

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 14/12/2022.



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



Livia Bueno Campi

**Características físico-químicas e biológicas de novos materiais reparadores
biocerâmicos e cimentos à base de silicato tricálcico dopado com íons flúor**

Araraquara

2020



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



Lívia Bueno Campi

Características físico-químicas e biológicas de novos materiais reparadores biocerâmicos e cimentos à base de silicato tricálcico dopado com íons flúor

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

Orientador: Mário Tanomaru Filho

Araraquara

2020

C196c Campi, Livia Bueno
Características físico-químicas e biológicas de novos
materiais reparadores biocerâmicos e cimentos à base de
silicato tricálcico dopado com íons flúor / Livia Bueno
Campi. -- Araraquara, 2020
139 p. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista
(Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara
Orientador: Mário Tanomaru-Filho

1. Endodontia. 2. Propriedades físicas. 3. Teste de
biocompatibilidade. 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.

Lívia Bueno Campi

Características físico-químicas e biológicas de novos materiais reparadores biocerâmicos e cimentos à base de silicato tricálcico dopado com íons flúor

Comissão julgadora

Tese para obtenção do grau de Doutor em Odontologia

Presidente e orientador Prof. Dr. Mario Tanomaru Filho

2º Examinador Prof. Dr. Marco Antônio Húngaro Duarte

3º Examinador Prof. Dr. Eduardo Antunes Bortoluzzi

4º Examinador Prof. Dr. José Maurício Dos Santos Nunes Reis

5º Examinador Prof. Dr. Rafael Scaff de Molon

Araraquara, 14 de dezembro de 2020.

DADOS CURRICULARES

Livia Bueno Campi

NASCIMENTO: 22/07/1992 – São Joaquim da Barra – SP

FILIAÇÃO: José Carlos Campi
Rosângela Aparecida Bueno Campi

2010-2015 Graduação em Odontologia pela Faculdade de Odontologia de Araraquara, UNESP

2014 Aperfeiçoamento em Cirurgia Bucal pela Fundação Araraquarense de Ensino e Pesquisa em Odontologia, FAEPO

2015-2017 Especialização em Endodontia pela Fundação Odontológica de Ribeirão Preto, FUNORP

2015-2017 Mestrado em Odontologia, área de Endodontia pela Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, USP

2017-2020 Doutorado em Odontologia, área de Endodontia pela Faculdade de Odontologia de Araraquara, UNESP

Dedico este trabalho aos meus pais, **José Carlos** e **Rosângela**, pilares da minha formação como ser humano. Sem eles nada disso seria possível. Amo muito vocês!

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, pelas oportunidades concedidas, por me guiar e dar forças para superar todos os obstáculos da vida!

Aos meus pais, **José Carlos Campi** e **Rosângela Bueno Campi**, meus grandes exemplos, por serem a base de todo meu conhecimento, confiarem em minha capacidade, me apoiando e incentivando. Pelo amor, carinho, amizade, companheirismo e cumplicidade. Sou eternamente grata a vocês.

Aos meus irmãos, **Letícia Bueno Campi** e **Eduardo Bueno Campi**, pelo amor, companheirismo, amizade e por estarem presentes em todos momentos importantes da minha vida.

Ao meu namorado, **Adriano Junior Silva**, por todo companheirismo e paciência ao acompanhar esta minha fase.

Ao meu orientador **Prof. Dr. Mário Tanomaru Filho**, por todo conhecimento compartilhado desde a graduação, por me incentivar, por ser meu maior exemplo na Endodontia, por toda oportunidade dada e pela orientação na carreira científica e acadêmica.

À **Profª Drª Juliane Maria Guerreiro Tanomaru**, pelo conhecimento científico transmitido, pelas oportunidades concedidas e pela contribuição na realização desta tese.

Ao **Programa de Pós-Graduação em Odontologia Restauradora - FOAr/UNESP**, na pessoa do Coordenador **Prof. Dr. Joni Augusto Cirelli** pela colaboração com o trabalho realizado.

Aos **Docentes do Departamento de Odontologia Restauradora** da Faculdade de Odontologia de Araraquara – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, pelos conhecimentos transmitidos e acolhimento.

Às funcionárias do laboratório de microtomografia computadorizada **Bruna e Luana**, pelo incentivo, colaboração, disponibilidade e boa vontade em ajudar.

À **Fernanda Ferrari Esteves Torres, Elisandra Márcia Rodrigues, Jáder Camilo Pinto e Gisselle Moraima Chavez Andrade** por toda ajuda, companheirismo, orientação, e conhecimento a mim transmitidos durante toda essa fase. Vocês foram essenciais no desenvolvimento e conclusão deste trabalho.

Aos amigos da Pós-Graduação **Éric Hernán Coaguila-Llerena, Rafaela Nanami Handa Inada, Victor Manuel Ochoa Rodríguez**, por toda ajuda, conhecimentos, ensinamentos, experiências e pelos momentos de alegria proporcionados. Muito Obrigada!

Aos demais amigos de pós-graduação pela convivência e oportunidades de aprendizado.

Aos **familiares**, que sempre me ajudaram e apoiaram, ajudando a vencer mais essa etapa da minha vida.

À **Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”**, que me concedeu o privilégio e honra de realizar minha graduação e doutorado.

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.

À **FAPESP** – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processo nº 2018/25364-9) pelo apoio financeiro essencial para realização dessa pesquisa.

O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.*

*José de Alencar

Campi LB. Características físico-químicas e biológicas de novos materiais reparadores biocerâmicos e cimentos à base de silicato tricálcico dopado com íons flúor [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2020.

RESUMO

Este estudo avaliou propriedades físico-químicas e biológicas de novos materiais à base de silicato de cálcio. Os materiais utilizados nas publicações foram: **1)** Silicato tricálcico (C_3S), C_3S com íons flúor (C_3S-F), associados ao ZrO_2 (C_3S+ZrO_2 , $C_3S-F+ZrO_2$) e Biodentine (BIO); **2)** Bio-C Repair (BCR), Mineral Trióxido Agregado (MTA) e BIO; **3)** Bio-C Pulpo (PULPO), MTA Repair HP e BIO; **4)** Bio-C Pulpecto (BCP), comparando ao Calen espessado com óxido de zinco (CAL), Bio-C Sealer (BCS) e BIO. **Publicações 1, 2 e 3** - avaliação de tempo de presa, radiopacidade, pH, solubilidade, alteração dimensional e volumétrica empregando microtomografia computadorizada (Micro-CT). Ensaio 3-(4,5-dimetil-tiazol)-2,5-difenil-tetrazólio (MTT), vermelho neutro (VN), migração celular, atividade de fosfatase alcalina (ALP) e vermelho de alizarin (ARS) utilizando células osteoblásticas (Saos-2) para propriedades biológicas. **Publicação 1** - escoamento e preenchimento também foram avaliados em Micro-CT. **Publicação 4** - avaliação em Micro-CT de alteração volumétrica, porosidade e vazios na interface dentina/material após 7 e 30 dias em água e PBS. Resultados foram analisados por ANOVA, Tukey ou Bonferroni ($\alpha=0,05$). **Publicação 1:** $C_3S-F+ZrO_2$ apresentou maior radiopacidade, menor tempo de presa, solubilidade e perda volumétrica que BIO ($p<0,05$), escoamento e preenchimento similar ao BIO ($p>0,05$) e pH alcalino. $C_3S-F+ZrO_2$ apresentou citocompatibilidade, aumento da atividade de ALP em 7 dias e nódulos mineralizados em 21 dias. Conclui-se que $C_3S-F+ZrO_2$ apresentou tempo de presa, radiopacidade e solubilidade de acordo com norma ISO, aumento em comprimento linear, baixa contração volumétrica, altos valores de escoamento e preenchimentos, biocompatibilidade, bioatividade e migração celular, sugerindo uso como reparador. **Publicação 2:** BCR apresentou maior tempo de presa ($p<0,05$), porém radiopacidade e solubilidade de acordo com ISO e expansão linear. BCR e MTA tiveram alteração volumétrica semelhante ($p>0,05$), menor que BIO ($p<0,05$). Todos materiais apresentaram pH alcalino. Conclui-se que BCR apresenta radiopacidade e solubilidade adequadas, expansão dimensional, baixa diminuição de volume, citocompatibilidade, além de promover deposição de nódulos mineralizados e migração celular. **Publicação 3:** PULPO apresentou menor tempo de presa, maior radiopacidade e solubilidade ($\pm 7,56\%$). A alteração dimensional e contração volumétrica é menor em relação ao BIO. Materiais apresentaram pH alcalino e citocompatibilidade. PULPO apresentou atividade de ALP semelhante ao controle ($p>0,05$), maior formação de nódulos mineralizados ($p<0,05$) e migração celular. Conclui-se que PULPO apresenta menor tempo de presa, pH alcalino e radiopacidade acima de 3mmAl. Apesar da solubilidade, foram observados aumento dimensional, alteração volumétrica e propriedades biológicas adequadas, indicando potencial como material reparador endodôntico. **Publicação 4:** BCP apresentou perda volumétrica entre 0.17 e 0.31%. BIO mostrou aumento de volume após 30 dias. BIO e BCS apresentaram menores valores de porosidade inicial e após 7 dias de imersão em PBS ($p<0,05$). BCP apresentou maior porosidade após 7 dias em ambas soluções ($p<0,05$), porém abaixo de 2%. Após 30 dias, houve uma redução na porosidade do BCP em água e PBS. Todos materiais mostraram vazios na interface abaixo de 1%. Conclui-se que BCP, BCS e BIO apresentam estabilidade volumétrica, porosidade abaixo de 2% e espaços vazios na

interface abaixo de 1% em ambas soluções por até 30 dias, demonstrando potencial para uso clínico.

Palavras-Chave: Endodontia. Propriedades físicas. Teste de biocompatibilidade

Campi LB. Physico-chemical and biological characteristics of new bioceramic repair materials and cements based on tricalcium silicate doped with fluoride ions [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2020.

ABSTRACT

This study evaluated physico-chemical and biological properties of new materials based on calcium silicate. The materials used in the publications were: **1)** Tricalcium silicate (C_3S), C_3S with fluoride ions (C_3S-F), associated with ZrO_2 (C_3S+ZrO_2 , $C_3S-F+ZrO_2$ and Biodentine (BIO); **2)** Bio-C Repair (BCR), Mineral Trioxide Aggregate (MTA) and BIO; **3)** Bio-C Pulpo (PULPO), MTA Repair HP and BIO; **Publications 1, 2 and 3** - evaluation of setting time, radiopacity, pH, solubility, dimensional and volumetric changes using computed microtomography (Micro-CT). Assays 3-(4,5-dimethyl-thiazoyl)-2,5-diphenyl-tetrazolium (MTT), neutral red (NR), cell migration, alkaline phosphatase activity (ALP) and alizarin red (ARS) using osteoblastic cells (Saos-2) for biological properties. **Publication 1** - flow and filling were also evaluated in Micro-CT. **Publication 4** - Micro-CT evaluation of volumetric change, porosity and voids at the dentin / material interface after 7 and 30 days in water and PBS. Results were analyzed by ANOVA, Tukey or Bonferroni ($\alpha=0.05$). **Publication 1:** $C_3S-F+ZrO_2$ showed greater radiopacity, shorter setting time, solubility and volumetric loss than BIO ($p<0.05$), flow and filling similar to BIO ($p>0.05$) and alkaline pH. $C_3S-F+ZrO_2$ showed cytocompatibility, increased ALP activity in 7 days and mineralized nodules in 21 days. It is concluded that $C_3S-F+ZrO_2$ presented setting time, radiopacity and solubility according to ISO standard, increase in linear length, low volumetric contraction, high flow and filling values, biocompatibility, bioactivity and cell migration, suggesting use as a repair material. **Publication 2:** BCR showed a longer setting time ($p<0.05$), but with radiopacity and solubility according to ISO, in addition to linear expansion. BCR and MTA had similar volumetric changes ($p>0.05$), less than BIO ($p<0.05$). All materials showed alkaline pH. It is concluded that BCR has adequate radiopacity and solubility, dimensional expansion and low volume reduction, it was cytocompatible, in addition to promoting deposition of mineralized nodules and cell migration. **Publication 3:** PULPO showed shorter setting time, greater radiopacity and solubility ($\pm 7.56\%$). The dimensional change and volumetric contraction are smaller compared to BIO. Materials showed alkaline pH and cytocompatibility. PULPO showed ALP activity similar to the control ($p>0.05$), greater formation of mineralized nodules ($p<0.05$) and cell migration. It is concluded that PULPO has less setting time, alkaline pH and radiopacity above 3mmAl. Despite the solubility, dimensional increase, volumetric change and adequate biological properties were observed, indicating the potential for use as endodontic repair material. **Publication 4:** BCP showed a volume loss between 0.17 and 0.31%. BIO showed an increase in volume after 30 days. BIO and BCS showed lower porosity values in the initial evaluation and after 7 days of immersion in PBS ($p<0.05$). BCP showed greater porosity after 7 days in both solutions ($p<0.05$), but below 2%. After 30 days, there was a reduction in the porosity of BCP in water and PBS. All materials showed voids at the interface below 1%. In conclusion, BCP, BCS and BIO have volumetric stability, porosity below 2% and empty spaces at the interface below 1% in both solutions for up to 30 days, demonstrating the potential for clinical use.

Keywords: Endodontics. Physical properties. Biocompatibility test

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 PROPOSIÇÃO	24
3 PUBLICAÇÕES.....	25
3.1 Publicação 1.....	25
3.2 Publicação 2.....	48
3.3 Publicação 3.....	68
3.4 Publicação 4.....	87
4 DISCUSSÃO	103
5 CONCLUSÃO	107
REFERÊNCIAS	108
APÊNDICE	122
ANEXO	139

1 INTRODUÇÃO

O Mineral Trióxido Agregado (MTA) é composto por cimento Portland acrescido de óxido de bismuto como radiopacificador¹. O cimento Portland é composto por: 55% de silicato tricálcico, 20% de silicato dicálcico, 10% de aluminato tricálcico e 10% de aluminoferrite de tetracálcio². Quando manipulado com água, ocorre o processo de hidratação, produzindo material biocompatível e bioativo³⁻⁶.

O cimento Portland pode apresentar metais pesados na composição após processo de fabricação⁷. Assim, materiais de silicato tricálcico puro ($3\text{CaO}\cdot\text{SiO}_2$ ou simplificado como C_3S) foram introduzidos com capacidade de promover reparação tecidual^{8,9}, apresentando menor tempo de presa que o MTA¹⁰, além de similar capacidade de selamento, bioatividade e biocompatibilidade¹¹. Ao contrário do Portland e MTA, o silicato tricálcico é 99% puro, livre da contaminação por metais pesados e mantém a capacidade de hidratação dos silicatos de cálcio^{9,12}. Cimento Portland e silicato tricálcico puros não exibem radiopacidade^{12,13}, sendo necessária adição de agente radiopacificador para serem utilizados como material reparador.

Óxido de zircônio (ZrO_2) é um pó branco, não-tóxico e biocompatível¹⁴ e inerte durante hidratação quando associado ao cimento Portland¹⁵. Para ser usado como radiopacificador em cimentos endodônticos, a coloração branca promove estética favorável para uso em capeamentos pulpares¹⁶, sem alteração da coloração dental^{17,18}. A associação de cimento Portland e silicato tricálcico com o óxido de zircônio na proporção de 30% do radiopacificador promove um cimento com radiopacidade, tempo de presa e solubilidade adequadas¹⁹, sem alteração no processo de hidratação^{13,15}.

Cimento de silicato tricálcico com radiopacificador é capaz de induzir a proliferação e diferenciação odontogênica de células de polpa dentária humana (hDPC)²⁰. Durante o processo de fabricação, íons são incorporados como estabilizadores químicos, diminuindo temperatura de formação, e aumentando a taxa de produção do C₃S pela alteração dos padrões termodinâmicos^{21,22}. A incorporação de flúor como estabilizador químico do C₃S promoveu o desenvolvimento de um novo biomaterial, o silicato tricálcico dopado com íons flúor (C₃S-F)²³⁻²⁵.

O C₃S-F, assim como o C₃S, é fabricado pela Mineral Research Processing (Meyzieu, França)²⁶, empresa dedicada à pesquisa e desenvolvimento de materiais sintéticos com química e mineralogia controlada, que realizaram a adição de flúor ao silicato tricálcico para reduzir a temperatura de trabalho durante a sinterização do material²⁶. Em 2008, Xu et al.²³ avaliaram o C₃S dopado com CaF₂ (C₃S-F) como material restaurador dentário. O flúor (F⁻) atua na produção de fluorapatita que, por sua vez, apresenta menor solubilidade, melhorando a estabilidade dimensional^{24,27}. Além disso, o fluoreto acelera a formação de C₃S durante a sinterização^{22,24}. Os autores observaram que C₃S-F apresenta acelerada deposição de apatita hidroxicarbonatada (HCA) em imersão em fluido corporal simulado (SBF), com partículas de HCA mais largas na superfície, tendo melhor bioatividade *in vitro* quando comparadas ao C₃S puro²⁴. As pastas de C₃S-F também apresentaram comportamento exothermal mais lento, que pode ser vantajoso, uma vez que a alta taxa exotérmica pode levar à inflamação local e necrose térmica²⁴. Lin et al.²⁵ investigaram os efeitos e mecanismos do C₃S-F na formação de apatita comparando ao C₃S e concluíram que C₃S-F induz a formação de apatita em

menor tempo que C_3S puro, e que a espessura da apatita aumenta proporcionalmente à maior porcentagem de C_3S-F . Também observaram uma bioatividade alta do C_3S-F , atribuída ao F^- liberado pela produto da hidratação do C_3S e formação de fluorapatita, tornando o material mais vantajoso na utilização como reparador de tecido ósseo²⁵.

Novos materiais à base de silicato tricálcico são constantemente desenvolvidos²⁸ para melhorar as propriedades físico-químicas do MTA, mantendo sua biocompatibilidade e bioatividade e superando as desvantagens como dificuldade de manuseio, descoloração dental e formação de ilhas de calcificação distrófica no tecido pulpar²⁹. Tais formulações incluem MTA Repair HP (Angelus, Londrina, Brasil)³⁰ e Biodentine (Septodont, Saint-Maur-des-Fossès, França)³¹.

O MTA Repair HP foi introduzido com composição e indicações semelhantes à do MTA, e com tungstato de cálcio como radiopacificador, que promove radiopacidade adequada³² e ausência de descoloração dental³⁰. Além disso, o líquido contém água e um agente plastificante orgânico, que confere alta plasticidade ao produto, facilitando sua manipulação e inserção³⁰. Tomás-Catalá et al.³³, em uma análise comparativa do efeito biológico *in vitro* do MTA Repair HP, do MTA Angelus e do NeoMTA Plus sobre células tronco das células da polpa dental humana (hDPSCs), observaram que todos os cimentos apresentaram biocompatibilidade satisfatória, corroborando com outros estudos que demonstraram viabilidade de células pulpares ou osteoblásticas promovidas pelo MTA³⁴. Esses cimentos liberaram hidróxido de cálcio, necessário para que ocorra diferenciação e migração celular e proliferação de tecido mineralizado^{33,35}

O Biodentine™ apresenta em sua composição silicato tricálcico, silicato dicálcico, óxido de cálcio, carbonato de cálcio e ZrO_2 como radiopacificador³⁶. O líquido contém cloreto de cálcio, que diminui o tempo de presa, e um polímero hidrossolúvel (plastificante) para promover consistência, utilizando uma baixa proporção de pó/água³⁷. Quando comparado ao MTA, o Biodentine apresenta vantagens como reduzido tempo de presa, rápido aumento da resistência mecânica¹³ e maior produção de nódulos mineralizados³⁸. Além disso, o ZrO_2 , radiopacificador do Biodentine, também apresenta vantagens sobre o óxido de bismuto, radiopacificador do MTA⁹. Porém, a presença do plastificante é relacionada à maior solubilidade do material^{39,40}.

Atualmente, a Angelus® Indústria de Produtos Odontológicos S/A (Londrina, Brasil)³⁰, desenvolveu um novo material reparador biocerâmico pronto para uso, o Bio-C Repair, outro material biocerâmico pó-líquido com maior indicação para pulpotomias, o Bio-C Pulpo e a primeira pasta reabsorvível à base de silicato tricálcico para a obturação de dentes decíduos, o Bio-C Pulpecto.

BIO-C Repair, cimento reparador pronto para uso, é composto por silicato tricálcico, aluminato de cálcio, óxido de cálcio, óxido de zircônio (ZrO_2), óxido de ferro, dióxido de silício e agente de dispersão. De acordo com o fabricante, o produto possui alta alcalinidade e alta radiopacidade³⁰. Benetti et al.⁴¹ verificaram que o Bio-C Repair apresenta citocompatibilidade semelhante aos materiais à base de MTA, é biocompatível e induz biomineralização⁴¹. Lopez-García et al.⁴² também verificaram a biocompatibilidade do Bio-C Repair, além de adesão celular e capacidade de estimular a migração de células mesenquimais do ligamento periodontal.

BIO-C Pulpo, da linha infantil Angelus, está sendo desenvolvido com maior indicação para pulpotomia em dentes decíduos e permanentes jovens, forramento cavitário/base para restauração e para tratamento restaurador atraumático. O pó é composto de silicato de cálcio, óxido de zircônio, fluoreto de cálcio, dióxido de silício e óxido de ferro. O líquido consiste em água destilada, plastificante e cloreto de cálcio³⁰. A presença de dióxido de silício é geralmente utilizada para melhorar as propriedades mecânicas do material⁴³. Koutroulis et al.⁴³ observaram que o Bio-C Pulpo possui alto pH e liberação de cálcio, não apresentando citotoxicidade e com adequado desempenho antibacteriano. Cosme-Silva et al.⁴⁴ analisaram a resposta inflamatória, a capacidade histológica de induzir deposição mineral e a imuno-histoquímica do Bio-C Pulpo e confirmaram sua biocompatibilidade e capacidade de induzir marcadores osteogênicos, como osteocalcina, osteopontina e sialoproteína óssea, semelhantes ao MTA branco.

Bio-C Pulpecto é o primeiro material à base de silicato tricálcico especificamente indicado para obturação de canal radicular de dentes decíduos. Consiste em uma pasta reabsorvível, pronta para uso, composta por silicato de cálcio, aluminato de cálcio, óxido de cálcio, resina base, tungstato de cálcio e óxido de titânio⁴⁵. O cimento demonstra biocompatibilidade, capacidade de formar tecido mineralizado e expressão de marcadores de mineralização, os quais favorecem o reparo na região periapical⁴⁵.

Para verificar as propriedades físico-químicas de novos materiais ou de materiais modificados, normas e testes padronizados de avaliação são definidos pela American Institute/American Dental Association (ADA)⁴⁶ e International Organization for Standardization (ISO)⁴⁷, que estabelecem metodologias padrão

para análise do tempo de presa, radiopacidade, solubilidade, escoamento, estabilidade dimensional, espessura de filme e resistência à compressão para cimentos.

O tempo de presa dos cimentos deve ser avaliado para estabelecer um tempo de trabalho adequado, permitindo assim um completo selamento do sistema de canais radiculares⁴⁸. Os cimentos endodônticos têm sido testados de acordo com as normas ANSI/ADA nº 57 e ISO 6876⁴⁹⁻⁵¹.

Os materiais reparadores devem apresentar radiopacidade suficiente para diferenciarem-se das estruturas anatômicas adjacentes⁵²⁻⁵⁴, como ossos e dentes⁵⁵. De acordo com a norma ANSI/ADA nº 57⁴⁶, os materiais de preenchimento endodônticos devem apresentar uma diferença de radiopacidade equivalente a pelo menos 2 mm da escala de alumínio quando comparados ao osso ou a dentina, de maneira que sejam identificados na radiografia.

Novas metodologias são empregadas na Endodontia para avaliar solubilidade, escoamento e análise da interface dentina/material utilizando microtomografia computadorizada (Micro CT)^{36,49,56}, ferramenta de análise 3D não destrutiva e potente para visualizar, na interface com a dentina, a microestrutura interna de materiais obturadores⁵⁶.

Para ser considerado ideal, um cimento endodôntico deve apresentar solubilidade menor que 3%⁴⁶, já que a dissolução do material pode permitir uma infiltração bacteriana, comprometendo o tratamento⁴⁹. Os testes ANSI/ADA nº.57⁴⁶ e ISO 6876⁴⁷ de solubilidade consistem em avaliar a diferença de massa dessecada, em gramas, dos cimentos antes e após a imersão em água destilada e deionizada após um período de 24h. Para complementar o teste de

solubilidade, uma técnica não invasiva e com boa resolução⁵⁶ utiliza Micro CT para avaliação tridimensional dos materiais⁴⁹.

O escoamento permite aos materiais endodônticos preencher áreas irregulares do canal radicular, canais acessórios ou cavidade retrógrada^{48,57,58}. O teste de avaliação determinado pela ISO estabelece que cimentos endodônticos devem apresentar diâmetro superior a 20 mm de escoamento⁴⁷, entretanto, não há padrão específico para a avaliação desta propriedade em materiais reparadores. Assim, a microtomografia computadorizada pode ser utilizada para a avaliação do escoamento e preenchimento da cavidade (Tanomaru-Filho et al., 2017). Os autores utilizaram placas de vidro com uma cavidade central, para permitir a padronização da quantidade de material, e pressão durante o teste, assim como na norma ISO, e obtiveram informações em 3D sobre o escoamento e preenchimento adequados e reprodutíveis para esta análise⁵⁹.

A alteração dimensional pode comprometer o selamento endodôntico causando lacunas entre o cimento/dentina ou cimento/guta percha, que permitem a infiltração de microrganismos e seus produtos tóxicos nos tecidos periapicais⁶⁰. Segundo especificações da ANSI/ADA nº57⁴⁶ e ISO 6876⁴⁷, a alteração dimensional não deve exceder 1,0% em contração ou 0,1% em expansão. A principal limitação deste teste é que a mudança dimensional é baseada em uma medida linear⁶¹, e os materiais podem se contrair ou expandir em todas as direções. Torres et al.⁴⁰ utilizaram a tomografia microcomputadorizada (Micro-CT) para análise volumétrica tridimensional (em mm³) dos materiais, que complementa o teste convencional de análise de

solubilidade e estabilidade dimensional, e concluíram que este é um método reprodutível.

A presença de espaços vazios ou gaps marginais pode comprometer a adaptação do material e permitir a micro infiltração de fluidos e contaminação bacteriana^{56,62}. A análise da interface dentina/material através do Micro-CT foi utilizada, devido à sua alta resolução, para observar a presença de defeitos e espaços vazios, permitindo observação da adaptação dos materiais⁵⁶.

Além de adequadas propriedades físico-químicas, um material reparador deve ser biocompatível, inerte e promover uma boa aderência à dentina. A bioatividade é uma propriedade importante para materiais reparadores^{63,64} e cimentos obturadores^{65,66}, por estar relacionada com a capacidade de induzir a formação de hidroxiapatita em sua superfície⁶⁷⁻⁷¹. Os ensaios de adesão e migração de células potencialmente osteogênicas também são importantes fatores que podem ser analisados em relação ao processo de mineralização⁷².

Para avaliação da bioatividade, os testes 3-(4,5-dimetil-tiazolil)-2,5-difenil-tetrazólio (MTT), fosfatase alcalina (ALP) e Vermelho de Alizarin (ARS) têm sido utilizados. O MTT determina a taxa de viabilidade celular e é utilizado por sua rapidez e precisão, refletindo o número de células e o nível de sua atividade metabólica em uma amostra, baseado na atividade de enzimas presentes em células viáveis⁷³. A ALP é uma enzima produzida por odontoblastos e osteoblastos, considerada um marcador inicial para a diferenciação óssea detectada em pré-osteoblastos e osteoblastos, e relacionada com a formação óssea durante o processo de mineralização^{74,75}. A coloração com ARS identifica a formação de depósitos minerais e permite a identificação de células com potencial osteogênico em cultura celular⁷⁶.

A citotoxicidade é também um dos parâmetros para avaliar os efeitos dos materiais quando em contato com diversos tipos celulares e tecidos⁷⁷. Para avaliação da citotoxicidade, utilizam-se ensaios como o MTT e o Vermelho Neutro, que se baseia na captação e acumulação do corante vital vermelho neutro nos lisossomas das células que possuem membranas intactas⁷⁸.

Células humanas de osteossarcoma Saos-2 (“osteoblast-like cells”) são uma linhagem celular com fenótipo de osteoblastos maduros que têm sido utilizadas para testar o potencial bioativo de materiais odontológicos^{38,79–81}, por demonstrar a produção e segregação de agentes indutores ósseos (proteínas morfogenéticas ósseas -2, -4, -6 e -7)⁸² e expressar níveis elevados de atividade ALP⁸³.

O objetivo do presente estudo foi avaliar as propriedades físico-químicas e biológicas de materiais experimentais à base de silicato de cálcio dopado com íons flúor e de novos materiais reparadores e obturadores biocerâmicos, comparando-os à materiais já disponíveis no mercado.

5 CONCLUSÃO

- De acordo com a Publicação 1, O cimento de silicato tricálcico dopado com íons flúor associado ao ZrO_2 ($\text{C}_3\text{S-F+ZrO}_2$) apresentou o menor tempo de presa entre os materiais avaliados, radiopacidade acima de 3mmAl, solubilidade inferior ao 3% recomendados pelas normas ISO, ganho em comprimento linear e baixa contração volumétrica. O material também promoveu altos valores de escoamento e preenchimentos central e lateral. Biologicamente, $\text{C}_3\text{S-F+ZrO}_2$ apresentou biocompatibilidade, bioatividade e potencial de reparo, sugerindo seu uso como material reparador.
- De acordo com a Publicação 2, Bio-C Repair teve radiopacidade adequada, solubilidade abaixo de 3%, expansão dimensional e baixa perda de volume. Além disso, o Bio-C Repair promoveu um pH alcalino e teve bioatividade e biocompatibilidade semelhantes às do MTA e do Biodentine, apresentando potencial para uso como material reparador.
- De acordo com a Publicação 3, Bio-C Pulpo apresenta baixo tempo de presa, pH alcalino, radiopacidade de 3,60mmAl, e maior solubilidade, porém com aumento dimensional quando comparado ao MTA Repair HP e Biodentine. Bio-C Pulpo também demonstrou biocompatibilidade e bioatividade, com potencial para ser utilizado como material reparador
- De acordo com a Publicação 4, Bio-C Pulpecto, Bio-C Sealer e Biodentine apresentaram estabilidade volumétrica com maior que Calen espessado com óxido de zinco, além de baixos valores de porosidade e espaços vazios na interface com a dentina quando imerso em água destilada ou PBS, o que sugere o potencial para uso clínico.

REFERÊNCIAS*

1. Torabinejad M, Linda L, White DJ, Dimas S. United States patent. Geothermics [Internet]. 1985;14(4):595–9. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0375650585900112>
2. Camilleri J. Hydration mechanisms of mineral trioxide aggregate. *Int Endod J*. 2007;40(6):462–70.
3. Camilleri J. Characterization of hydration products of mineral trioxide aggregate. *Int Endod J* [Internet]. 2008 May 1 [cited 2019 Apr 18];41(5):408–17. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2591.2007.01370.x>
4. Camilleri J, Montesin FE, Brady K, Sweeney R, Curtis R V., Ford TRP. The constitution of mineral trioxide aggregate. *Dent Mater*. 2005;21(4):297–303.
5. Camilleri J, Montesin FE, Di Silvio L, Pitt Ford TR. The chemical constitution and biocompatibility of accelerated Portland cement for endodontic use. *Int Endod J*. 2005;38(11):834–42.
6. Bramante CM, Kato MM, Assis GF de, Duarte MAH, Bernardineli N, Moraes IG de, et al. Biocompatibility and setting time of CPM-MTA and white Portland cement clinker with or without calcium sulfate. *J Appl Oral Sci*. 2013;21(1):32–6.
7. Chang SW, Shon WJ, Lee WC, Kum KY, Baek SH, Bae KS. Analysis of heavy metal contents in gray and white MTA and 2 kinds of Portland cement: a preliminary study. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology* [Internet]. 2010;109(4):642–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tripleo.2009.12.017>
8. Zhao W, Chang J. Sol-gel synthesis and in vitro bioactivity of tricalcium silicate powders. *Mater Lett*. 2004;58(19):2350–3.

* 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>

9. Camilleri J. Characterization and hydration kinetics of tricalcium silicate cement for use as a dental biomaterial. *Dent Mater* [Internet]. 2011;27(8):836–44. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dental.2011.04.010>
10. Zhao W, Wang J, Zhai W, Wang Z, Chang J. The self-setting properties and in vitro bioactivity of tricalcium silicate. *Biomaterials*. 2005;26(31):6113–21.
11. Roberts HW, Toth JM, Berzins DW, Charlton DG. Mineral trioxide aggregate material use in endodontic treatment: a review of the literature. *Dent Mater*. 2008;24(2):149–64.
12. Formosa LM, Mallia B, Camilleri J. The effect of curing conditions on the physical properties of tricalcium silicate cement for use as a dental biomaterial. *Int Endod J* [Internet]. 2012;45(4):326–36. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2591.2011.01980.x>
13. Camilleri J, Sorrentino F, Damidot D. Investigation of the hydration and bioactivity of radiopacified tricalcium silicate cement, Biodentine and MTA Angelus. *Dent Mater*. 2013;29(5):580–93.
14. Ribeiro DA, Carlin V, Fracalossi ACC, Oyama LM. Radiopacifiers do not induce genetic damage in murine fibroblasts: an in vitro study. *Int Endod J*. 2009;42(11):987–91.
15. Camilleri J, Cutajar A, Mallia B. Hydration characteristics of zirconium oxide replaced Portland cement for use as a root-end filling material. *Dent Mater* [Internet]. 2011;27(8):845–54. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dental.2011.04.011>
16. Slompo C, Peres-buzalaf C, Cristina K, Damante CA, Ordinola-zapata R, Antonio M. Experimental calcium silicate-based cement with and without zirconium oxide modulates fibroblasts viability. *Braz Dent J*. 2015;26:587–91.
17. Marciano MA, Costa RM, Camilleri J, Mondelli RFL, Guimarães BM, Duarte MAH. Assessment of color stability of white mineral trioxide aggregate angelus and bismuth oxide in contact with tooth structure. *J Endod*. 2014;40(8):1235–40.

18. Marciano MA, Duarte MAH, Camilleri J. Dental discoloration caused by bismuth oxide in MTA in the presence of sodium hypochlorite. *Clin Oral Investig*. 2015;19(9):2201–9.
19. Cutajar A, Mallia B, Abela S, Camilleri J. Replacement of radiopacifier in mineral trioxide aggregate; Characterization and determination of physical properties. *Dent Mater* [Internet]. 2011;27(9):879–91. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dental.2011.04.012>
20. Peng W, Liu W, Zhai W, Jiang L, Li L, Chang J, et al. Effect of tricalcium silicate on the proliferation and odontogenic differentiation of human dental pulp cells. *J Endod* [Internet]. 2011;37(9):1240–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2011.05.035>
21. Pérez Méndez M, Treviño Vázquez F, Vázquez Moreno T. Effect of Fluorine on Extracted Phases from Portland Cement Clinkers. *Br Ceram Proc Soc*. 1984;35:127–39.
22. Altun IA. Effect of CaF₂ and MgO on sintering of cement clinker. *Cem Concr Res*. 1999;29(11):1847–50.
23. Lin Q, Li Y, Lan X, Lu C, Chen Y XZ. The effect of CaF₂ on the preparation and in vitro bioactivity of tricalcium silicates. *Chin J Inorg Chem*. 2008;24:1937–42.
24. Xu ZZ, Lin Q, Li YB, Lan XH, Lu CH. An evaluation of CaF₂ doping tricalcium silicate as dental restorative materials. *Multi-Functional Mater Struct*. 2008;47:1339–42.
25. Lin Q, Li Y, Lan X, Lu C, Chen Y, Xu Z. The apatite formation ability of CaF₂ doping tricalcium silicates in simulated body fluid. *Biomed Mater*. 2009;4:045005.
26. Mineral Research Processing [Internet]. 2017. [cited 2017 Jun 12]. Available from: <http://www.tricalciumsilicate.com/en/about-us-abou>
27. Moreno E, Kresak M, Zahradnik R. Fluoridated hydroxyapatite solubility and caries formation. *Nature*. 1974;247(5435):64–5.

28. Yamamoto S, Han L, Noiri Y, Okiji T. Evaluation of the Ca ion release, pH and surface apatite formation of a prototype tricalcium silicate cement. *Int Endod J*. 2017;50:e73–82.
29. Yaltirik M, Ozbas H, Bilgic B, Issever H. Reactions of connective tissue to mineral trioxide. *J Endod*. 2004;30(2).
30. Angelus®. Angelus® Indústria de Produtos Odontológicos S/A [Internet]. [cited 2018 May 10]. Available from: <http://angelus.ind.br/>
31. Septodont [Internet]. [cited 2018 May 10]. Available from: <http://www.septodont.com.br>
32. Guimarães BM, Prati C, Antonio M, Duarte H, Bramante CM, Gandolfi MG. Physicochemical properties of calcium silicate-based formulations MTA Repair HP and MTA Vitacem abstract. *J Appl Oral Sci*. 2018;1–8.
33. Tomás-Catalá CJ, Collado-González M, García-Bernal D, Oñate-Sánchez RE, Forner L, Llena C, et al. Comparative analysis of the biological effects of the endodontic bioactive cements MTA-Angelus, MTA Repair HP and NeoMTA Plus on human dental pulp stem cells. *Int Endod J*. 2017;50:e63–72.
34. Zhu L, Yang J, Zhang J, Peng B. A comparative study of bioaggregate and ProRoot MTA on adhesion, migration, and attachment of human dental pulp cells. *J Endod* [Internet]. 2014;40(8):1118–23. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2013.12.028>
35. Tomás-Catalá CJ, Collado-González M, García-Bernal D, Oñate-Sánchez RE, Forner L, Llena C, et al. Biocompatibility of new pulp-capping materials NeoMTA Plus, MTA Repair HP, and Biodentine on human dental pulp stem cells. *J Endod* [Internet]. 2018 Jan;44(1):126–32. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0099239917309068>
36. 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* [Internet]. 2017;1–9. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/iej.12780>

37. Active Biosilicate Technology™ S. Biodentine™ scientific file. France: R&D Department; 2010.
38. Rodrigues EM, Gomes-Cornélio AL, Soares-Costa A, Salles LP, Velayutham M, Rossa-Junior C, et al. An assessment of the overexpression of BMP-2 in transfected human osteoblast cells stimulated by mineral trioxide aggregate and Biodentine. *Int Endod J*. 2017;50(2):1–10.
39. Grech L, Mallia B, Camilleri J. Investigation of the physical properties of tricalcium silicate cement-based root-end filling materials. *Dent Mater* [Internet]. 2013;29(2):e20–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dental.2012.11.007>
40. 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* [Internet]. 2017;25(4):374–80. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28877275%0A>
41. Benetti F, Olinta Í, Queiroz DA, Cosme- L, Conti LC, Helena S, et al. Cytotoxicity , biocompatibility and biomineralization of a new ready- for-use bioceramic repair material. *Braz Dent J*. 2019;30:325–32.
42. López-García S, Lozano A, García-Bernal D, Forner L, Llena C, Guerrero-Gironés J, et al. Biological effects of new hydraulic materials on human periodontal ligament stem cells. *J Clin Med*. 2019;8(8):1216.
43. Koutroulis A, Kuehne SA, Cooper PR, Camilleri J. The role of calcium ion release on biocompatibility and antimicrobial properties of hydraulic cements. *Sci Rep* [Internet]. 2019;9(1):19019. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-019-55288-3>
44. Cosme-Silva L, Gomes-Filho JE, Benetti F, Dal-Fabbro R, Sakai VT, Cintra LTA, et al. Biocompatibility and immunohistochemical evaluation of a new calcium silicate-based cement, Bio-C Pulpo. *Int Endod J*. 2019;52(5):689–700.

45. Cosme-Silva L, Benetti F, Dal-Fabbro R, Gomes Filho JE, Sakai VT, Cintra LTA, et al. Biocompatibility and biomineralization ability of Bio-C Pulpecto. A histological and immunohistochemical study. *Int J Paediatr Dent*. 2019;29(3):352–60.
46. American Dental Association. Specification No. 57 for endodontic filling materials. Chicago: ADA; 2000.
47. International Standard Organization (ISO). Dental root canal sealing materials: ISO-6876. 3rd ed. Geneve: ISO; 2012. p.9.
48. Grossman LI. Physical properties of root canal cements. *J Endod*. 1976;2(6):166–75.
49. Cavenago BC, Pereira TC, Duarte M a H, Ordinola-Zapata R, Marciano M a., Bramante CM, et al. Influence of powder-to-water ratio on radiopacity, setting time, pH, calcium ion release and a micro-CT volumetric solubility of white mineral trioxide aggregate. *Int Endod J*. 2014;47(2):120–6.
50. Bosso-Martelo R, Guerreiro-Tanomaru JM, Viapiana R, Berbert FLC, Duarte MAH, Tanomaru-Filho M. Physicochemical properties of calcium silicate cements associated with microparticulate and nanoparticulate radiopacifiers. *Clin Oral Investig*. 2016;20(1):83–90.
51. Cavenago BC, del Carpio-Perochena AE, Ordinola-Zapata R, Estrela C, Garlet GP, Tanomaru-Filho M, et al. Effect of using different vehicles on the physicochemical, antimicrobial, and biological properties of white mineral trioxide aggregate. *J Endod* [Internet]. 2017;1–8. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S009923991631069X>
52. Katz A, Kaffe I, Littner M, Tagger M, Tamse A. Densitometric measurement of radiopacity of gutta-percha cones and root dentin. *J Endod*. 1990;16(5):211–3.
53. McComb D, Smith DC. Comparison of physical properties of polycarboxylate-based and conventional root canal sealers. *J Endod* [Internet]. 1976;2:228–35. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1066423>

54. Imai Y, Komabayashi T. Properties of a new injectable type of root canal filling resin with adhesiveness to dentin. *J Endod*. 2003;29(1):20–3.
55. Laghios CD, Benson BW, Gutmann JL, Cutler CW. Comparative radiopacity of tetracalcium phosphate and other root-end filling materials. *Int Endod J*. 2000;33(4):311–5.
56. Gandolfi MG, Parrilli AP, Fini M, Prati C, Dummer PMH. 3D micro-CT analysis of the interface voids associated with Thermafil root fillings used with AH Plus or a flowable MTA sealer. *Int Endod J*. 2013;46(3):253–63.
57. Zicari F, Couthino E, De Munck J, Poitevin A, Scotti R, Naert I, et al. Bonding effectiveness and sealing ability of fiber-post bonding. *Dent Mater*. 2008;24(7):967–77.
58. Duarte MAH, Ordinola-Zapata R, Bernardes RA, Bramante CM, Bernardineli N, Garcia RB, et al. Influence of calcium hydroxide association on the physical properties of AH plus. *J Endod*. 2010;36(6):1048–51.
59. Tanomaru-Filho M, Torres FFE, Bosso-Martelo R, Chávez-Andrade GM, Bonetti-Filho I, Guerreiro-Tanomaru JM. A novel model for evaluating the flow of endodontic materials using micro-computed tomography. *J Endod* [Internet]. 2017;43(5):796–800. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0099239916310196>
60. Williamson AE, Dawson D V, Drake DR, Walton RE, Rivera EM. Effect of root canal filling/sealer systems on apical endotoxin penetration: a coronal leakage evaluation. *J Endod* [Internet]. 2005;31(8):599–604. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16044044>
61. Camilleri J, Mallia B. Evaluation of the dimensional changes of mineral trioxide aggregate sealer. *Int Endod J*. 2011;44(5):416–24.
62. Vasiliadis L, Kodonas K, Economides N, Gogos C, Stavrianos C. Short- and long-term sealing ability of Gutta-flow and AH-Plus using an ex vivo fluid transport model. *Int Endod J*. 2010;43:377–81.

63. Tay FR, Pashley DH, Rueggeberg FA, Loushine RJ, Weller RN. Calcium phosphate phase transformation produced by the interaction of the portland cement component of white mineral trioxide aggregate with a phosphate-containing fluid. *J Endod*. 2007;33(11):1347–51.
64. Reyes-Carmona JF, Felipe MS, Felipe WT. Biomineralization ability and interaction of mineral trioxide aggregate and white portland cement with dentin in a phosphate-containing fluid. *J Endod* [Internet]. 2009;35(5):731–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2009.02.011>
65. Weller RN, Tay KCY, Garrett L V., Mai S, Primus CM, Gutmann JL, et al. Microscopic appearance and apical seal of root canals filled with gutta-percha and ProRoot Endo Sealer after immersion in a phosphate-containing fluid. *Int Endod J*. 2008;41(11):977–86.
66. Viapiana R, Guerreiro-Tanomaru JM, Hungaro-Duarte MA, Tanomaru-Filho M, Camilleri J. Chemical characterization and bioactivity of epoxy resin and Portland cement-based sealers with niobium and zirconium oxide radiopacifiers. *Dent Mater* [Internet]. 2014;30(9):1005–20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dental.2014.05.007>
67. Mente J, Geletneky B, Ohle M, Koch MJ, Friedrich Ding PG, Wolff D, et al. Mineral trioxide aggregate or calcium hydroxide direct pulp capping: an analysis of the clinical treatment outcome. *J Endod* [Internet]. 2010;36(5):806–13. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2010.02.024>
68. Camilleri J. Investigation of Biodentine as dentine replacement material. *J Dent* [Internet]. 2013;41(7):600–10. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdent.2013.05.003>
69. Nowicka A, Lipski M, Parafiniuk M, Sporniak-Tutak K, Lichota D, Kosierkiewicz A, et al. Response of human dental pulp capped with biodentine and mineral trioxide aggregate. *J Endod*. 2013;39(6):743–7.
70. Kim JR, Nosrat A, Fouad AF. Interfacial characteristics of Biodentine and MTA with dentine in simulated body fluid. *J Dent* [Internet]. 2015;43(2):241–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdent.2014.11.004>

71. Xuereb M, Sorrentino F, Damidot D, Camilleri J. Development of novel tricalcium silicate-based endodontic cements with sintered radiopacifier phase. *Clin Oral Investig*. 2016;20(5):967–82.
72. Davies JE, Hosseini MM. Hystodynamics of endosseous wound healing. In: *International Bone Engineering Workshop; Bone Engineering*; Toronto; 1999. 14 p.
73. Bouillaguet S, Wataha JC, Lockwood PE, Galgano C, Golay A, Krejci I. Cytotoxicity and sealing properties of four classes of endodontic sealers evaluated by succinic dehydrogenase activity and confocal laser scanning microscopy. *Eur J Oral Sci*. 2004;112(2):182–7.
74. Koulaouzidou EA, Economides N, Panagiotis B, Geromichalos G, Papazisis K. In vitro evaluation of the cytotoxicity of ProRoot MTA and MTA Angelus. *J Oral Sci*. 2008;50(4):397–402.
75. Kushwaha M, Pan X, Holloway JA, Denry IL. Differentiation of human mesenchymal stem cells on niobium-doped fluorapatite glass-ceramics. *Dent Mater* [Internet]. 2012;28(3):252–60. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dental.2011.10.010>
76. Leonardo MR. *Endodontia: tratamento de canais radiculares*. 5th ed. São Paulo: Artes Médicas; 2008.
77. Schweikl H, Schmalz G A, Weinmann W. The induction of gene mutations and micronuclei by oxiranes and siloranes in mammalian cells in vitro. *J Dent Res*. 2004;1:17–21.
78. Scelza MZ, Linhares AB, Da Silva LE, Granjeiro JM, Alves GG. A multiparametric assay to compare the cytotoxicity of endodontic sealers with primary human osteoblasts. *Int Endod J*. 2012;45(1):12–8.
79. Gandolfi MG, Perut F, Ciapetti G, Mongiorgi R, Prati C. New portland cement-based materials for endodontics mixed with articaine solution: a study of cellular response. *J Endod*. 2008;34(1):39–44.
80. Salles LP, Ana L, Coutinho F, Herrera BS, Bao SN, Rossa-junior C, et al. Mineral trioxide aggregate – based endodontic sealer stimulates hydroxyapatite nucleation in human. *J Endod*. 2012;38(7):971–6.

81. Gomes-Cornélio AL, Rodrigues EM, Salles LP, Mestieri LB, Faria G, Guerreiro-Tanomaru JM, et al. Bioactivity of MTA Plus, Biodentine and an experimental calcium silicate-based cement on human osteoblast-like cells. *Int Endod J* [Internet]. 2017;50(1):39–47. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/iej.12589>

82. Mitsui N, Suzuki N, Maeno M, Yanagisawa M, Koyama Y, Otsuka K, et al. Optimal compressive force induces bone formation via increasing bone morphogenetic proteins production and decreasing their antagonists production by Saos-2 cells. *Life Sci*. 2006;78(23):2697–706.

83. Czekanska EM, Stoddart MJ, Richards RG, Hayes JS. In search of an osteoblast cell model for in vitro research. *Eur Cells Mater*. 2012;24:1–17.

84. 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.

85. Xuereb M, Vella P, Damidot D, Sammut C V., Camilleri J. In situ assessment of the setting of tricalcium silicate-based sealers using a dentin pressure model. *J Endod* [Internet]. 2015;41(1):111–24. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2014.09.015>

86. Lucas CPTP, Viapiana R, Bosso-Martelo R, Guerreiro-Tanomaru JM, Camilleri J, Tanomaru-Filho M. Physicochemical properties and dentin bond strength of a tricalcium silicate-based retrograde material. *Braz Dent J*. 2017;28(1):51–6.

87. Kuga MC, Faria G, Só MV, Keine KC, dos Santos AD, Duarte MAH, et al. The impact of the addition of iodoform on the physicochemical properties of an epoxy-based endodontic sealer. *J Appl Oral Sci* [Internet]. 2014;22(2):125–30. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3956404&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

88. Carvalho-Junior JR, Correr-Sobrinho L, Correr AB, Sinhorette MAC, Consani S, Sousa-Neto MD. Solubility and dimensional change after setting of root canal sealers: a proposal for smaller dimensions of test samples. *J Endod*. 2007;33(9):1110–6.

89. Parirokh M, Torabinejad M. Mineral Trioxide Aggregate: a comprehensive literature review-part i: chemical, physical, and antibacterial properties. *J Endod* [Internet]. 2010;36(1):16–27. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2009.09.006>

90. Koubi S, Elmerini H, Koubi G, Tassery H, Camps J. Quantitative evaluation by glucose diffusion of microleakage in aged calcium silicate-based open-sandwich restorations. *Int J Dent*. 2012; 2012: 105863.

91. Torres FFE, Zordan-Bronzel CL, Guerreiro-Tanomaru JM, Chávez-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.

92. McMichael GE, Primus CM, Opperman LA. Dentinal tubule penetration of tricalcium silicate sealers. *physiol behav* [Internet]. 2017;176(10):139–48. Available from: [file:///C:/Users/Carla Carolina/Desktop/Artigos para acrescentar na qualificação/The impact of birth weight on cardiovascular disease risk in the.pdf](file:///C:/Users/Carla%20Carolina/Desktop/Artigos%20para%20acrescentar%20na%20qualifica%C3%A7%C3%A3o/The%20impact%20of%20birth%20weight%20on%20cardiovascular%20disease%20risk%20in%20the.pdf)

93. Gandolfi MG, Parrilli AP, Fini M, Prati C, Dummer PMH. 3D micro-CT analysis of the interface voids associated with Thermafil root fillings used with AH Plus or a flowable MTA sealer. *Int Endod J*. 2013;46(3):253–63.

94. 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(Special Issue 2):e120–36.

95. Segato RAB, Pucinelli CM, Ferreira DCA, Daldegan A de R, da Silva RS, Nelson-Filho P, et al. Physicochemical properties of root canal filling materials for primary teeth. *Braz Dent J*. 2016;27(2):196–201.

96. Pinto DN, de Sousa DL, Araújo RBR, Moreira-Neto JJS. Eighteen-month clinical and radiographic evaluation of two root canal-filling materials in primary teeth with pulp necrosis secondary to trauma. *Dent Traumatol.* 2011;27(3):221–4.
97. Cassol DV, Duarte ML, Pintor AVB, Barcelos R, Primo LG. Iodoform Vs calcium hydroxide/zinc oxide based pastes: 12-month findings of a randomized controlled trial. *Braz Oral Res.* 2019;33:1–10.
98. McMichen FRS, Pearson G, Rahbaran S, Gulabivala K. A comparative study of selected physical properties of five root-canal sealers. *Int Endod J.* 2003;36(9):629–35.
99. Aragão AC, Pintor AVB, Marceliano-Alves M, Primo LG, Silva AS de S, Lopes RT, et al. Root canal obturation materials and filling techniques for primary teeth: In vitro evaluation in polymer-based prototyped incisors. *Int J Paediatr Dent.* 2020;30(3):381–9.
100. Tek V, Türker SA. A micro-computed tomography evaluation of voids using calcium silicate-based materials in teeth with simulated internal root resorption. *Restor Dent Endod.* 2020;45(1):1–8.
101. Zhou HM, Shen Y, Zheng W, Li L, Zheng YF, Haapasalo M. Physical properties of 5 root canal sealers. *J Endod* [Internet]. 2013;39(10):1281–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2013.06.012>
102. Duarte MAH, Demarchi ACCO, Yamashita JC, Kuga MC, Fraga SC. pH and calcium ion release of 2 root-end filling materials. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2003;95(3):345–7.
103. Gandolfi MG, Taddei P, Siboni F, Modena E, Ginebra MP, Prati C. Fluoride-containing nanoporous calcium-silicate MTA cements for endodontics and oral surgery: early fluorapatite formation in a phosphate- containing solution. *Int Endod J.* 2011;44(10):938–49.
104. Lucas CTPP, Viapiana R, Bosso-Martelo R, Guerreiro-Tanomaru JM, Camilleri J, Tanomaru-Filho M. Physicochemical properties and dentin bond strength of a tricalcium silicate-based retrograde material. *Braz Dent J.* 2017;28:51–6.

105. Sarkar NK, Caicedo R, Ritwik P, Moiseyeva R, Kawashima I. Physicochemical basis of the biologic properties of mineral trioxide aggregate. *J Endod* [Internet]. 2005;31(2):97–100. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15671817>
106. Yilmaz Z, Dogan AL, Ozdemir HO, Serper A. Evaluation of the cytotoxicity of different root canal sealers on L929 cell line by MTT assay. *Dent Mater J*. 2012;31(6):1028–32.
107. Daltoé MO, Paula-Silva FWG, Faccioli LH, Gatón-Hernández PM, De Rossi A, Silva LAB. Expression of mineralization markers during pulp response to biodentine and mineral trioxide aggregate. *J Endod*. 2016;42(4):596–603.
108. Hesse L, Johnson KA, Anderson HC, Narisawa S, Sali A, Goding JW, et al. Tissue-nonspecific alkaline phosphatase and plasma cell membrane glycoprotein-1 are central antagonistic regulators of bone mineralization. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(14):9445–9.
109. Ferreira CMA, Sassone LM, Gonçalves AS, Carvalho JJ De, Tomás-catalá CJ, García-bernal D, et al. Physicochemical , cytotoxicity and in vivo biocompatibility of a high- plasticity calcium-silicate based material. *Sci Rep*. 2019;8(9):1–11.