

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 25/03/2022.



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



Evelin Carine Alves Silva

**Reação tecidual e potencial bioativo de cimentos endodônticos biocerâmicos
em subcutâneo de ratos**

Araraquara

2020



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



Evelin Carine Alves Silva

**Reação tecidual e potencial bioativo de cimentos endodônticos biocerâmicos
em subcutâneo de ratos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia - Área de Endodontia, da Faculdade de Odontologia de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista - UNESP, para obtenção do Título de Mestre em Odontologia - Área de Endodontia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Juliane Maria Guerreiro Tanomaru

Coorientador: Prof. Dr. Paulo Sérgio Cerri

Araraquara

2020

Silva, Evelin Carine Alves

Reação tecidual e potencial bioativo de cimentos endodônticos biocerâmicos em subcutâneo de ratos / Evelin Carine Alves Silva.-- Araraquara: [s.n.], 2020
67 f.; 30 cm.

Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia

Orientadora: Profa. Dra. Juliane Maria Guerreiro Tanomaru

Coorientador: Prof. Dr. Paulo Sérgio Cerri

1. Testes de materiais 2. Endodontia 3. Imuno-histoquímica I. Título

Evelin Carine Alves Silva

**Reação Tecidual e potencial bioativo de cimentos endodônticos biocerâmicos
em subcutâneo de ratos**

Comissão Julgadora

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Odontologia

Presidente e orientador: Prof^a. Dr^a. Juliane Maria Guerreiro Tanomaru

2^o Examinador: Prof^o. Dr^o. Guilherme Ferreira da Silva

3^o Examinador: Prof^a. Dr^a. Ticiania Sidorenko de Oliveira Capote

Araraquara, 19 de março de 2020

DADOS CURRICULARES

Evelin Carine Alves Silva

NASCIMENTO: 01 de maio de 1991-Porto Velho-Rondônia

FILIAÇÃO: Izabel Cristina Alves Pereira
Eduardo Romagna Pereira

2009-2013

Graduação em Odontologia pela Faculdade de Macapá-FAMA, Macapá-AP.

2014-2015

Especialização em Endodontia pela Faculdade Avantis-GOE, Macapá-AP.

2018-2020

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

ASSOCIAÇÕES SBPqO – Sociedade Brasileira de Pesquisa em Odontologia.

AGRADECIMENTOS

Um sonho sonhado sozinho é apenas um sonho, um sonho sonhado junto é realidade. Frase ensinada pela minha mãe há seis anos que me acompanha todos os dias e representa minha gratidão por mais essa fase concluída.

Agradeço ao meu Deus, autor da vida, que me possibilitou chegar até aqui, pela proteção diária, cuidado e todas as bênçãos incontáveis.

Ao meu amado esposo, companheiro e parceiro de vida. Obrigada pelo apoio incondicional, pelos sacrifícios, pela compreensão, ajuda e torcida em todos os momentos. A jornada se tornou mais leve com você ao meu lado.

À minha mãe (in memoriam) por toda educação, amor e dedicação devotada a mim ao longo dos meus 24 anos. Mesmo não estando presente, você é parte de mim e minha eterna saudade.

À minha irmã (minha eterna companheira) e ao meu padrasto pelo apoio, pelas orações, compreensão, torcida e amor de todos os dias. Se cheguei até aqui, é porque tive vocês durante o caminho.

À minha sogra por toda amizade, carinho, amor e torcida. Ao meu sogro e meus cunhados pelo apoio e por me ouvirem falar dia e noite sobre os meus ratos.

Aos meus amigos de Pós-Graduação que foram companhia, apoio e alegria. Obrigada Luiza, Mariana, Cristiane, Camila, Igma, Jéssica, Kénia e Gissele.

Aos amigos da Histologia e Embriologia que me receberam como agregada com tanto carinho e foram companhias ao longo do dia. Obrigada Camila, Fabiane, Renata e Mateus. Em especial, Mateus e Camila, obrigada pelos ensinamentos e socorro.

Ao técnico Pedro Simões, muito obrigada por toda ajuda, todo ensinamento e paciência nas atividades do laboratório.

Ao Prof. Dr. Paulo Sérgio Cerri, obrigada por todos os ensinamentos, pela paciência, pelas correções e por me ensinar a desvendar a Histologia.

Ao Prof. Dr. Mário Tanomaru-Filho, pela oportunidade, pelos ensinamentos, correções, conselhos e apoio durante todo o decorrer do trabalho.

À Prof. Dr^a Juliane Maria Guerreiro-Tanomaru, minha orientadora, o meu muito obrigada pela confiança devotada em mim, pela carta de orientação concedida lá no início, por todas as cirurgias, ensinamentos, apoio, risadas e paciência. Sem sua orientação, nenhum resultado teria sido alcançado.

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 2017/14305-9) pelo apoio financeiro essencial para realização dessa pesquisa.

Silva ECA. Reação tecidual e potencial bioativo de cimentos endodônticos biocerâmicos em subcutâneo de ratos. [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2020.

RESUMO

Cimentos à base de silicatos de cálcio são desenvolvidos para obturação de canais radiculares. **Publicação 1:** Este estudo avaliou propriedades biológicas dos cimentos experimentais (CE-1 e CE-2) compostos por silicatos de cálcio e com adição de hipoclorito de cálcio (CE-2), em comparação ao AH Plus (AHP) e TotalFill BC Sealer (TBC). A reação tecidual provocada pelos materiais no subcutâneo de ratos foi avaliada por meio da implantação de tubos de polietileno nos períodos de 7, 15, 30 e 60 dias. Cortes foram corados com hematoxilina e eosina (HE) para análises morfológica e do número de células inflamatórias/mm²(CI) e cortes foram utilizados para detecção de interleucina-6 (IL-6) e osteocalcina. Método de von Kossa foi realizado para identificação de depósitos de cálcio. Os dados foram submetidos aos testes ANOVA e Tukey, com significância de 5%. Aos 7 dias, CE-1, CE-2 e AHP apresentaram maior número de CI. AHP apresentou maior marcação para IL-6. Após 15 dias não houve diferença entre CE-2 e o grupo controle para IL-6. Aos 30 dias, AHP exibiu maior número de CI ($p < 0,0001$) e CE-2 e o grupo controle os menores valores de CI e IL-6. Após 60 dias CE-2, TBC e controle apresentaram os menores valores ($p < 0,05$). Os cimentos CE-1, CE-2 e TBC apresentaram estruturas positivas ao método von Kossa em todos os períodos observados e marcação positiva para osteocalcina. CE-2 apresentou quantidade de células positivas superior em todos os períodos quando comparado aos cimentos CE-1 e TBC ($p < 0,0001$). O cimento AH Plus e o grupo controle não exibiram marcação positiva em nenhum período analisado. Conclui-se que CE-1, CE-2 e TBC apresentam biocompatibilidade e potencial bioativo. **Publicação 2:** Bio-C Sealer e Sealer Plus BC são novos cimentos endodônticos biocerâmicos. O objetivo do estudo foi avaliar a reação tecidual e potencial bioativo dos cimentos Bio-C Sealer (BC) e Sealer Plus BC (SPBC) comparado ao AH Plus (AHP) em subcutâneo de ratos. A reação tecidual foi avaliada por meio da implantação de tubos de polietileno preenchidos com os materiais e vazios como grupo controle. Após 7, 15, 30 e 60 dias tubos e tecidos adjacentes foram removidos e realizada a contagem das células inflamatórias/mm²(CI), imunomarcação de interleucina-6 (IL-6), osteocalcina (OC) e von Kossa para identificação de depósitos de cálcio. Os dados foram submetidos aos testes ANOVA e Tukey, com significância de 5%. Aos 7 dias, SPBC apresentou menor CI que BC ($p = 0,0225$). AHP exibiu maior marcação para IL-6 ($p < 0,0001$). Após 15 dias, BC apresentou menor CI e IL-6 quando comparado aos demais materiais. Aos 30 dias, SPBC e AHP apresentaram maiores valores para CI ($p = 0,0791$). Após 60 dias os cimentos à base de silicato de cálcio não apresentaram diferença estatística entre si ($p = 0,8949$) tanto para CI quanto para IL-6, com valores inferiores ao AHP. Os materiais apresentaram estruturas positivas ao von Kossa. BC exibiu marcação para osteocalcina em todos os períodos. SPBC não exibiu marcação aos 7 dias, aos 60 dias foi inferior ao BC ($p = 0,076$). AH Plus e grupo controle não exibiram marcação para osteocalcina. Os cimentos Bio-C Sealer e Sealer Plus BC são biocompatíveis, e apresentam potencial bioativo.

Palavras Chaves: Teste de materiais. Endodontia. Imuno-histoquímica.

Silva, ECA. Tissue reaction and bioactive potential of subcutaneous bioceramic endodontic sealers in rats [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2019.

ABSTRACT

Calcium based silicate sealers are developed for filling root canals. **Publication 1:** This study evaluated biological properties of experimental sealers (CE-1 and CE-2) composed of calcium silicates and with the addition of calcium hypochlorite (CE-2), compared to AH Plus (AHP) and TotalFill BC Sealer (TBC). Methodology: The tissue reaction caused by the materials in the subcutaneous of rats was evaluated through the implantation of polyethylene tubes in the periods of 7, 15, 30 and 60 days. Cuts were stained with hematoxylin and eosin (HE) for morphological analysis and the number of inflammatory cells / mm² (IC) and cuts were used to detect interleukin-6 (IL-6) and osteocalcin. Von Kossa's method was used to identify calcium deposits. The data were submitted to ANOVA and Tukey tests, with a significance of 5%. Results: At 7 days, CE-1, CE-2 and AHP had a higher number of IC. AHP showed higher marking for IL-6. After 15 days there was no difference between CE-2 and the control group for IL-6. At 30 days, AHP exhibited the highest number of IC ($p < 0.0001$), and CE-2 and the control group had the lowest IC and IL-6 values. After 60 days CE-2, TBC and control showed the lowest values ($p < 0.05$). The CE-1, CE-2 and TBC sealers presented positive structures to the von Kossa method in all observed periods and positive marking for osteocalcin. CE-2 showed a higher number of positive cells in all periods when compared to CE-1 and TBC sealers ($p < 0.0001$). The AH Plus sealer and the control group did not show positive marking in any of the analyzed period. Conclusions: It is concluded that CE-1, CE-2 and TBC have biocompatibility and bioactive potential. **Publication 2:** Bio-C Sealer and Sealer Plus BC are new ready-to-use bioceramic endodontic sealers. The aim of the study was to evaluate the tissue reaction and bioactive potential of Bio-C Sealer (BC) and Sealer Plus BC (SPBC) sealers compared to AH Plus (AHP) in subcutaneous rats. Methods: The tissue reaction was evaluated by implanting polyethylene tubes filled with the materials and an empty one as a control group. After 7, 15, 30 and 60 days, adjacent tubes and tissues were removed and inflammatory cell counts / mm² (IC), immunohistochemical reactions for interleukin-6 (IL-6), for osteocalcin (OC), and von Kossa technique to identify deposits of calcium were performed of calcium. The data were submitted to ANOVA and Tukey tests, with a significance of 5%. Results: At 7 days, SPBC presented a lower IC than BC ($p = 0.0225$). AHP exhibited greater marking for IL-6 ($p < 0.0001$). After 15 days, BC showed lower IC and IL-6-immunopositive cells when compared to other materials. At 30 days, SPBC and AHP showed higher values for IC ($p = 0.0791$). After 60 days, calcium silicate cements did not show statistical difference between themselves ($p = 0.8949$) for both IC and IL-6, with values lower than AHP. The materials showed positive structures to von Kossa. BC exhibited osteocalcin marking in all periods. SPBC showed no marking at 7 days, at 60 days it was lower than BC ($p = 0.076$). AH Plus and the control group did not exhibit osteocalcin marking. Conclusions: Bio-C Sealer and Sealer Plus BC sealers are biocompatible and have bioactive potential.

Keywords: Materials testing. Endodontics. Immunohistochemistry.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 PROPOSIÇÃO	13
2.1 Objetivo Geral	13
2.2 Objetivos Específicos	13
3 PUBLICAÇÕES.....	14
3.1 Publicação 1.....	14
3.2 Publicação 2.....	38
4 DISCUSSÃO	55
5 CONCLUSÃO	57
REFERÊNCIAS	58
APÊNDICE A	61
ANEXO A	66

1 INTRODUÇÃO

Cimentos à base de silicato de cálcio (SC) são utilizados por apresentarem biocompatibilidade¹, estabilidade dimensional, pH alcalino e potencial bioativo². A bioatividade dos cimentos à base de silicato tricálcico ocorre em função do processo de hidratação do silicato de cálcio³, resultando na capacidade de formação de hidroxiapatita⁴⁻⁶.

O MTA (Mineral Trióxido Agregado) foi proposto para tratamento de perfurações, capeamento pulpar, obturação retrógrada, pulpotomia e tratamento de dentes com rizogênese incompleta⁷. A partir de modificações na composição, cimentos endodônticos de silicatos de cálcio foram desenvolvidos para obturação de canal radicular. O EndoSequence BC sealer é um exemplo de cimento endodôntico disponibilizado em seringa e pronto para uso, composto por silicato tricálcico, silicato dicálcico, hidróxido de cálcio, óxido de zircônio como agente radiopacificador e agentes espessantes, apresentando propriedades físicas e químicas de acordo com as normas ISO 6876/2001 e biocompatibilidade⁸⁻⁹. TotalFill BC Sealer (TBC; KFG FKG Dentaire AS, Suíça) é um cimento composto por silicatos de cálcio, hidróxido de cálcio, óxido de zircônio, óxido de tântalo e agentes espessantes, e apresenta citocompatibilidade¹⁰.

Mais recentemente, o cimento à base de silicato de cálcio pronto para uso Bio-C Sealer (Angelus, Brasil) foi desenvolvido, apresentando pH alcalino e radiopacidade¹⁰⁻¹¹. Outro cimento pronto para uso, Sealer Plus BC (MK Life, Brasil) é composto por silicato dicálcico, silicato tricálcico, entre outros componentes, e apresenta pH alcalino, liberação de íons de cálcio e adequados tempo de presa e radiopacidade¹².

Rodriguez-Lozano *et al.*¹⁰ (2017) avaliaram a citotoxicidade de três cimentos endodônticos (TotalFill BC Sealer, AH Plus e MTA Fillapex) por meio da análise em células mesenquimais, e concluíram que o cimento TotalFill BC Sealer foi o mais citocompatível.

Zordan-Bronzel *et al.*¹¹ (2019) avaliaram propriedades físicas e químicas de um novo material à base de silicato de cálcio. O cimento Bio-C Sealer demonstrou tempo de presa, pH e radiopacidade adequados, apesar de alta solubilidade, porém, com baixa alteração volumétrica.

Considerando-se os componentes de cimentos à base de silicatos de cálcio, dois Cimentos experimentais (CE-1 e CE-2) foram desenvolvidos na Faculdade de Odontologia de Araraquara, compostos por silicato tricálcico, silicato dicálcico, fosfato de cálcio monobásico, hidróxido de cálcio, óxido de zircônio, tungstato de cálcio e polietilenoglicol 400 como veículo. Esse material experimental (CE-1) demonstrou citocompatibilidade, potencial bioativo por testes de atividade de fosfatase alcalina e de formação de nódulos mineralizados, além de ação antimicrobiana sobre *E. faecalis* e *C. albicans*, confirmando o potencial de uso no tratamento endodôntico¹³. Óxido de zircônio e tungstato de cálcio são radiopacificadores com adequadas propriedades físicas e biológicas^{3,13}. O veículo Polietilenoglicol 400 tem sido usado na composição de medicações intracanal à base de hidróxido de cálcio¹³. Quando associado aos cimentos à base de SC, o polietilenoglicol melhora suas propriedades físico-químicas^{8,13}. A adição de componentes antimicrobianos aos cimentos endodônticos pode contribuir para eliminar microorganismos que sobreviveram ao preparo biomecânico¹⁴. Com o objetivo de proporcionar eficiente atividade antimicrobiana outro cimento experimental foi desenvolvido a partir do CE-1, adicionando o antimicrobiano hipoclorito de cálcio a 2 %, apresentando eficácia contra *E. Faecalis*, e capacidade de dissolução de tecido orgânico e biocompatibilidade¹⁵.

Andrade *et al.*¹⁶ (2018) estudaram em subcutâneo de ratos a resposta tecidual da associação de 80% de cimento de silicato tricálcico puro (TSC) e 20% de ZrO₂, em comparação ao MTA Plus. Os autores concluíram que os dois materiais mostraram redução da reação inflamatória e de Interleucina-6 (IL-6), sugerindo que são biocompatíveis.

O AH Plus é um cimento endodôntico à base de resina epóxi com óxido de zircônio e tungstato de cálcio que possui maior radiopacidade do que o TotalFill BC Sealer¹¹. Apesar da reação inicial promovida pelo AH Plus, a reação inflamatória diminui com o tempo sendo então considerado biocompatível, porém com base na tentativa de causar dano tecidual inicial, foi utilizado como controle positivo em estudos em ratos subcutâneos⁸⁻¹⁰.

A biocompatibilidade e bioatividade podem ser avaliadas em tecido subcutâneo de ratos. Um material é considerado biocompatível quando sua resposta inflamatória apresenta redução com o decorrer do tempo¹⁷⁻¹⁸. A biocompatibilidade

de um cimento endodôntico depende diretamente de seus componentes, de seu tempo de presa e de sua solubilidade¹⁹.

Fonseca *et al.*¹⁹ (2016) avaliaram o processo inflamatório e expressão de IL-6 do MTA e Biodentine em tecido subcutâneo de rato e concluíram que estes materiais à base de silicato de cálcio apresentam biocompatibilidade. Silva *et al.*²⁰ (2017) avaliaram a influência da adição de óxido de zircônio e óxido de nióbio (radiopacificadores) em um cimento experimental à base de silicato de cálcio em tecido subcutâneo de rato e demonstraram biocompatibilidade para os materiais.

A relação entre interleucina-6 (IL-6) e a reação inflamatória são amplamente estudadas em subcutâneos de ratos com materiais a base de silicato de cálcio^{4,18,19}. A IL-6 atua como mediadora da resposta do hospedeiro frente a uma agressão, podendo inclusive estar relacionada com a inflamação da polpa dentária^{4,8}.

A interleucina-6 é definida como citocina pró e anti-inflamatória, desenvolvida durante o processo inflamatório, sendo sintetizada em decorrência de estímulos como traumas e infecções por células como fibroblastos, macrófagos e neutrófilos²¹.

Para avaliar a formação de tecido calcificado, o método von Kossa é utilizado baseado na avaliação da precipitação de cálcio sobre o material. A formação de tecidos mineralizados é comumente avaliada por imuno-histoquímica, sendo essa técnica utilizada para detectar proteínas como a osteocalcina, peptídeo este secretado pelos osteoblastos, durante a formação óssea⁵.

Os estudos realizados de forma *in vivo* e *in vitro* são úteis na avaliação de novos materiais, pois orientam seus protocolos e indicações²²⁻²⁴. O estudo em tecido conjuntivo subcutâneo de ratos é uma metodologia controlada, recomendado pela *Fédération Dentaire Internationale e International Standard-ISO*, como preliminares e indicativos para comparar o grau de irritabilidade dos materiais odontológicos^{3,10}. A utilização de tubos de polietileno ocorre com o intuito de evitar a disseminação do material e simular o canal radicular²³.

Diante do exposto, tornam-se relevantes os estudos que avaliem as propriedades biológicas dos novos materiais de silicatos de cálcio.

5 CONCLUSÃO

Os cimentos Experimental-1, Experimental-2 TotalFill BC, Bio- C Sealer e Sealer Plus BC apresentaram redução significativa de células inflamatórias aos 60 dias, sendo considerados materiais biocompatíveis. Os materiais apresentam potencial bioativo, exibindo estruturas com presença de cálcio, calcita amorfa e positividade para osteocalcina.

REFERÊNCIAS*

1. Candeiro GTM, Correia GC, Hungaro-Duarte MA, Ribeiro-Siqueira DC, Gavini G. Evaluation of radiopacity, pH, release of calcium ions, and flow of a bioceramic root canal sealer. *J Endod.* 2012; 38 (6): 842-45.
2. Trope M, Bunes ALF, Debelian G. Root filling materials and techniques: bioceramics a new hope? *Endodontic Topics.* 2015; 32 (1): 86–96.
3. Khalil I, Naaman A, Camilleri J. Properties of tricalcium silicate sealers. *J Endod.* 2016; 42 (10): 1529-135.
4. 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.* 2011; 45 (4): 326-336.
5. Haddad AL, Aziz AZ. Bioceramic-based root canal sealers: a review. *Int J Biomater.* 2016; 2016: 9753210.
6. Camilleri J. Characterization and hydration kinetics of tricalcium silicate cement for use as a dental biomaterial. *Dental materials.* 2011; 27 (8): 836–844.
7. Parirokh M, Torabinejad M. Mineral Trioxide Aggregate: A comprehensive literature review—Part I: chemical, physical, and antibacterial properties. *J Endod.* 2010; 36 (2): 16-27.
8. Zhou H, Shen Y, Zheng W, Li L, Zheng Y.; Haapasalo M. Physical properties of 5 root canal sealers. *J Endod.* 2013; 39(10): 1281-1286.
9. Zhou H, Du T, Shen Y, Wang Z, Zeng Y, Haapasalo M. In vitro cytotoxicity of calcium silicate–containing endodontic sealers. *J Endod.* 2015; 41(1): 56-61.
10. Rodriguez-Lozano RFJ, Garcia- Bernal D, Onate-Sanchez RE, Ortolani-Seltenerich PS, Forner L, MORALEDA JM. Evaluation of cytocompatibility of calcium silicatebased endodontic sealers and their effects on the biological responses of mesenchymal dental stem cells. *Int Endod J.* 2017; 50 (1): 67–76.
11. Zordan-Bronzel CL, Torres FF, Tanomaru-Filho M, Chávez-Andrade GM, Bosso-Martelo R, Guerreiro-Tanomaru JM Evaluation of physicochemical properties of a new calcium silicate–based sealer, bio-C sealer. *J Endod.* 2019; 45(10): 1248–1252.

* De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver. Disponível no site da Biblioteca: <http://www.foar.unesp.br/#biblioteca/manual>.

12. Benetti F, De Azevedo Queiroz I, Conti LC, Azuma MM, Oliveira SH, Cintra LT. Cytotoxicity and biocompatibility of a new bioceramic endodontic sealer containing calcium hydroxide. *Braz. Oral Res.* 2019; 33, 1-9.
13. Zordan-Bronzel CL, Tanomaru-Filho M, Rodrigues EM, Chávez-Andrade GM, Faria G, Guerreiro-Tanomaru JM. Cytocompatibility, bioactive potential and antimicrobial activity of an experimental calcium silicate-based endodontic sealer. *Int Endod J* 2019; 52 (7): 979-986.
14. Mittag KG, Eibner C, Zabel L, Wrbas KT, Kielbassa AM. The influence of chlorhexidine on the antibacterial effects of MTA. *Quintessence International* 2012; 43 (10): 901-906
15. Bello Y, Mezzalana G, Jaguszewski LA *et al.* Effectiveness of calcium and sodium hypochlorite in association with reciprocating instrumentation on decontamination of root canals infected with *Enterococcus faecalis*. *Australian Endod J* 2018; 45 (1): 95-97.
16. Andrade A, Silva GF, Camilleri J, Cerri E, Guerreiro-Tanomaru JM, Cerri PS, Tanomaru-Filho M. Tissue Response and Immunoexpression of interleukin 6 promoted by tricalcium silicate-based repair materials after subcutaneous implantation in rats. *J Endod.* 2018; 44 (3): 458–4639.
17. Pinheiro L, Iglesias J, Bojink D, Mestieri LB, Kopper PM, Figueiredo JA, Grecca F. Cell viability and tissue reaction of neoMTA Plus: An in vitro and in vivo study. *J Endod.* 2018; 44 (7): 1140–1145
18. Siqueira- Junior J, Lopes HP. *Endodontia: biologia e técnica*. 3. ed. São Paulo: Ed: Guanabara Koogan; 2010.
19. Fonseca TS, Da Silva GF, Tanomaru-Filho M, Sasso-Cerri E, Guerreiro-Tanomaru JM, Cerri PS. In vivo evaluation of the inflammatory response and IL-6 immunoexpression promoted by Biodentine and MTA Angelus. *Int Endod J.* 2016; 49(2): 145-53.
20. Silva GF, Guerreiro-Tanomaru JM, Fonseca TS, Bernardi MIB, Sasso-Cerri E, Tanomaru-Filho M, Cerri PS. Zirconium oxide and niobium oxide used as radiopacifiers in a calcium silicate-based material stimulate fibroblast proliferation and collagen formation. *Int End Journal* 2017; 50 (2): 95-108.
21. Azuma M, Samuel J, Gomes-Filho E, Dezan-Junior E, Cintra L. The role of IL-6 on apical periodontitis: a systematic review. *Int Endod J.* 2014; 47 (7): 615-21.

22. Khalil WA, Abunasef SK. Can mineral trioxide aggregate and nanoparticulate endoSequence root repair material produce injurious Effects to Rat Subcutaneous Tissues? J Endod. 2015; 41 (7): 1151–1156.
23. Silva GF, Tanomaru-Filho M, Bernardi MI, Guerreiro-Tanomaru JM, Cerri PS. Niobium pentoxide as radiopacifying agent of calcium silicate-based material: evaluation of physicochemical and biological properties. Clin Oral Investig; 2015; 19: 2015-25.
24. de Oliveira PA, de Pizzol-Júnior JP, Longhini R, Sasso-Cerri E, Cerri PS. Cimetidine reduces interleukin-6, matrix metalloproteinases-1 and -9 immunoexpression in the gingival mucosa of rat molars with induced periodontal disease. J Periodontol. 2017; 88(1): 100-11.
25. Camps J, Jeanneau C, El Ayachi I, Laurent P. Bioactivity of a calcium silicate-based endodontic cement (BioRoot RCS): interactions with human periodontal ligament cells in vitro. J Endod. 2015; 41(9): 1469-73.
26. Gandolfi MG, Taddei P, Tinti A, Prati C. Apatite-forming ability (bioactivity) of ProRoot MTA. Int Endod J. 2010; 43(10): 917-29.
27. Gandolfi MG, Siboni F, Prati C. Chemical-physical properties of TheraCal, a novel light-curable MTA-like material for pulp capping. Int Endod J. 2012; 45(6): 571-9
28. Rincon M. Special issue on interleukin-6 (IL-6). Int J Biol Sci. 2012; 8(9): 1225-6.
29. Niu L, Jiao K, Wang T, Zhang, Camilleri J et al. A review of the bioactivity of hydraulic calcium silicate cements. Journal of dentistry. 2014; 42 (5): 517-533.
30. Carvalho CN, Graziotin-Soares R, Candeiro GT *et al.* Micro Push-out Bond Strength and Bioactivity Analysis of a Bioceramic Root Canal Sealer. Iranian Endod J 2017;12 (3): 343-348.