

Gabriela Santos Felipe

**CAPACIDADE DE PROMOVER BIOMINERALIZAÇÃO DE  
DIFERENTES BIOAGREGADOS: ANÁLISE *IN VIVO***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Universidade Federal de Santa Catarina, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia. Área de concentração: Endodontia.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Antunes Bortoluzzi  
Coorientadora: Profa. Dra. Mara Cristina Santos Felipe

**Florianópolis**  
2012

Catálogo na fonte pela Biblioteca Universitária  
da  
Universidade Federal de Santa Catarina

F315c Felipe, Gabriela Santos  
Capacidade de promover biomineralização de diferentes  
bioagregados [dissertação] : análise in vivo / Gabriela  
Santos Felipe ; orientador, Eduardo Antunes Bortoluzzi. -  
Florianópolis, SC, 2012.  
64 p.: il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Catarina, Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-  
Graduação em Odontologia.

Inclui referências

1. Odontologia. 2. Cimentos dentários. 3. Dentina. I.  
Bortoluzzi, Eduardo Antunes. II. Universidade Federal de  
Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Odontologia.  
III. Título.

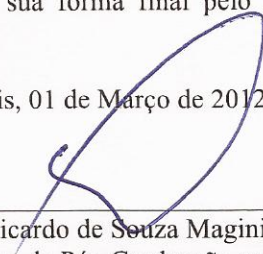
CDU 616.314

Gabriela Santos Felipe


**CAPACIDADE DE PROMOVER BIOMINERALIZAÇÃO DE  
DIFERENTES BIOAGREGADOS: ANÁLISE *IN VIVO***

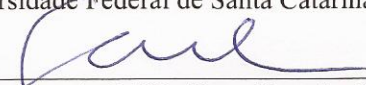
Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de “Mestre” e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia.

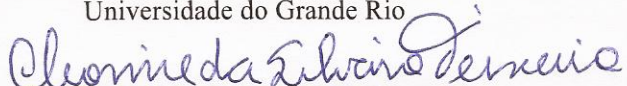
Florianópolis, 01 de Março de 2012.

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Ricardo de Souza Magini  
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Odontologia

**Banca Examinadora:**

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Eduardo Antunes Bortoluzzi  
Orientador  
Universidade Federal de Santa Catarina

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Gustavo André De Deus Carneiro Vianna  
Universidade Federal Fluminense  
Universidade do Grande Rio

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Cleonice da Silveira Teixeira  
Universidade Federal de Santa Catarina



À toda minha família, que me ensina a cada dia  
a construção dos valores essenciais desta vida.  
Este trabalho tem dedicação especial aos meus pais;  
ao seu amor, atenção e dedicação.



## AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

*A Deus, pelo dom da (maravilhosa) vida,  
por ter me dado a oportunidade de existir  
e por nos fazer enxergar todos os dias  
o quanto vale a pena estar aqui e fazer acontecer.*

*Aos MEUS PAPIS que são minha fonte de  
inspiração constante. Um agradecimento mais do  
que especial àqueles que são meu maior exemplo de  
dedicação, inteligência, força de vontade,  
por demonstrarem a cada dia o amor ao que  
fazem dentro e fora do ambiente de trabalho. Sem  
palavras para agradecê-los, obrigada por toda  
disponibilidade para me ajudar.  
Quando eu crescer quero ser igualzinha a vocês!!!*

*Ao meu orientador, Prof. Dr. Eduardo Antunes  
Bortoluzzi, por todos os ensinamentos e pela  
dedicação. Por sua admirável capacidade,  
sabedoria e experiência. Um grande exemplo de  
“sede de saber”. Também por sua paciência de  
sempre esperar aqueles diazinhos além do prazo  
estipulado hehehe Obrigada pelas frequentes  
novas ideias e estimulação constante.  
Que tenhas cada vez mais sucesso!*





## AGRADECIMENTOS

À minha co-orientadora, **Profa. Dra. Mara Cristina Santos Felipe**, *minha mamí*, pelo espelho que és para mim. Pelo exemplo de dedicação, empenho e pelo maior exemplo de força que já tive em minha vida. Teu *docinho de jirimum* te ama muito!

Ao **Prof. Dr. Wilson Tadeu Felipe**, *meu papi*, primeiramente por ser o melhor dos melhores pais do mundo!! Pela demonstração de interesse e carinho pelo trabalho, que incentivam a todos. Pelo grande exemplo de disciplina, organização e dedicação. Quero ser sempre a *Pitítituitilita do pai*!

Ao meu irmão **André**, que é uma das pessoas mais sabedoras que eu conheço. Pelo exemplo de inteligência e caráter (e por que não pelas brigas? hehehe). E à **Lê**, por toda espontaneidade e carisma com os quais me conquistou.

À minha parceira de pesquisa, **Claudia Caroline Bosio**, por sua agradabilíssima e divertida companhia. Obrigada pelo convívio, fizestes a diferença e irás fazer falta na equipe do Doutorado!!!

À **Profa. Dra. Cleonice da Silveira Teixeira** por todas as ideias e ajuda durante a execução deste trabalho, sempre interessada em saber se deu certo e opinando para que tudo saísse da melhor maneira possível. Obrigada de coração Cléo!!

À **Profa. Dra. Elena Riet Correa Rivero**, que acompanhou e participou da execução da metodologia, disponibilizando mais duas excelentes mãos para o trabalho “braçal”. Obrigada por sua disponibilidade e experiência.

Às professoras que são ótimo exemplo de dedicação, honestidade e humildade:

**Profa. Dra. Maria Helena Pozzobon**, por jeitinho calmo e tranquilizador. Pela força de vontade e determinação e pelo exemplo de que o conhecimento nunca é demais, que o estudo deve nos acompanhar pro resto da vida. Você é muito querida!!

**Profa. Ms. Ana Maria H. Alves**, que faz toda a diferença com sua simplicidade e dedicação ao próximo. Obrigada por aquelas suas frases de efeito que muito fazem agregar aos nossos dias. Altas pessoa!

Às minhas colegas (e AMIGAS) de Mestrado **Josí, Lu, Maybell**. Adorei conhecê-las, cada uma com um jeitinho diferente mas que sempre trazem um “quê” a mais para as nossas vidas. Espero que a equipe que formamos aqui permaneça ainda por longa data. Vocês são muito queridas, dedicadas, inteligentes e capazes. Desejo o melhor do melhor do mundo pra cada uma!!

À **Luonothar Dreger**, pelos ensinamentos, pela transmissão do seu conhecimento e experiência. Pelo exemplo de pessoa que és.

Ao incomparável e insubstituível **SÉÉÉRGIO** [auuuuuurr] Obrigada por toda disponibilidade nesses anos. Sua ajuda foi extremamente importante, com seu “jeitinho” todo especial de nos ensinar a cuidar dos animais durante o experimento hehehe Sempre de prontidão e disposto pra dar aqeeeele *help*.

À **Marly**, que muito me ajudou durante boa parte da metodologia. Obrigada pela sua disponibilidade, experiência e dedicação.

À **Jaque**, disponível pra ajudar no que fosse necessário em todos os momentos, sempre sorridente já ali bem na entrada do laboratório. Muito obrigada Jaque!!

Enfim, a toda equipe da **Disciplina de Endodontia-UFSC**, pelo seu comprometimento com o *Padrão-Ouro*, pela seriedade, dedicação e compromisso com tudo o que fazem, almejando sempre os melhores resultados e pela constante busca pelo **SUCESSO!**

Um obrigadão ao **Prof. Dr. Adair Roberto Soares dos Santos**, pelo exemplo de humildade, pela confiança e por ter disponibilizado o espaço físico do laboratório e permitido a realização da parte experimental deste trabalho. Sua ajuda seria insubstituível!

Aos **alunos da Pós-Graduação em Neurociências**, pessoas muito hospitaleiras, queridas e atenciosas. Obrigada por irem abrir e fechar o laboratório com a gente, mesmo em uma sexta-feira às 9 h da noite. Sucesso pra todos vocês!!

À **Rê, do LCME**, que me ajudou com toda a análise em MEV. Obrigada pela experiência passada, pela ajuda e por fazer acontecer dentro do prazo planejado, mesmo que as condições fossem adversas. Que essa “nova vida” seja e te faça muito feliz!

À **Keila** e ao **Felipe**, do **Laboratório da Engenharia**, pela disponibilidade e realização da análise em EDX. Sua ajuda foi de grande importância para esta pesquisa.

Ao **Prof. Dr. Gustavo De-Deus** por sua disponibilidade. Obrigada por aceitar fazer parte da minha banca e pelo interesse em deixar este trabalho mais rico e interessante com sua experiência e conhecimento.

À minha **xará Gabízinha**, “uh guria desgraçada!” Me encontrei contigo friend, com a tua alegria e sorriso espontâneo, parceria insubstituível! Excelente não só pra festar, mas muuuito competente e perspicaz nos estudos. És especial e vás fazer falta pra mim. Quem sabe um Doutorado sanduiche together???

A **todos os amigos que fiz na turma de Mestrado em Odontologia “2012 acaba”**. Obrigada a vocês pelos dois anos de convivência, pela força, paciência, determinação e coragem de cada um. Tenho certeza que agreguei um pouco de cada dentro de mim. Espero poder estar sempre por perto de vocês.

Aos **amigos do Doutorado**, pela companhia e por nos fazer acreditar que com certeza “vai dar tudo certo”. Pelo incentivo e pelo exemplo da vontade de continuar. Afinal de contas, o show não pode parar, né?

A **todos os professores da Odontologia-UFSC**, que me dão inspiração dia-a-dia com seus exemplos de vontade e entusiasmo de repassar TODO seu conhecimento e experiência. Vocês contribuem a cada momento para minha formação.

Aos meus **amigos da VIDA**, pelos “Aí Gabi, vamos sair só hoje, amanhã tu continuas a escrever” © Por *aceítarem* me tirar das longas horas de dissertação pra ir distrair a cabeça e ao mesmo tempo pela motivação e incentivo. Obrigado por me acompanharem e por me fazerem mais feliz!

A **todos que estiveram comigo, de algum jeitinho** guiando meu caminhar e torcendo pela minha conquista.

*“Só sabemos com exatidão  
quando sabemos pouco;  
à medida que vamos adquirindo conhecimentos,  
instala-se a dúvida.”*

*“Quando uma criatura humana  
desperta para um grande sonho  
e sobre ele lança toda a força de sua alma,  
todo o universo conspira a seu favor.”*

**Johann Goethe**



## RESUMO

O objetivo deste estudo foi analisar a interação dos cimentos MTA Fillapex, iRoot SP, DiaRoot Bioagregate (BA) e MTA Branco com a dentina *in vivo*. Para isso, a partir de dentes humanos, foram confeccionados 160 tubos de dentina que posterior e aleatoriamente foram divididos em 4 grupos experimentais e 1 grupo-controle. Após o preenchimento com os materiais, os tubos foram implantados no tecido conjuntivo subcutâneo de 32 ratos, em 4 sítios equidistantes da área dorsal. Tubos vazios foram usados como controle e implantados em um quinto sítio. Após 7, 15, 30 e 90 dias os animais foram sacrificados e os tubos de dentina (n = 8/grupo) foram retirados e preparados para análise em microscópio eletrônico de varredura (MEV). Em 7 e 30 dias, a deposição mineral na interface material-dentina foi detectada em todos os tubos preenchidos com MTA Fillapex; e em 15 e 90 dias foi detectada em 7 das 8 amostras. Independentemente do período, a deposição mineral não foi visualizada em nenhuma amostra dos grupos iRoot SP, BA e MTA Branco e nem nas do grupo-controle. Foi concluído que o MTA Fillapex foi o único cimento que interagiu com a dentina e promoveu a biomineralização *in vivo*, e que este processo não foi influenciado pelo tempo.

**Palavras-chave:** Agregado Trióxido Mineral. Bioagregados. Biomineralização. MTA.





## ABSTRACT

The aim of this study was to analyze the interaction of the cements MTA Fillapex, iRoot SP, DiaRoot Bioaggregate (BA) and MTA Branco with dentin *in vivo*. One hundred and sixty human dentin tubes were randomly divided in 4 experimental and 1 control group. After filled with the materials, the tubes were implanted subcutaneously in 32 rats at four sites equidistant from the dorsal area. Empty tubes were used as control and implanted in a fifth site. After 7, 15, 30 and 90 days the animals were euthanized and the dentin tubes (n = 8/group) retrieved for scanning electron microscope (SEM) analysis. In 7 and 30 days, the mineral deposition in the material-dentin interface was detected in all tubes filled with MTA Fillapex; and in 15 and 90 days it was detected in 7 of the 8 samples. Despite of the period, the mineral deposition was not detected in any of the tubes filled with iRoot SP, BA and MTA Branco neither in those of control group. It was concluded that MTA Fillapex was the only cement which interacted with dentin and promoted the *in vivo* biomineralization, and that this process was not affected by the time.

Keywords: Bioaggregates. Biomineralization. Mineral Trioxide Aggregate. MTA.



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	21
1.1 APRESENTAÇÃO, COMPOSIÇÃO E MANIPULAÇÃO.....	21
1.2 PROPRIEDADES BIOLÓGICAS E ANTIMICROBIANAS.....	22
1.3 PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS.....	22
1.4 BIOATIVIDADE DO MTA.....	24
1.5 BIOCERÂMICAS.....	28
<b>1.5.1 Definição e utilização</b> .....	28
<b>1.5.2 Novos cimentos endodônticos</b> .....	29
1.5.2.1 MTA Fillapex.....	29
1.5.2.2 iRoot SP.....	29
1.5.2.3 DiaRoot Bioaggragate.....	30
<b>2 PROPOSIÇÃO</b> .....	33
2.1 OBJETIVO GERAL.....	33
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	33
<b>3 ARTIGO</b> .....	35
INTRODUÇÃO.....	38
<b>Material e Métodos</b> .....	39
<i>Obtenção e preparo dos tubos de dentina</i> .....	39
<i>Implantação subcutânea</i> .....	40
<i>Análise da interface cimento-dentina</i> .....	41
<b>Resultados</b> .....	41
<b>Discussão</b> .....	45
<b>Conclusão</b> .....	47
<b>Referências</b> .....	48
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	51
<b>ANEXOS</b>	
<b>A - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos – UFSC</b> .....	61
<b>B - Parecer da Comissão de Ética no Uso de Animais - UFSC</b> .....	63



## 1 INTRODUÇÃO

O agregado de trióxido mineral (MTA) foi introduzido na endodontia com o objetivo inicial de selar comunicações entre a cavidade pulpar e o periodonto, principalmente em perfurações radiculares (LEE; MONSEF; TORABINEJAD, 1993; TORABINEJAD; WATSON; PITT FORD, 1993). Desde então, vem sendo utilizado em outras situações clínicas como pulpotomia (HOLLAND et al., 2001; MENEZES et al., 2004), retro-obturação (TORABINEJAD et al., 1994), preenchimento de áreas de reabsorção externa e interna (SCHWARTZ et al., 1999), obturação do canal radicular (TORABINEJAD; CHIVIAN, 1999) e tampão apical em dentes com rizogênese incompleta (FELIPPE; FELIPPE; ROCHA, 2006).

### 1.1 APRESENTAÇÃO, COMPOSIÇÃO E MANIPULAÇÃO

O MTA apresenta-se como um pó hidrofílico composto basicamente por silicato tricálcico, óxido tricálcico, óxido de silicato, aluminato tricálcico e óxido de bismuto (LEE; MONSEF; TORABINEJAD, 1993). O MTA começou a ser comercializado pela Dentsply (Tulsa Dental, Oklahoma, USA) em 1999, sob a forma de um pó de coloração cinza, chamado de ProRoot. Por necessidades estéticas, em 2002 a Dentsply lançou o ProRoot MTA, de cor branca. Um ano depois, no Brasil, foi lançado o MTA Angelus, de cor cinza, fabricado pela empresa Angelus Soluções Odontológicas (Londrina, PR, Brasil). Em 2004, esta mesma empresa lançou o MTA Branco. As principais diferenças entre o MTA branco e o MTA cinza é que este último apresenta partículas maiores e possui em sua composição maior concentração de íons ferro, alumínio e magnésio (ASGARY et al., 2005).

A composição do ProRoot MTA também difere da do MTA Branco. O ProRoot MTA é composto por 75% de cimento Portland, 5% de sulfato de cálcio (gesso) e 20% de óxido de bismuto. Já o MTA Branco apresenta 80% de cimento Portland e não apresenta o sulfato de cálcio. A presença do gesso na fórmula do ProRoot faz com que sua presa seja mais lenta. O ProRoot é hidratado com água destilada na proporção de 3:1 (0,30 g de água: 1,0 g de pó) formando um gel coloidal que se solidifica em torno de 4 h. Para o MTA Branco a proporção é de 1:1 (1 gota de água : 1 dose da pá medidora) e tem o tempo de presa inicial em torno de 15 min. Endurecido, o MTA é formado por pequenos

cristais de aparência granular envolvidos por uma estrutura amorfa (TORABINEJAD et al., 1995b).

## 1.2 PROPRIEDADES BIOLÓGICAS E ANTIMICROBIANAS

Quando em contato com a polpa, o MTA estimula a produção de dentina reparadora (TZIAFAS et al., 2002) que resulta na formação de barreiras de tecido mineralizado mais completas do que as formadas quando em contato com o hidróxido de cálcio (FARACO; HOLLAND, 2001). Em contato com os tecidos perirradiculares, induz a aderência, crescimento e proliferação celular na sua superfície (KOH et al., 1998; THOMSON et al., 2003), propiciando condições adequadas ao reparo por meio da neoformação de tecido ósseo e cementário e do restabelecimento do ligamento periodontal (TORABINEJAD et al., 1997; ECONOMIDES et al., 2003; FELIPPE; FELIPPE; ROCHA, 2006).

Além disso, o MTA se caracteriza por não possuir ação mutagênica (KETTERING; TORABINEJAD, 1995), causar leve inflamação (TORABINEJAD et al., 1995d; TORABINEJAD et al., 1997; TORABINEJAD; CHIVIAN, 1999; MORETTON et al., 2000), e aumentar a produção de interleucinas (KOH et al., 1998), e dos níveis de fosfatase alcalina (BONSON; JEANSONNE; LALLIER, 2004). O MTA é considerado um cimento osteo-cimento-condutivo (MORETTON et al., 2000; THOMSON et al., 2003).

Estudos têm mostrado que o MTA tem poder antimicrobiano sobre alguns tipos de micro-organismos (TORABINEJAD et al., 1995c; ESTRELA et al., 2000). Esse efeito se dá pelo alto pH do material e pela liberação de substâncias no meio de cultura (TORABINEJAD et al., 1995c). Parirokh e Torabinejad (2010) realizaram uma revisão da literatura e constataram que há controvérsias quanto ao efeito antifúngico e antimicrobiano dos diferentes tipos de MTAs, sendo que a maioria dos trabalhos revela que a atividade sobre as bactérias anaeróbias é pouca ou inexistente, enquanto a atividade contra fungos, bactérias aeróbias e facultativas é limitada.

## 1.3 PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

As propriedades físico-químicas do MTA estão na dependência da espessura de cimento utilizada, da proporção pó/líquido, da temperatura, do tamanho das partículas do pó e da presença ou não de água (TORABINEJAD; WATSON; PITT FORD, 1993).

Durante o processo de hidratação do MTA ocorre a formação de hidróxido de cálcio e a consequente liberação de íons hidroxila e cálcio (DUARTE et al., 2003; FRIDLAND; ROSADO, 2003; SANTOS et al., 2005; BORTOLUZZI et al., 2006). Trabalhos que analisaram o pH do MTA mostraram que ele inicialmente apresenta valores entre 9,6 (BORTOLUZZI et al., 2006) e 10,2 (TORABINEJAD et al., 1995b), podendo atingir de 11 a 12,5 após 3 h. Alguns autores observaram que com o passar do tempo (22 a 78 dias) seu pH se mantém constante (TORABINEJAD et al., 1995b; DUARTE et al., 2003; FRIDLAND; ROSADO, 2005; BORTOLUZZI et al., 2006). Entretanto, outros relataram que após 15 dias o pH diminui chegando a 7,0 nos períodos de 25 e 35 dias (REYES-CARMONA; FELIPPE; FELIPPE, 2009).

Por apresentar natureza hidrófila, o MTA pode ser empregado em ambientes com relativa presença de umidade. Esta umidade pode estar relacionada à sua ligeira expansão após presa, a qual determina uma melhor adaptação às paredes dentinárias e melhora no selamento (SLUYK et al., 1998; TORABINEJAD et al., 1995a).

O selamento marginal é de grande importância nos diversos procedimentos endodônticos. Estudos que avaliaram infiltração de corantes (LEE; MONSEF; TORABINEJAD, 1993), de bactérias (TORABINEJAD et al., 1995a), de endotoxinas (TANG; TORABINEJAD; KETTERING, 2002) ou de saliva (AL-HEZAIMI et al., 2005) mostraram que, mesmo permitindo algum grau de infiltração, o MTA apresenta selamento marginal efetivo. Outros estudos mostraram que o bom selamento se manteve mesmo na presença de sangue (TORABINEJAD et al., 1994), umidade (SLUYK; MOON; HARTWELL, 1998), ou de pH ácido (5,0) (ROY; JEANSONNE; GERRETS, 2001). Também foi observado que o selamento promovido pelo MTA melhora com o passar do tempo (WU; KONTAKIOTIS; WESSELINK, 1998), e que está na dependência da técnica de colocação do material (HACHMEISTER et al., 2002; MARTIN et al., 2007) e da espessura utilizada (VALOIS; COSTA, 2004).

Por algum tempo foi difundido que o bom selamento proporcionado pelo MTA era oriundo da pequena expansão que ele sofre após a presa (TORABINEJAD et al., 1995a). Contudo, estudos recentes mostraram que a sua capacidade seladora também está relacionada à interação do material com a dentina quando em contato com tampão fosfato salino (PBS) (SARKAR et al., 2005; BOZEMAN; LEMON; ELEAZER, 2006; TAY et al., 2007; REYES-CARMONA; FELIPPE; FELIPPE, 2009; REYES-CARMONA; FELIPPE; FELIPPE, 2010a,b; REYES-CARMONA et al., 2010) ou com solução salina

balanceada de Hank (HBSS) (CAMILLERI et al., 2010). A formação de precipitados minerais na superfície do MTA e nos espaços entre o material e a parede de dentina (intercamada) (SARKAR et al., 2005; BOZEMAN; LEMON; ELEAZER, 2006; REYES-CARMONA; FELIPPE; FELIPPE, 2009), além de melhorar a capacidade de selamento (MARTIN et al., 2007; PARIROKH; TORABINEJAD, 2010), aumenta a força de união à dentina (REYES-CARMONA; FELIPPE; FELIPPE, 2010a).

#### 1.4 BIOATIVIDADE DO MTA

O sucesso clínico do MTA tem sido atribuído à sua natureza bioativa, ou seja, ao seu poder de formar precipitados minerais quando em contato com PBS, como foi demonstrado por Sarkar et al. (2005), Bozeman; Lemon; Eleazer (2006) e Reyes-Carmona; Felipe; Felipe (2009).

Sarkar et al. (2005) procuraram elucidar a natureza das interações entre o MTA e a dentina após contato com PBS. O estudo foi dividido em 2 partes. Na primeira, amostras de MTA foram colocadas em PBS e, a partir das primeiras horas, precipitados começaram a se formar sobre o material. No terceiro dia, os precipitados de 3 amostras foram coletados e analisados em um espectrômetro de absorção atômica. Após 2 semanas, os precipitados das outras amostras foram analisados em microscópio eletrônico de varredura (MEV), de energia dispersiva (EDX) e difração de Rx (XRD). Os autores encontraram, tanto na solução quanto na superfície do MTA, precipitados de forma globular contendo principalmente cálcio, fósforo e oxigênio, composição compatível com a da hidroxiapatita (HA). Na segunda parte, canais de 2 dentes foram preparados, irrigados com EDTA e NaOCl, preenchidos com MTA e expostos ao PBS por 2 meses. A interface MTA-dentina foi analisada em microscopia óptica, MEV e EDX. Essas análises revelaram a presença de uma camada mineralizada, sem espaços vazios, situada entre o cimento e a dentina, composta basicamente por cálcio, fósforo e oxigênio. A intercamada apresentou quantidades menores de alumínio e silício quando comparada ao MTA. Os autores sugeriram que o MTA sofre dissolução em PBS, liberando principalmente cálcio, que leva à precipitação de HA. Essa precipitação parece continuar internamente na estrutura porosa do MTA que está em contato com a parede de dentina, mudando sua composição e dando origem à intercamada, que fica quimicamente aderida ao tecido calcificado. Concluíram que o MTA não é um material inerte, e sim bioativo. A capacidade de formar HA



parece ser a responsável pelas boas propriedades de selamento e biocompatibilidade que o material apresenta.

Um ano mais tarde, Bozeman et al. (2006) analisaram a quantidade e o tipo de cristais formados a partir do contato do MTA branco, MTA cinza e Dentalcrete com o PBS. Moldes de cada material foram confeccionados e divididos em 2 grupos: no primeiro grupo o crescimento e a composição química e estrutural do precipitado formado sobre o material foi avaliado em MEV e XRD após 40 dias de imersão em PBS; no segundo grupo a dissolução de íons silício, cálcio e de outros elementos na água em contato com as amostras foi medida após 24h, 72h, 5, 7, 10 e 14 dias. Os precipitados apresentaram composição química e estrutural semelhante à HA, como também observado por Sarkar et al. (2005). O MTA cinza permitiu maior produção de precipitado que o MTA branco. Com relação à liberação de íons, após 14 dias o MTA cinza liberou mais cálcio, alumínio, bismuto e ferro do que o MTA branco. A capacidade de o MTA cinza formar mais precipitado leva a crer que este teria um melhor resultado clínico do que o MTA branco, principalmente em relação à capacidade seladora.

Tay et al. (2007) realizaram um estudo para caracterizar a fase cálcio-fosfato produzida pela interação do cimento Portland branco com PBS. Blocos do cimento foram imersos em PBS e, 10 dias depois, os precipitados foram avaliados por meio de microscópio eletrônico de transmissão (MET), difração de elétrons (FT-IR), XRD, EDX, MEV e espectroscopia de luz infravermelha. Os índices de pH e de turbidez da solução também foram medidos. Em 52 h, os valores de pH aumentaram de 7,3 para 11,0 e declinaram para 10,2 até o término do experimento. Sob MET foram observados precipitados esféricos brancos com prolongamentos de forma agulheada de 50 a 200 nm de diâmetro. Aproximadamente 4 h após a imersão em PBS, a análise dos precipitados em FT-IR revelou a formação de um amplo e difuso anel de elétrons, compatível com a formação de fosfato de cálcio amorfo. A análise em MEV dos precipitados coletados depois de 10 dias revelou a presença de esferas de agregados cristalinos compostos por uma fase de fosfato de cálcio (cálcio-deficiente), com uma razão molar cálcio/fósforo (Ca/P) de 1,40 a 1,50. A FT-IR mostrou anéis concêntricos, característicos de pequenos agregados pobremente cristalinos. Segundo os autores, ficou evidente que a interação do cimento Portland com o PBS resultou na formação de uma fase inicial de fosfato de cálcio amorfo que hidrolisou e passou para a fase de apatita. Isso os levou a concluir que o cimento Portland branco é bioativo na presença de PBS

graças à sua capacidade de formar apatita carbonatada do tipo B, deficiente em cálcio.

Em 2009, Reyes-Carmona et al. analisaram a interação do ProRoot MTA, MTA Bio, MTA Branco, e Portland Branco (com e sem cloreto de cálcio) com a dentina em solução de PBS. Secções de raízes de dentes unirradiculados humanos foram preparadas, preenchidas com os materiais e divididas em 5 grupos: G1) ProRoot MTA; G2) MTA Branco; G3) MTA Bio; G4) PC1 (Portland + óxido de bismuto 20%) e G5) PC2 (PC1 com cloreto de cálcio 10%). As amostras foram colocadas em PBS por 2 meses e foram avaliadas sob MEV. Após 1 h de imersão em PBS, já foi possível observar a formação de um precipitado branco, em maior quantidade nas amostras do G3. Na análise em MEV foi verificado que os precipitados apresentavam morfologias diversas, algumas ainda não apresentadas na literatura. Através do EDX foi observado que continham principalmente cálcio e fósforo, em uma proporção variável. O cimento Portland acrescido de cloreto de cálcio apresentou maior formação de precipitado do que o Portland sem o aditivo. Na análise da interface cimento-dentina foi possível observar a formação de uma intercamada e de deposição material no interior dos túbulos dentinários. Essa deposição intratubular foi consideravelmente mais acentuada nas amostras dos G2 e G3. Os principais componentes da intercamada foram cálcio e fósforo, que numa relação crescente, levaram à posterior formação de apatita carbonatada. Conforme os autores, a apatita carbonatada é importante para a formação e manutenção de tecido duro, podendo também colaborar no aumento da capacidade seladora do material. Todos os 5 cimentos foram considerados bioativos, pois permitiram a formação da intercamada e a deposição mineral intratubular.

Com base nesses resultados, os mesmos autores (REYES-CARMONA; FELIPPE; FELIPPE, 2010a) analisaram o efeito da biomineralização sobre a resistência à tração do ProRoot MTA, MTA Branco, MTA BIO e cimento Portland com e sem cloreto de cálcio. Foram realizadas cavidades padronizadas em tubos de dentina, as quais foram preenchidas com os diferentes cimentos e os tubos deixados em contato com algodão úmido por 72 h a 37°C (controle) ou imersos por 2 meses em PBS. Passados os períodos, a resistência de união cimentos-dentina foi medida em máquina Instron e as superfícies fraturadas foram analisadas em MEV. Todas as amostras imersas em PBS demonstraram resistência maior ao deslocamento do que as do grupo-controle. Os cimentos de MTA mostraram maior resistência ao deslocamento do que os cimentos Portland. Em MEV, foi observada a presença de deposição

mineral no interior dos túbulos dentinários de todas as amostras imersas em PBS, com morfologia similar a dos *tags* de resina. Os autores concluíram que o processo de biomineralização tem influência positiva na resistência de união dos cimentos utilizados, principalmente dos MTAs.

Através de um modelo *ex vivo* de apicificação, Reyes-Carmona; Felipe e Felipe (2010b) avaliaram o efeito do uso de PBS intracanal sobre o processo de biomineralização produzido por tampões apicais de MTA. Em canais previamente preparados, foram feitos tampões apicais de ProRoot MTA com 5 mm de espessura. As raízes foram divididas em 3 grupos (n = 10): no G1, o espaço remanescente do canal foi preenchido com PBS; no G2, as raízes foram colocadas em frascos com esponja umedecida com 20 mL de PBS; e no G3, o espaço remanescente do canal foi preenchido com PBS e as raízes foram colocadas nos frascos contendo esponja umedecida com 20mL de PBS. Após 2 meses, as amostras foram analisadas em MEV. No G1, a formação mineral foi mais evidente na região do terço cervical do tampão e era inexistente no terço apical. No G2, não houve formação mineral no terço cervical do tampão de nenhuma amostra, mas ocorreu em algumas no terço médio e em todas no terço apical. O G3 apresentou os melhores resultados, sendo constatada a presença da intercâmara e da deposição intratubular nas 3 regiões do tampão. Foi concluído que quando da realização de um tampão apical com MTA, o preenchimento do canal com PBS estimula o processo de biomineralização na dentina em contato com as faces mais internas do plug apical.

Através de diversas análises, Gandolfi et al. (2010) estudaram a bioatividade do ProRoot MTA após a imersão de amostras do cimento em PBS por 10 min (recém-preparadas), 5 h, 1 e 7 dias. Os resultados mostraram que a dissolução dos íons minerais aconteceu quase que imediatamente à hidratação das amostras. A formação de apatita, revelada pela presença de depósitos de fosfato de cálcio, iniciou após 5 h de imersão e uma camada de apatita de espessura uniforme foi notada após 7 dias. A relação Ca/P aumentou com o tempo (1,32 para 1,98), indicando a maturação da apatita carbonatada, onde os íons carbonato substituem os íons fosfato na estrutura das apatitas. Os resultados do trabalho confirmam a capacidade do MTA em permitir a formação de uma camada superficial de apatita carbonatada em poucas horas.

Embora pesquisas desenvolvidas *ex vivo* ou *in vitro* tenham mostrado que a deposição de apatita carbonatada ocorre na interface cimento-dentina e no interior dos túbulos dentinários após a interação do

MTA-dentina com PBS, há poucos dados na literatura confirmando a ocorrência dessa deposição *in vivo*.

Em estudo recente, Reyes-Carmona et al. (2010) avaliaram a resposta tecidual e o processo de biomineralização após a implantação de tubos de dentina preenchidos com MTA ou hidróxido de cálcio em tecido conjuntivo subcutâneo de camundongos. Os autores observaram que houve a formação de aglomerados similares à apatita carbonatada sobre as fibras colágenas já nas primeiras 12 h pós-implantação. A deposição se tornou mais intensa com o passar do tempo e, depois de 7 dias, uma camada compacta foi visualizada na superfície dos tubos. A análise em EDX indicou que os precipitados eram formados principalmente por cálcio e fósforo, numa razão molar de 1,60 a 1,64. Na interface MTA-dentina, a mineralização intratubular foi percebida a partir das primeiras 12 h, tornando-se maior e mais compacta ao longo do tempo, sugerindo a maturação do mineral.

Empregando metodologia semelhante, Dreger et al. (2012) verificaram que o MTA Branco e o MTA Bio foram os mais efetivos na indução do processo de biomineralização quando comparados aos cimentos Portland, principalmente nos períodos de 30 e 60 dias.

Apesar de possuir boas propriedades físico-químicas e biológicas, o MTA apresenta dificuldades de manipulação e de utilização na obturação do canal radicular (SCARPARO et al. 2010). Com o intuito de manter as propriedades biológicas do MTA e melhorar as físicas, alguns cimentos à base de biocerâmicas vêm sendo desenvolvidos: MTA Fillapex (Angelus Soluções Odontológicas, PR, Brasil); iRoot SP (Innovative Bioceramix, Vancouver, Canada). DiaRoot Bioaggregate (DiaDent Group International, BC, Canadá).

## 1.5 BIOCERÂMICAS

### 1.5.1 Definição e utilização

Biocerâmicas são cerâmicas específicas para uso em medicina e odontologia, utilizadas na substituição de tecidos ou no recobrimento de metais, com a finalidade de aumentar sua biocompatibilidade. Na área da saúde, as biocerâmicas alumina, zircônia, hidroxiapatita, fosfato de cálcio, silicato de cálcio e cerâmicas de vidro são amplamente empregadas (KOCH; BRAVE; NASSEH, 2010). Quando um material contém em sua composição biocerâmicas passa a ser chamado de bioagregado, e como o MTA é basicamente composto por biocerâmicas (silicatos, aluminatos e sulfato de cálcio), é considerado como tal.

Os bioagregados são produzidos em laboratório e possuem particularidades interessantes para a endodontia: são de fácil manipulação e estáveis dimensionalmente, têm boa capacidade de escoamento e selamento, possuem alto pH e consequente poder antimicrobiano, são biocompatíveis e bioativos (KOCH; BRAVE; NASSEH, 2010).

## **1.5.2 Novos cimentos endodônticos**

### *1.5.2.1 MTA Fillapex*

O MTA Fillapex é um cimento endodôntico à base de MTA. Lançado em 2010 pela empresa Angelus, apresenta-se em forma de pasta-pasta e é indicado para obturação endodôntica. É composto por resinas, sílica nanoparticulada, MTA, óxido de bismuto e pigmentos. Segundo o fabricante tem um tempo de trabalho de 30 min e tempo de presa mínimo de 120 min, influenciado pela umidade da dentina. Pode ser empregado com ou sem os cones de guta-percha, e no caso de necessidade de retratamento, pode ser facilmente removido do canal por técnicas convencionais.

Ainda não existem muitos estudos a respeito das propriedades do MTA Fillapex. Com relação ao seu efeito bactericida, Morgental et al. (2011) observaram que este cimento tem efeito contra *Enterococcus faecalis* somente antes de tomar presa, não mantendo sua atividade antimicrobiana depois disso. Sagsen et al. (2011) revelaram a inferioridade do MTA Fillapex com relação à força de adesão e resistência à fratura quando comparado aos cimentos iRoot SP e AH Plus.

### *1.5.2.2 iRoot SP*

Para o mesmo propósito foi desenvolvido o iRoot SP (Innovative Biocreanix, Vancouver, Canadá). Esse cimento se apresenta na forma de uma única pasta composta por óxido de zircônia, silicato de cálcio, fosfato de cálcio, hidróxido de cálcio e agentes espessantes. De acordo com o fabricante, se assemelha ao MTA com a vantagem de não conter alumina e ser de fácil aplicação. Além disso é insolúvel, radiopaco, biocompatível, não sofre contração e apresenta boa viscosidade e escoamento devido à sua composição nanoparticulada.

O iRoot SP possui um tempo de presa de 4h e pode ser usado com ou sem cones de guta-percha. Ghoneim et al. (2011) e Ulusoy;

Nayır; Darendeliler-Yaman (2011) demonstraram que este cimento apresenta alta resistência à fratura, principalmente quando associado ao Activ GP cone. Quando comparado ao AH Plus, trabalhos mostraram que o iRoot SP foi menos citotóxico (ZHANG; LI; PENG, 2010a,b), e apresentou selamento (ZHANG; LI; PENG, 2009) e resistência à tração (ERSAHAN; AYDIN, 2010; SAGSEN et al., 2011) semelhantes. Além disso, o iRoot SP apresenta poder antimicrobiano (ZHANG et al., 2009) e sua biocompatibilidade pode ser comparada a do MTA (DAMAS et al., 2011; MA et al., 2011).

#### 1.5.2.3 DiaRoot Bioaggregate

O DiaRoot Bioaggregate (BA), comercializado pela Diadent (DiaDent Group International, BC, Canadá), apresenta-se na forma de pó/líquido, semelhante ao MTA, e também é indicado como cimento reparador nos casos de perfuração, retro-obturação, apicificação, reabsorção e capeamento pulpar. O BA foi o primeiro cimento reparador composto por nanopartículas a ser desenvolvido (DE-DEUS et al., 2009). Contém silicato de cálcio, hidróxido de cálcio, hidroxiapatita, óxido de tântalo e óxido de silício. Segundo o fabricante, é livre de alumina, biocompatível, de fácil manipulação e aplicação e não altera a cor do elemento dental. Possui um tempo de trabalho de aproximadamente 5 min e presa final entre 4-72 h.

Através de XRD, Park et al. (2010) confirmaram as diferenças entre a composição química do BA e do MTA: o BA contém hidroxiapatita, não tem alumina e possui como radiopacificador o óxido de tântalo ao invés do óxido de bismuto.

A biocompatibilidade (DE-DEUS et al., 2009; YAN et al., 2010; YUAN et al., 2010; MA et al., 2011), citotoxicidade (ALANEZY et al., 2010; DAMAS et al., 2011) e ação antimicrobiana (ZHANG; PAPPEN; HAAPASALO, 2009) do BA são semelhantes às do MTA. Com relação à capacidade de selamento, este material também não apresentou diferença significativa quando comparado ao MTA (NAIR et al., 2011; LEAL et al., 2011). Dohaitem et al. (2011) observaram que o BA apresenta ação antifúngica contra *Cândida albicans* após um período de 24 h. Além disso, dentes com rizogênese incompleta tratados por um ano com BA mostraram maior resistência à fratura do que os tratados com MTA e hidróxido de cálcio (TUNA et al., 2011).

Até o momento, não há relatos na literatura sobre a interação desses novos cimentos com a dentina. Diante do exposto, foi objetivo deste estudo avaliar a ocorrência da deposição mineral na interface

cimento-dentina e nos túbulos dentinários após a implantação, em tecido subcutâneo de ratos, de tubos de dentina preenchidos com os cimentos MTA Fillapex , iRoot SP, DiaRoot Bioaggregate e MTA Branco.





## 2 PROPOSIÇÃO

### 2.1 OBJETIVO GERAL

- Verificar *in vivo* a capacidade de promover biomineralização de diferentes bioagregados: MTA Fillapex, iRoot SP, DiaRoot Bioaggregate e MTA Branco.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar a interface bioagregados-dentina após a implantação no tecido subcutâneo de ratos.
- Discriminar os elementos constituintes da deposição mineral formada.
- Avaliar a influência do tempo sobre a formação mineral.



### 3 ARTIGO

#### **Capacidade de promover biomineralização de diferentes bioagregados: análise *in vivo*.**

Gabriela Santos Felipe, DDS.

Departamento de Odontologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

## RESUMO

**Introdução:** O objetivo deste estudo foi analisar a interação dos cimentos MTA Fillapex, iRoot SP, DiaRoot Bioaggragate (BA) e MTA Branco com a dentina *in vivo*. **Métodos:** a partir de dentes humanos, foram confeccionados 160 tubos de dentina que posterior e aleatoriamente foram divididos em 4 grupos experimentais e 1 grupo-controle. Após o preenchimento com os materiais, os tubos foram implantados no tecido conjuntivo subcutâneo de 32 ratos, em 4 sítios equidistantes da área dorsal. Tubos vazios foram usados como controle e implantados em um quinto sítio. Após 7, 15, 30 e 90 dias os animais foram sacrificados e os tubos de dentina (n = 8/grupo) foram retirados e preparados para análise em microscópio eletrônico de varredura (MEV). **Resultados:** Em 7 e 30 dias, a deposição mineral na interface material-dentina foi detectada em todos os tubos preenchidos com MTA Fillapex; e em 15 e 90 dias foi detectada em 7 das 8 amostras. Independentemente do período, a deposição mineral não foi visualizada nas amostras dos grupos iRoot SP, BA e MTA Branco e nem nas do grupo-controle. **Conclusão:** Foi concluído que o MTA Fillapex foi o único cimento que interagiu com a dentina e promoveu a biomineralização *in vivo*, e que este processo não foi influenciado pelo tempo.

**Palavras-chave:** Agregado Trióxido Mineral, Bioagregados, Biomineralização, MTA.

## ABSTRACT

**Introduction:** The aim of this study was to analyze the interaction of the cements MTA Fillapex, iRoot SP, DiaRoot Bioaggregate (BA) and MTA Branco with dentin *in vivo*. **Methods:** One hundred and sixty human dentin tubes (n = 8/group) were randomly divided in 4 experimental and 1 control group. After filled with the materials, the tubes were implanted subcutaneously in 32 rats at four sites equidistant from the dorsal area. Empty tubes were used as control and implanted in a fifth site. After 7, 15, 30 and 90 days the animals were euthanized and the dentin tubes retrieved for scanning electron microscope (SEM) analysis. **Results:** In 7 and 30 days, the mineral deposition in the material-dentin interface was detected in all tubes filled with MTA Fillapex; and in 15 and 90 days it was detected in 7 of the 8 samples. Despite of the period, the mineral deposition was not detected in any of the tubes filled with iRoot SP, BA and MTA Branco neither in those of control group. **Conclusion:** It was concluded that MTA Fillapex was the only cement which interacted with dentin and promoted the *in vivo* biomineralization, and that this process was not affected by the time.

**Keywords:** Bioaggregates, Biomineralization, Mineral Trioxide Aggregate, MTA.

## Introdução

Desde sua introdução na endodontia, em 1993, o agregado de trióxido mineral (MTA) vem sendo amplamente empregado em perfurações radiculares (1, 2), pulpotomia (3), retro-obturação (4) e como tampão apical em dentes com rizogênese incompleta (5), devido   sua biocompatibilidade (5, 6) e capacidade seladora (4, 7-9).

A biocompatibilidade do MTA está relacionada a sua natureza bioativa, ou seja, ao seu poder de formar precipita es minerais quando em contato com o fluido tissular sint tico (PBS), num processo chamado de biomineraliza o (10-12). O cálcio liberado pelo MTA reage com os íons fosfato do PBS precipitando hidroxiapatita, o que resulta na forma o de uma camada mineral na superfície do cimento que se adere quimicamente   dentina (10). Quando em contato com PBS, os cimentos ProRoot MTA, MTA BIO e MTA Branco e Portland branco precipitam apatita carbonatada levando   forma o de uma camada mineralizada na interface cimento-dentina e de precipitados minerais dentro dos túbulos dentinários (12). A deposi o mineral está relacionada com o tempo (13) e com o aumento da força de união desses cimentos   dentina (14).

Estudos realizados com a implanta o de tubos de dentina contendo MTA e cimento Portland (CP) em tecido conjuntivo subcutâneo de camundongos (15) e de ratos (16) também demonstraram que a biomineraliza o acontece *in vivo*.

Apesar de possuir boas propriedades biológicas, o MTA apresenta características físicas que dificultam a sua manipula o e utiliza o na obtura o do canal radicular (17). Com o intuito de manter as propriedades biológicas do MTA e melhorar as físicas, alguns cimentos   base de biocerâmicas vêm sendo desenvolvidos: MTA Fillapex (Angelus Solu es Odontológicas, PR, Brasil); iRoot SP (Innovative Bioceramix, Vancouver, Canada) e DiaRoot Bioaggregate (DiaDent Group International, BC, Canada).

As biocerâmicas são empregadas na substitui o de tecidos ou no recobrimento de metais, com a finalidade de aumentar sua biocompatibilidade (18). Quando um material cont m em sua composi o biocerâmicas passa a ser chamado de bioagregado, e como o MTA   basicamente composto por biocerâmicas (silicatos, aluminatos e sulfato de cálcio),   considerado como tal.

O MTA Fillapex   um cimento endodôntico   base de MTA. Apresenta-se em forma de pasta-pasta, e   indicado para obtura o de canais radiculares. Possui em sua composi o resinas, sílica

nanoparticulada, MTA, óxido de bismuto e pigmentos. Para o mesmo propósito foi desenvolvido o iRoot SP. Ele apresenta-se na forma de uma única pasta composta por óxido de zircônia, silicato de cálcio, fosfato de cálcio, hidróxido de cálcio e agentes espessantes. De acordo com o fabricante, se assemelha ao MTA com a vantagem de não conter alumina e ser facilmente aplicado. O DiaRoot Bioaggregate (BA) apresenta-se na forma pó/líquido, semelhante ao MTA, e é indicado como cimento reparador nos casos de perfuração, retro-obturação, apicificação, reabsorção e capeamento pulpar. O BA foi o primeiro cimento reparador composto por nanopartículas a ser desenvolvido (19). Contém: silicato de cálcio, hidróxido de cálcio, hidroxiapatita, óxido de tântalo e óxido de silício.

Até o momento, não há relatos na literatura sobre a interação desses novos cimentos com a dentina. Diante do exposto, foi objetivo deste estudo avaliar a ocorrência da deposição mineral na interface cimento-dentina e nos túbulos dentinários após a implantação, em tecido subcutâneo de ratos, de tubos de dentina preenchidos com os cimentos MTA Fillapex, iRoot SP, DiaRoot Bioaggregate e MTA Branco.

## **Material e Métodos**

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (Processo nº 2166) e pela Comissão de Ética no Uso de Animais (PP00555) da Universidade Federal de Santa Catarina (Anexos).

### *Obtenção e preparo dos tubos de dentina*

Foram utilizados 160 dentes humanos, unirradiculados, extraídos por motivos alheios a esta pesquisa e doados pelos pacientes através do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. As porções coronária e apical dos dentes foram removidas a fim de se obter tubos com aproximadamente 7 mm de comprimento. Com o objetivo de padronizar o diâmetro interno em 1,30 mm, o espaço dos canais radiculares foi ampliado com broca Gates-Glidden número 5. Em seguida, os tubos foram lavados com água destilada e esterilizados em autoclave.

Momentos antes da implantação, os tubos foram irrigados com EDTA 17% por 3 min e com hipoclorito de sódio 1%, também por 3 min com o intuito de remover a lama dentinária formada durante o preparo dos tubos. Os tubos de dentina foram aleatoriamente divididos

em 4 grupos experimentais e um grupo-controle (n = 32). Nos grupos experimentais, o espaço do canal foi preenchido com os cimentos: MTA Fillapex (Angelus Soluções Odontológicas, PR, Brasil); iRoot SP (Innovative Bioceramix, Vancouver, Canada); DiaRoot Bioaggregate (DiaDent Group International, BC, Canada) e MTA Branco (Angelus Soluções Odontológicas, PR, Brasil).

Os cimentos foram manipulados conforme as instruções dos fabricantes. Os tubos de dentina do grupo-controle permaneceram vazios.

### *Implantação subcutânea*

Os animais foram anestesiados, por via intramuscular com uma associação de cloridrato de xilazina 2% (Anasedan, Sespo Ind. e Com. Ltda, Paulínia, SP, Brasil) e cloridrato de ketamina 10% (Dopalen, Sespo Ind. e Com. Ltda, Paulínia, SP, Brasil) na dose de 10 mg/Kg e 25 mg/Kg, respectivamente.

Após a tricotomia da região dorsal e antissepsia da área com álcool iodado, foram realizadas duas incisões longitudinais na região mediana do dorso de cada animal, uma anterior e outra posterior, com lâmina de bisturi n°15 (Eletromed - Comércio de Materiais Médicos Cirúrgicos, Manaus, Brasil). Lateralmente às incisões, foram feitas divisões de aproximadamente 5 cm com tesoura de ponta romba: duas a partir da incisão anterior em direção à região escapular, duas a partir da incisão posterior em direção à região pélvica, e uma entre a incisão anterior e a posterior do lado direito do animal, a fim de se obter 5 lojas cirúrgicas.

Em seguida, 4 tubos de dentina preenchidos com os diferentes cimentos e um tubo vazio (controle) foram implantados nas lojas, obedecendo uma ordem de colocação previamente estabelecida, havendo rotatividade dos tubos em relação aos sítios de implantação. Cada tubo foi acoplado à ponta de um trocarte para facilitar a implantação em cada sítio. As bordas das incisões foram suturadas com fio de seda 4.0 (Ethicon - Johnson & Johnson, Produtos Profissionais Ltda., São José dos Campos, SP).

O sacrifício dos animais foi realizado com dose excessiva de anestésico, nos períodos de 7, 15, 30 e 90 dias, sendo 8 ratos por período. Após o sacrifício, os tubos de dentina foram localizados por palpação, removidos e preparados para a análise, em MEV, da interface material-dentina.



### *Análise da interface cimento-dentina*

Os tubos foram lavados em água destilada por 2 h e tratados segundo metodologia empregada por Perdigão et al (20), com modificações. Após a fixação em glutaraldeído 2,5% tamponado com solução de cacodilato 0,2 M por 12 h a 4°C, foi realizada a lavagem em tampão cacodilato 0,2 M durante 1 h com 2 trocas, seguida de uma breve lavagem com água destilada. A desidratação foi feita em concentrações crescentes de álcool etílico (25-100%).

Cada uma das superfícies a ser avaliada foi lixada com disco Sof-Lex (3M, São Paulo, Brasil) em ordem de granulação decrescente (azul e amarelo, respectivamente). Concluído o polimento, as amostras foram imersas em ácido clorídrico 6M durante 30s e lavadas em água destilada. Em seguida foram imersas em hipoclorito de sódio 2% durante 10 min e lavadas com água destilada pelo mesmo período de tempo. Depois de secas em estufa a 37°C durante 48 h, as amostras foram fixadas em bases cilíndricas de metal (*stubs*), recobertas com uma camada de ouro de 300 Å, e analisadas por meio de MEV, operando com 10-15 Kv.

Com o propósito de verificar se houve ou não a formação mineral, a região da interface cimento-dentina foi analisada em diferentes aumentos (20-17.000x). Quando constatada, em algumas amostras a composição química da deposição mineral foi analisada por energia dispersiva de Rx (EDX).

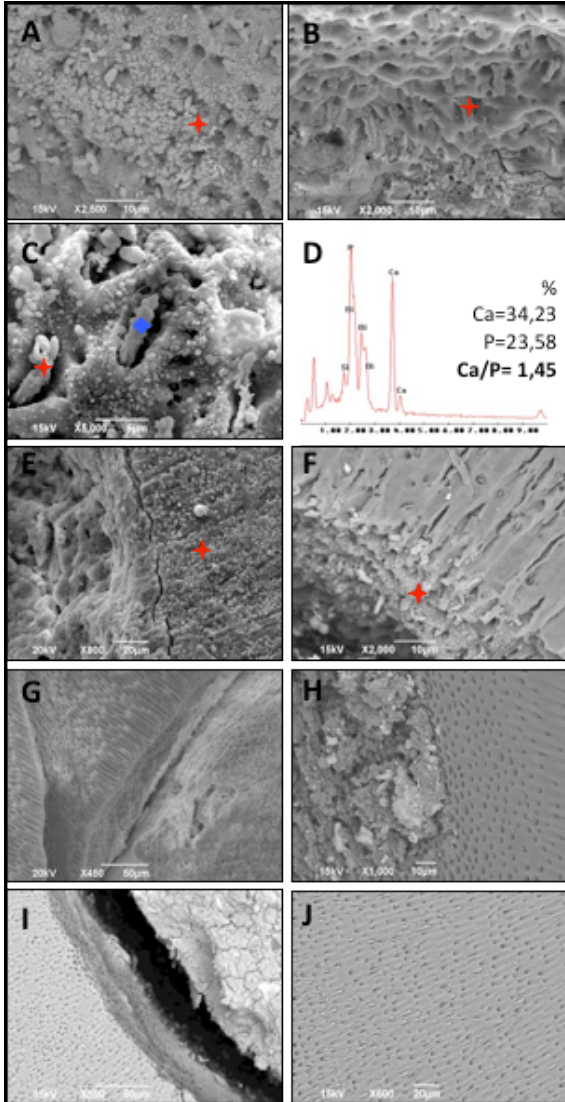
## **Resultados**

Considerando todos os períodos, na maioria dos tubos preenchidos com MTA Fillapex foi possível observar a deposição mineral entre o cimento e a dentina (Fig. 1A, 1B, 1C, 1E, 1F). Nos períodos de 7 e 30 dias a deposição foi detectada em todos os tubos, enquanto que em 15 e 90 dias foi observada em 7 das 8 amostras. O período experimental não exerceu influência sobre o processo de biomineralização.

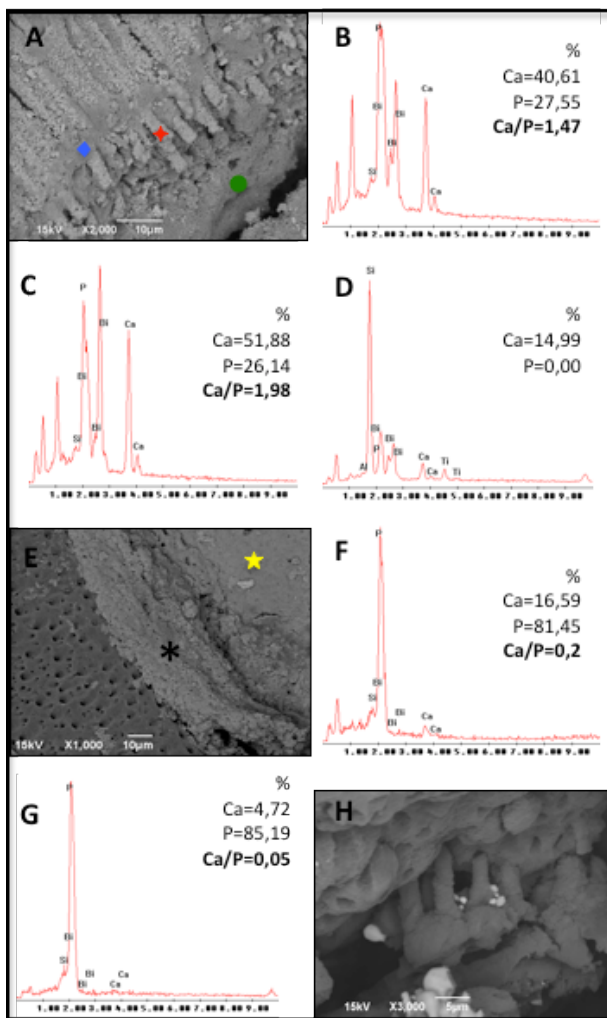
Independentemente do período analisado, não houve deposição mineral em nenhum dos tubos preenchidos com iRoot (Fig. 1G), BA (Fig. 1H) e MTA (Fig. 1I) e em nenhum dos vazios (controle) (Fig. 1J).

Através da análise da composição química em EDX/MEV foi possível observar que a deposição mineral apresentou, principalmente, cálcio e fósforo (Fig. 1D).

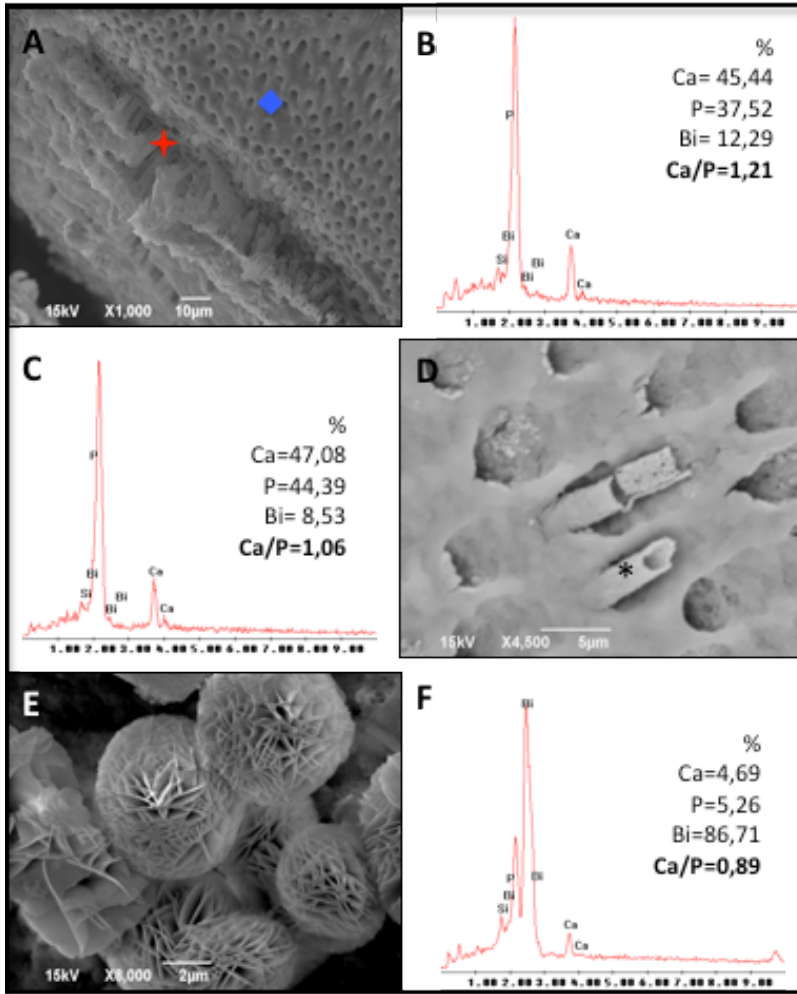
Outras imagens de microscopia e espectro de EDX (Fig. 1, 2 e 3) serão apresentadas na sessão de discussão.



**Figura 1.** Imagens de fotomicrografias da interface MTA Fillpex-dentina dos períodos de 7 (A), 15 (B, C), 30 (E) e 90 (F) dias. Observar a presença de deposição mineral sobre e no interior dos túbulos dentinários +. (D) = Espectro de EDX da deposição mineral intratubular ◆ observada em C. Imagens de fotomicrografias da interface iRoot SP-dentina (G), BA-dentina (H) e MTA Branco-dentina (I). Fotomicrografia da dentina de um tubo vazio (J).



**Figura 2.** Imagens de fotomicrografias da interface MTA Fillapex-dentina (**A**), iRoot SP-dentina (**E**) e BA-dentina (**H**) do período de 7 dias. Espectros de EDX das áreas demarcadas em **2A**: deposição mineral intratubular **+** (**B**), dentina **◆** (**C**) e material **●** (**D**). Espectro de EDX da área demarcada em **E** \* (suposta intercamada) (**F**). Espectro de EDX da área demarcada em **E** **★** (cimento iRoot SP) (**G**). Fotomicrografia revelando o embricamento do material (BA) na dentina (**H**).



**Figura 3.** Imagem de fotomicrografias da interface de um tubo preenchido com BA (15 dias) (A). Espectro de EDX da área demarcada em A + (suposta deposição intratubular) (B). Espectro de EDX da dentina ♦ (C). Fotomicrografia da dentina de um tubo vazio (observar aparente deposição mineral intratubular \* (D). Fotomicrografia (E) e EDX (F) de cristal encontrado sobre a dentina.

## Discussão

Entende-se por material bioativo aquele que tem a capacidade de interagir com o tecido vivo, integrando-se ao ambiente receptor e trazendo efeitos benéficos ao tecido onde é implantado. Na interface biomaterial-tecido ocorre uma série de reações bioquímicas e biofísicas que resultam na formação de uma camada de apatita carbonatada (21).

Estudos demonstraram que o MTA é um material bioativo, pois tem o poder de formar precipitados de apatita carbonatada quando em contato com o fluido tissular sintético (PBS) (10-13, 22).

À luz de recentes pesquisas pode-se afirmar que o processo de biomineralização é responsável por influenciar positivamente algumas propriedades do MTA como a resistência à tração (14) e a capacidade de selamento (23, 24). Estudos realizados com a implantação de tubos de dentina contendo MTA e cimento Portland (CP) em tecido conjuntivo subcutâneo de camundongos (15) e de ratos (16) já demonstraram que a biomineralização também acontece *in vivo*.

O conhecimento adquirido através das pesquisas realizadas com o MTA tem contribuído para o desenvolvimento de novos cimentos obturadores e reparadores à base de biocerâmicas como o MTA Fillapex, o iRoot SP e o BA. Porém, ainda não se conhece o potencial bioativo desses materiais. É importante ressaltar que a inexistência de estudos semelhantes impede que a discussão dos resultados aqui obtidos seja conduzida de maneira mais aprofundada.

A bioatividade do MTA e do CP tem sido avaliada pela formação de precipitados minerais sobre o material (10, 11), na interface cimento/dentina, na superfície da dentina e no interior dos túbulos dentinários (15, 16). A metodologia empregada neste experimento (implantação de tubos de dentina em tecido subcutâneo de animais e posterior estudo em MEV) já foi validada em estudos anteriores desenvolvidos também com a finalidade de avaliar o processo de biomineralização (15, 16).

Os resultados apontaram diferenças entre os materiais testados. Na maioria dos tubos de dentina preenchidos com o MTA Fillapex foi possível constatar a ocorrência de deposição mineral na superfície da dentina, na entrada e no interior dos túbulos dentinários (Fig. 1A, 1B, 1C, 1E, 1F e 2A), composta principalmente por cálcio e fósforo. A análise em EDX revelou que a relação Ca/P dessa deposição mineral era diferente da observada na dentina e no próprio material (Fig. 1D, 2B, 2C e 2D). Dessa forma pode-se afirmar que o MTA Fillapex é bioativo, ou seja, capaz de promover a biomineralização. Este material contém MTA

em sua composição; os íons cálcio por ele liberados interagem com os íons fosfato do fluido tissular, resultando na formação mineral.

Diferentemente do que foi observado em trabalhos *in vitro* com MTA (13, 22), os resultados aqui obtidos com MTA Fillapex não mostraram relação entre a quantidade de precipitados e o período experimental. Esta diferença pode ser justificada pelo fato de que nos estudos citados a solução de PBS foi trocada com frequência, garantindo contínuo fornecimento de íons fosfato que, ao interagirem com o cálcio liberado pelo material, permitiu maior formação mineral. Também diferente do que foi aqui encontrado, em estudos desenvolvidos *in vivo* foi observado que a mineralização se tornou mais extensa e profunda com o passar do tempo (15, 16). A justificativa para essa diferença é desconhecida e deverá ser investigada em futuros estudos.

Nos tubos preenchidos com os cimentos iRoot SP e BA não foi possível observar deposição mineral em qualquer um dos períodos experimentais (Fig. 1G, 1H). Interessantemente, o MTA Branco também não se mostrou bioativo (Fig. 1I), contrariando os achados de outros estudos conduzidos *in vivo* (15, 16). A explicação para essa diferença de resultados é desconhecida e também deverá ser investigada.

Independentemente do grupo, algumas das imagens obtidas sugeriram a formação de uma camada mineral na interface cimento-dentina (Fig. 2E). Porém, a análise em EDX mostrou que a composição dessa camada (Fig. 2F) era similar a do material (Fig. 2G). Também foi observada a penetração de vários dos materiais nos túbulos dentinários, revelando a ocorrência de um embricamento físico com a dentina (Fig. 2H).

Outras imagens sugeriram a ocorrência de deposição mineral no interior dos túbulos dentinários (Fig. 3A). Entretanto, a análise em EDX evidenciou que essa suposta deposição apresentava composição química semelhante à da dentina adjacente (Fig. 3B e 3C). É possível que o ácido usado durante o preparo para MEV tenha descalcificado a dentina intertubular (menos calcificada); a permanência da dentina peritubular (mais calcificada) gerou a falsa ideia da presença de deposição mineral no interior dos túbulos. Avaliando aspectos micromorfológicos da interface adesivo-dentina, Saboia et al (25) observaram imagens diversas e até contraditórias em um mesmo espécime quando fatores como sítio de dentina para adesão, ângulo de seccionamento do espécime e seleção do fragmento a ser visualizado foram tratados de forma aleatória, e afirmaram que a não-padronização dessas variáveis pode resultar em erros de interpretação na observação das projeções através de MEV. Isso foi confirmado pela análise dos tubos vazios (grupo-controle) que

apresentaram imagens de estruturas semelhantes à mineralização intratubular (Fig. 3D). Esse achado ressalta a importância da análise em EDX a fim de melhor identificar e caracterizar a composição química das estruturas visualizadas.

Em algumas amostras dos grupos do MTA Fillapex e MTA Branco foram observadas estruturas sobre a dentina simulando cristais de apatita carbonatada, semelhantes às descritas por Tay et al (22) e Reyes-Carmona et al (12) (Fig. 3E). Entretanto, a análise em EDX revelou que esses cristais eram compostos basicamente por bismuto (Fig. 3F), sugerindo que foram arrastados da superfície dos materiais para a da dentina durante o processo de polimento.

Ao contrário do que foi observado por Reyes-Carmona et al (12), neste estudo a análise em EDX revelou, em amostras de todos os grupos, a presença de silício na dentina adjacente aos materiais. Provavelmente, isso ocorreu porque a dentina é capaz de absorver este elemento químico (26) presente nos cimentos. Além disso, para a desidratação, as amostras foram mantidas em estufa dentro de frascos contendo sílica.

Embora a metodologia aqui empregada tenha sido semelhante à de estudos prévios (15, 16), a introdução de pequenas alterações podem ter produzido modificações significativas nos resultados. Enquanto nesta pesquisa a superfície dos tubos foi lixada e polida com discos de lixa e imediatamente imersas no ácido clorídrico, nos trabalhos acima mencionados o polimento foi realizado com lixa de carbetto de silício e com abrasivo à base de alumina de diferentes granulações. Além disso, as amostras foram lavadas e limpas em ultrassom antes da imersão no ácido. Embora meramente especulativo, também é possível que uma fina intercamada tenha se formado e sido destruída durante a descalcificação e polimento das amostras. No caso do MTA Fillapex, seu componente resinoso pode ter aumentado a resistência da intercamada e dos *plugs* a esses procedimentos. Novos estudos deverão ser realizados para melhor elucidar essas diferenças.

## **Conclusão**

Com base nos resultados obtidos, foi possível concluir que, dentre os materiais testados, o MTA Fillapex foi o único cimento capaz de interagir com a dentina e promover a biomineralização e que este processo não sofreu alteração com o tempo.

## Referências

1. Torabinejad M, Chivian N. Clinical applications of mineral trioxide aggregate. *J Endod* 1999;25:197-205.
2. Holland R, Otoboni Filho JA, Souza V, Nery M.J, Bernabé PFE. Mineral trioxide aggregate repair of lateral root perforations. *J Endod* 2001;27:281-4.
3. Menezes R, Bramante CM, Letra A, Carvalho VGG, Garcia RB. Histologic evaluation of pulpotomies in dog using two types of mineral trioxide aggregate and regular and white Portland cements as wound dressings. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004;98:376-9.
4. Torabinejad M, Rastegar AF, Kettering JD, Pitt Ford TR. Bacterial leakage of mineral trioxide aggregate as a root-end filling material. *J Endod* 1995;21:109-12.
5. Felipe WT, Felipe MCS, Rocha MJC. The effect of mineral trioxide aggregate on the apexification and periapical healing of teeth with incomplete root formation. *Int Endod J* 2006;39:2-9.
6. Camilleri J, Pitt Ford TR. Mineral trioxide aggregate: a review of the constituents and biological properties of the material. *Int Endod J* 2006;39:747-54.
7. Lee SJ, Monsef M, Torabinejad M. Sealing ability of mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforations. *J Endod* 1993;19:541-4.
8. Parirokh M, Torabinejad M. A comprehensive literature review-part I: chemical, physical, and antibacterial properties. *J Endod* 2010;36:16-27.
9. Al-Hezaimi K, Naghshbandi J, Oglesby S, Simon JH, Rotstein I. Human saliva penetration of root canals obturated with two types of mineral trioxide aggregate cements. *J Endod* 2005;31:453-6.
10. Sarkar NK, Caicedo R, Ritwik P, Moiseyena R, Kawashima I. Physicochemical basis of the biologic properties of Mineral Trioxide Aggregate. *J Endod* 2005;31:97-100.



11. Bozeman TB, Lemon RR, Eleazer PD. Elemental analysis of cristal precipitate from gray and white MTA. J Endod 2006;32:425-8.
12. Reyes-Carmona JF, Felipe MS, Felipe WT. Biomineralization ability and interaction of mineral trioxide aggregate and Portland cement with dentin in a phosphate-containing fluid. J Endod 2009;35:731-6.
13. Gandolfi MG, Taddei P, Tinti A, Prati C. Apatite-forming ability (bioactivity) of ProRoot MTA. Int Endod J 2010;43:917-29.
14. Reyes-Carmona JF, Felipe MS, Felipe WT. The biomineralization ability of mineral trioxide aggregate and Portland cement on dentin enhances the push-out strength. J Endod 2010;36:286–91.
15. Reyes-Carmona JF, Santos AS, Figueiredo CP, Baggio CH, Felipe MS, Felipe WT, Cordeiro MC. Host-mineral trioxide aggregate inflammatory molecular signaling and biomineralization ability. J Endod 2010;36:1347-53.
16. Dreger LAS, Felipe WT, Reyes-Carmona JF, Felipe GS, Bortoluzzi EA, Felipe MCS. Mineral trioxide aggregate and Portland cement promote biomineralization *in vivo*. J Endod 2012;38:324-9.
17. Scarparo RK, Haddad D, Acasigua GSX, Fossati ACM, Fachin EVF, Grecca FS. Mineral Trioxide Aggregate-sealer: analysis of tissue reactions to a new endodontic material. J Endod 2010;36:1174-8.
18. Koch KA, Brave DG, Nasseh AA. Bioceramic technology: closing the endo-restorative circle, Part I. Dent Today 2010;29:100-5.
19. De-Deus G, Canabarro A, Alves G, Linhares A, Senne MI, Granjeiro JM. Optimal cytocompatibility of a bioceramic nanoparticulate cement in primary human mesenchymal cells. J Endod 2009;5:1387-90.
20. Perdigão J, Van Meerbeek B, Lopes MM, Ambrose WW. The effect of a re-wetting agent on dentin bonding. Dent Mater 1999;15:282-95.
21. Hench LL, Bioceramics: From Concept to Clinic. J Am Ceram 1991;74:1487-510.

22. Tay FR, Pashley DH, Rueggeberg FA, Loushine RJ, Weller RN. Calcium phosphate phase transformation produced by the interaction of Portland cement component of white mineral trioxide aggregate with a phosphate-containing fluid. *J Endod* 2007;33:1347-51.
23. Martin RL, Monticelli F, Brackett WW, Loushine RJ, Rockman RA, Ferrari M, Pashley DH, Tay FR. Sealing properties of mineral trioxide aggregate orthograde apical plugs and root fillings in an in vitro apexification model. *J Endod* 2007;33:272-5.
24. Parirokh M, Askarifard S, Mansouri S, Haghdoost AA, Raoof M, Torabinejad M. Effect of phosphate buffer saline on coronal leakage of mineral trioxide aggregate. *J Oral Sci* 2009;51:187-91.
25. Saboia V de PA, Saito SK, Pimenta LAF. Aspectos micromorfológicos da interface adesiva em função da variação no preparo do espécime. *Pesqui Odontol Bras* 2000;14:340-4.
26. Han L, Okiji T. Uptake of calcium and silicon released from calcium silicate-based endodontic materials into root canal dentine. *Int Endod J* 2011;44:1081-7.

## REFERÊNCIAS<sup>1</sup>

ALANEZI, A.Z. et al. Cytotoxicity evaluation of endosequence root repair material. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology**, St. Louis, v.109, n.3, p.122-125, Mar. 2010.

AL-HEZAIMI, K. et al. Human saliva penetration of root canals obturated with two types of mineral trioxide aggregate cements. **Journal of Endodontics**, Baltimore v.31, p.453–456, 2005.

ASGARY, S. et al. Chemical differences between white and gray mineral trioxide aggregate **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.31, p.101–103, 2005.

BONSON, S.; JEANSONNE, B.G.; LALLIER, T.E. Root-end filling materials alter fibroblast differentiation. **Journal of Dental Research**, Washington, v.83, n.5, p.408-13, May 2004.

BORTOLUZZI, E.A. et al. The use of a setting accelerator and its effect on pH and calcium ion release of mineral trioxide aggregate and white Portland cement. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.32, n.12, p.1194-1197, Dec. 2006.

BOZEMAN, T.B.; LEMON, R.R.; ELEAZER, P.D. Elemental analysis of cristal precipitate from gray and white MTA. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.32, 425-428, 2006.

CAMILLERI, J. et al. Dynamic sealing of MTA root canal sealer. **International Endodontic Journal**, Oxford, v.43, n.9, p. 1-12, July 2010.

DAMAS, B.A. et al. Cytotoxicity Comparison of Mineral Trioxide Aggregates and EndoSequence Bioceramic Root Repair Materials. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.37, n.3, p.372-375, 2011.

---

<sup>1</sup> Baseada na NBR 6023: 2002 da ABNT

DE-DEUS, G. et al. Optimal cytocompatibility of a bioceramic nanoparticulate cement in primary human mesenchymal cells. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.5, n.10, p.1387-1390, 2009.

DIAROOT DiaDent Group International, BC, Canadá.

DOHAITHEM, A. et al. An in vitro evaluation of antifungal activity of bioaggregate. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology**, St. Louis, v.112, n.4, p.27-30, Oct. 2011.

DUARTE, M.A. et al. PH and calcium ion release of 2 root-end filling materials. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology**, St. Louis, v.95, n.3, p.345-347, Mar. 2003.

DREGER, L.A.S. et al. Mineral trioxide aggregate and Portland cement promote biomineralization *in vivo*. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.38, n.3, p.324-329, Mar. 2012.

ECONOMIDES, N. et al. Short-term periradicular tissue response to mineral trioxide aggregate (MTA) as root-end filling material. **International Endodontic Journal**, Oxford, v.36, n.1, p.44-48, Jan. 2003.

ERSAHAN S.; AYDIN C. Dislocation resistance of iRoot SP, a calcium silicate-based sealer, from radicular dentine. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.36, p.2000-2002, 2010.

ESTRELA, C. et al. Antimicrobial and chemical study of MTA, Portland cement, calcium hydroxide paste, Sealapex and Dycal. **Brazilian Dental Journal**, Ribeirão Preto, v.11, n.1, p.3-9, 2000.

FARACO, I. M.Jr.; HOLLAND, R. Response of the pulp of dogs to capping with mineral trioxide aggregate or a calcium hydroxide cement. **Dental Traumatology**, Copenhagen, v.17, n.4, p.163-166, Aug. 2001.

FELIPPE, W.T.; FELIPPE, M.C.; ROCHA, M.J.C. The effect of mineral trioxide aggregate on the apexification and periapical healing of teeth with incomplete root formation. **International Endodontic Journal**, Oxford, v.39, n.1, p.2-9, Jan. 2006.

FRIDLAND, M.; ROSADO, R. Mineral trioxide aggregate (MTA) solubility and porosity with different water-to-powder ratios. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.29, n.12, p.814-817, Dec. 2003.

GANDOLFI, M.G. et al. Apatite-forming ability (bioactivity) of ProRoot MTA. **International Endodontic Journal**, Oxford, p1-13, May 2010.

GHONEIM, A.G. et al. Resistance to fracture of roots obturated with novel canal-filling systems. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.37, n.11, p.1590-1592, 2011.

HACHMEISTER, D.R. et al. The sealing ability and retention characteristics of mineral trioxide aggregate in a model of apexification. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.28, n.5, p.386-390, May 2002.

HAN, L.; OKIJI, T. Uptake of calcium and silicon released from calcium silicate-based endodontic materials into root canal dentine. **International Endodontic Journal**, Oxford, v.44, n.12, p.1081-1087, 2011.

HENCH, L.L. Bioceramics: From Concept to Clinic. **Journal of American Ceramics Society**, Malden, v.74, p.1487-1510, July 1991.

HOLLAND, R. et al. Healing process of dog dental pulp after pulpotomy and pulp covering with mineral trioxide aggregate or Portland cement. **Brazilian Dental Journal**, Ribeirão Preto, v.12, n.2, p.109-113, 2001.

KETTERING, J.D.; TORABINEJAD, M. Investigation of mutagenicity of mineral trioxide aggregate and other commonly used root-end filling materials. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.21, n.11, p.537-539, Nov. 1995.

KOCH, K.A.; BRAVE, G.D. A new day has dawned. **Dentaltown Magazine**, v.10, n.4, p.39-43, 2009.

KOCH K.A.; BRAVE DG.; NASSEH A.A. Bioceramic technology: closing the endo-restorative circle, Part I. **Dentistry Today**, v.29, n.2, p.100-105, 2010.

KOH, E.T. et al. Cellular response to mineral trioxide aggregate. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.24, n.8, p.543-547, Aug. 1998.

LEAL, F. et al. Comparison of the root-end seal provided by bioceramic repair cements and White MTA. **International Endodontic Journal**, Oxford, v.44, p.662-668, 2011.

LEE, S.J.; MONSEF, M.; TORABINEJAD, M. Sealing ability of mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforations. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.19, n.11, p.541-544, Nov. 1993.

LEE, Y.L. et al. Effects of physiological environments on the hydration behavior of mineral trioxide aggregate. **Biomaterials**, Oxford, v.25, n.5, p.787-793, Feb. 2004.

MA, J. et al. Biocompatibility of two novel root repair materials. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.37, n.6, p.793-798, 2011.

MARTIN, R. et al. Sealing properties of mineral trioxide aggregate orthograde apical plugs and root fillings in an in vitro apexification model. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.33, n.3, p.272-275, Mar. 2007.

MTA ANGELUS. Cimento reparador: indicações e técnica de uso. Londrina, Soluções em Odontologia. 2010.

MENEZES, R. et al. Histologic evaluation of pulpotomies in dog using two types of mineral trioxide aggregate and regular and white Portland cements as wound dressings. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology**, St. Louis, v.98, n.3, p.376-379, 2004.

MORETTON, T.R. et al. Tissue reactions after subcutaneous and intraosseous implantation of mineral trioxide aggregate and ethoxybenzoic acid cement. **J. Biomed. Mater. Res.**, New York, v.52, n.3, p.528-533, Oct./Dec. 2000.

MORGENTAL, R.D. et al. Antibacterial activity of two MTA-based root canal sealers **International Endodontic Journal**, Oxford, v. 44, n. 12, p. 1128-1133, Sep. 2011.

NAIR, U. et al. A comparative evaluation of the sealing ability of 2 root-end filling materials: an in vitro leakage study using *Enterococcus faecalis*. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology**, St. Louis, v.112, p.74-77, 2011.

PARIROKH, M. et al. Effect of phosphate buffer saline on coronal leakage of mineral trioxide aggregate. **Journal of Oral Science**, Tokyo v.51, n.2 p.187-191, Feb. 2009.

PARIROKH, M.; TORABINEJAD, M. A comprehensive literature review-part I: chemical, physical, and antibacterial properties. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.36, n.1, p.16-27, Jan. 2010.

PARK, J-W. et al. X-Ray diffraction analysis of White ProRoot MTA and Diadent BioAggregate. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology**, St. Louis, v.109, p.155-158, 2010.

PERDIGÃO, J. et al. The effect of a re-wetting agent on dentin bonding. **Dental Materials**, Kidlington, v.15, n.4, p.282-295, 1999.

PROROOT MTA (Mineral Trioxide Aggregate) **Root canal repair material water**: directions for use. Tulsa, Dentsply-Maillefer, Tulsa Dental, 2002.

REYES-CARMONA, J.F.; FELIPPE, M.S; FELIPPE, W.T. Biomineralization ability and interaction of Mineral Trioxide Aggregate and White Portland Cement with dentin in a phosphate-containing fluid. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.35, n.5, p.731-736, 2009.

REYES-CARMONA, J.F.; FELIPPE, M.S; FELIPPE, W.T. The biomineralization ability of mineral trioxide aggregate and Portland cement on dentin enhances the push-out strength. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.36, n.2, p.286-291, 2010a.

REYES-CARMONA, J.F.; FELIPPE M.S; FELIPPE, W.T. PBS Intracanal dressing improves the biomineralization ability of MTA apical plugs. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.36, n.10, p.1648-1652, 2010b.

REYES-CARMONA, J.F. et al. Host–mineral trioxide aggregate inflammatory molecular signaling and biomineralization ability. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.36, n.8, p.1347-1353, 2010.

ROY, C. O.; JEANSONNE, B. G.; GERRETS, T. F. Effect of an acid environment on leakage of root-end filling materials. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.27, n.1, p.7-8, Jan. 2001.

SABOIA, V. de P.A.; SAITO, S.K.; PIMENTA, L.A.F. Aspectos micromorfológicos da interface adesiva em função da variação no preparo do espécime. **Pesquisa Odontológica Brasileira**, v.14, n.4, p.340-344, out./dez. 2000.

SAGSEN, B. et al. Push-out bond strength of two new calcium silicate-based endodontic sealers to root canal dentine. **International Endodontic Journal**, Oxford, v.44, n.12, p.1088-1091, 2011.

SANTOS, A.D. et al. Physicochemical properties of MTA and a novel experimental cement. **International Endodontic Journal**, Oxford, v.38, p.443-447, 2005.

SARKAR, N.K. et al. Physicochemical basis of the biological properties of Mineral Trioxide Aggregate. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.31, n.2, p.97-100, 2005.

SCARPARO, R.K. et al. Mineral Trioxide Aggregate-sealer: analysis of tissue reactions to a new endodontic material. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.36, n.7, p.1174-1178, 2010.

SCHWARTZ, R.S. et al. Mineral trioxide aggregate: a new material for endodontics. **Journal of American Dental Association**, Chicago, v.130, n.7, p.967-975, July 1999.

SLUYK, S.; MOON, P. C.; HARTWELL, G. R. Evaluation of setting properties and retention characteristics of mineral trioxide aggregate when used as a furcation perforation repair material. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.24, n.11, p.468-471, Nov. 1998.

TANG, H.M.; TORABINEJAD M.; KETTERING J. Leakage evaluation of root end filling materials using endotoxin. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.28, n.1, p.5-7, Jan. 2002.



TAY, F.R. et al. Calcium phosphate phase transformation produced by the interaction of the Portland Cement component of White Mineral Trioxide Aggregate with a phosphate-containing fluid. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.22, n.11, p.1347-1351, 2007.

THOMSON, T.S. et. al. Cementoblasts maintain expression of osteocalcin in the presence of mineral trioxide aggregate. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.29, n.6, p. 407-412, June 2003.

TORABINEJAD, M.; WATSON, T.F.; PITT FORD, T.R. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate when used as a root end filling material. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.19, n.12, p.591-595, 1993.

TORABINEJAD, M. et al. Dye leakage of four root end filling materials: effects of blood contamination. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.20, n.4, p.159-163, Apr. 1994.

TORABINEJAD, M. et al. Bacterial leakage of mineral trioxide aggregate as a root-end filling material. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.21, n.3, p.109-112, Mar. 1995a.

TORABINEJAD, M. et al. Physical and Chemical properties of a new root-end filling material. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.21, n.7, p.349-353, 1995b.

TORABINEJAD, M. et. al. Antibacterial effects of some root end filling materials. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.21, n.8, p.403-406, Aug. 1995c.

TORABINEJAD, M. et al. Investigation of mineral trioxide aggregate for root end filling in dogs. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.21, n.12, p.603-608, Dec. 1995d.

TORABINEJAD, M. et al. Histologic assessment of mineral trioxide aggregate as a root-end filling in monkeys. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.23, n.4, p.225-228, Apr. 1997.

TORABINEJAD, M.; CHIVIAN, N. Clinical applications of mineral trioxide aggregate **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.25, n.3, p.197-205, 1999.

TUNA, E.B. et al. Fracture resistance of immature teeth filled with BioAggregate, mineral trioxide aggregate and calcium hydroxide. **Dental Traumatology**, v. 27, p. 174–178, Fev. 2011.

TZIAFAS, D. et al. The dentinogenic effect of mineral trioxide aggregate (MTA) in short-term capping experiments. **International Endodontic Journal**, Oxford, v.35, n.3, p.245-254, Mar. 2002.

ULUSOY, Ö.İ.; NAYR, Y.; DARENDELILER-YAMAN, S. Effect of different root canal sealers on fracture strength of simulated immature roots. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology**, St. Louis, v.112, n.4, p.544-547, Oct. 2011.

VALOIS, C.R.; COSTA, E.D.Jr. Influence of the thickness of mineral trioxide aggregate on sealing ability of root-end filling in vitro. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology**, St. Louis, v.97, n.1, p.108-111, Jan. 2004.

WU, M.K.; KONTAKIOTIS, E.G.; WESSELINK, P.R.; Long-term seal provided by some root-end filling materials. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.24, n.8, p.557-560, Aug. 1998.

YAN, P. et al. Effect of bioaggregate on differentiation of human periodontal ligament fibroblasts. **International Endodontic Journal**, Oxford, v.43, p.1116–1121, 2010.

YUAN, Z. et al. Effect of bioaggregate in mineral-associated gene expression in osteoblast cells. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.36, n.7, p.1145-1148, 2010.

ZHANG, H.; PAPPEN, F.G.; HAAPASALO, M. Dentin enhances the antibacterial effect of mineral trioxide aggregate and bioaggregate. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.35, n.2, p.221-224, 2009.

ZHANG, H. et al. Antibacterial activity of endodontic sealers by modified direct contact test against *enterococcus faecalis*. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.35, n.7, p.1051-1055, 2009.

ZHANG, W.; LI, Z.; PENG, B. Assessment of a new root canal sealer's apical sealing ability. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology**, St. Louis, v.107, n.6, p.79-82, 2009.

ZHANG, W.; LI, Z.; PENG, B. Effects of iRoot SP on mineralization-related genes expression in MG63 cells. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.36, n.12, p.1978-1982, 2010a.

ZHANG, W.; LI, Z.; PENG, B. Ex vivo cytotoxicity of a new calcium silicate-based canal filling material. **International Endodontic Journal**, Oxford, v.43, p.769-774, 2010b.



## ANEXO

## A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos - UFSC



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
Pró-Reitoria de Pesquisa e Extensão  
Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos

**CERTIFICADO** Nº 2166

O Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEPSH) da Pró-Reitoria de Pesquisa e Extensão da Universidade Federal de Santa Catarina, instituído pela PORTARIA N.º 0584-GR/99 de 04 de novembro de 1999, com base nas normas para a constituição e funcionamento do CEPSH, considerando o contido no Regimento Interno do CEPSH, **CERTIFICA** que os procedimentos que envolvem seres humanos no projeto de pesquisa abaixo especificado estão de acordo com os princípios éticos estabelecidos pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP.

**APROVADO**

PROCESSO: 2166      FR: 445500

**TÍTULO:** Cimentos à base de MTA: análise da biocompatibilidade e da interface cimento/dentina.

**AUTOR:** Elma Fiat Correa Rêvero, EDUARDO ANTUNES BORTOLUZZI, CLAUDIA CAROLINE BOSIO, GABRIELA SANTOS FELIPPE

FLORIANÓPOLIS, 03 de Outubro de 2011.

\_\_\_\_\_  
Coordenador do CEPSH UFSC



**B – Parecer da Comissão de Ética no Uso de Animais - UFSC****Resultado de Solicitação de Protocolo****Protocolo**

PP00555

**Título**

Cimentos à base de MTA: análise da biocompatibilidade e da interface cimento/dentina

**Data de Entrada**

21/10/2010

**Resultado:**

Aprovado

**Data/Prazo**

03/12/2010

**Considerações**

Ofício nº 254/CEUA/PRPE/2010

Do: Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais-CEUA

Ao(à): Prof(a) Dr(a) Eduardo Antunes Bortoluzzi, Departamento de Odontologia – CCS

Prezado(a) Professor(a),

Em relação ao protocolo de pesquisa sob sua responsabilidade a CEUA deliberou o seguinte:

- APROVADO, por dois ano(s), para a utilização de trinta e quatro ratos (*Rattus Norvegicus*).

- Procedência do animal: Biotério Central da UFSC.

- Processo cadastrado sob o número: 23080.040917/2010-80

Por ocasião do término desse protocolo, DEVERÁ SER


APRESENTADO RELATÓRIO detalhado relacionando o uso de animais no Projeto desenvolvido aos resultados obtidos, conforme formulário ONLINE CEUA.

Atenciosamente,

**Relatório Final previsto para (90 dias após término da vigência do protocolo ou no momento da apresentação de um novo protocolo)  
Data 10/03/2013**

Data 10/12/2010

**Parecer(es):**



**Prof. Assoc. Carlos Rogério Tonussi, D.Sc.  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – PRPE – UFSC  
PRESIDENTE**