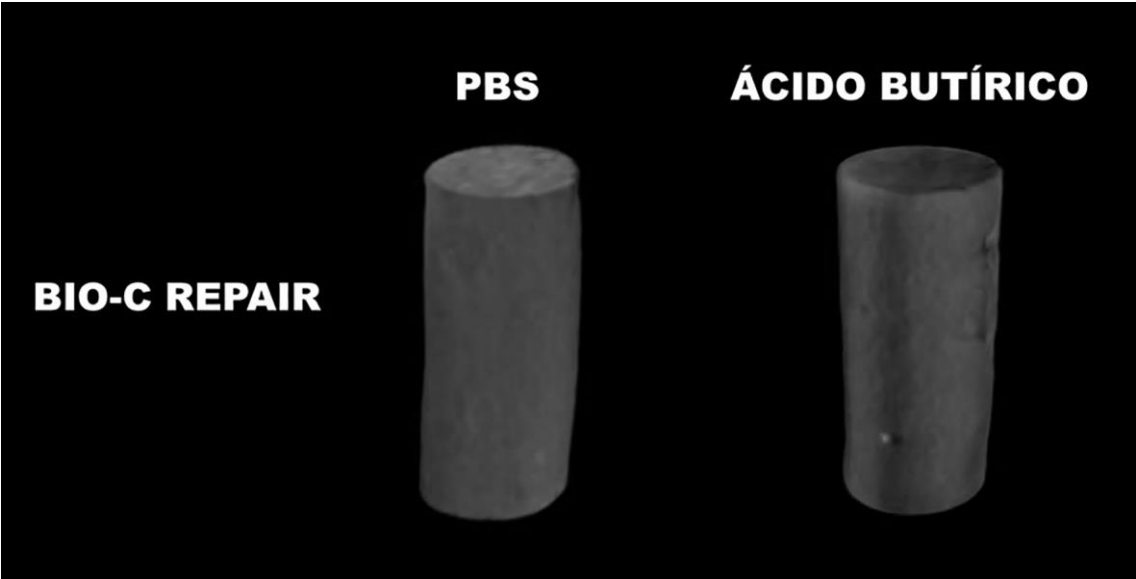


Figura 2.



ANEXO A – APROVAÇÃO PELA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA)



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Araraquara

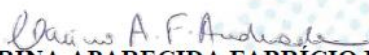


FACULDADE DE ODONTOLOGIA

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada *“Capacidade de preenchimento, interface material/dentina e alteração volumétrica de cimentos biocerâmico reparadores e endodônticos”* registrada com o nº 37/2020, sob a responsabilidade do(a) **Prof(a). Dr(a). Mário Tanomaru Filho** – que envolve a utilização de dentes/ossos bovinos para fins de pesquisa científica – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela **COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA** em reunião de 24/02/2021.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	Maio/2022
Espécie/linhagem/raça	Dentes bovinos
Nº de animais	20
Peso/Idade	-
Sexo	-
Origem	Zanchetta Indústria de Alimentos Ltda - CNPJ 33.920.401/0001-19


Profa. Dra. CARINA APARECIDA FABRÍCIO DE ANDRADE
Coordenadora da CEUA

Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA
Rua Humaitá nº 1.680 – Centro – CEP 14801-903 – Caixa Postal nº 331 - ARARAQUARA – SP
5º andar – fone (16) 3301-6459 / fax (16) 3301-6433 / e-mail: ceua.foar@unesp.br - home page: <http://www.foar.unesp.br>

Não autorizo a publicação deste trabalho pelo prazo de 2 anos após a data de defesa)

(Direitos de publicação reservado ao autor)

Araraquara, 24 de março de 2022.

LRS