

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
Faculdade de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Odontologia



Dissertação de Mestrado

AVALIAÇÃO DE PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DE CIMENTOS
BIOCERÂMICOS EM CULTURA DE CÉLULAS OSTEOBLÁSTICAS
HUMANAS E UM RELATO DE SUA APLICAÇÃO CLÍNICA EM PERFURAÇÃO
RADICULAR.

Marcos Coelho Santiago

Brasília 10 de março de 2020

Marcos Coelho Santiago

AVALIAÇÃO DE PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DE CIMENTOS
BIOCERÂMICOS EM CULTURA DE CÉLULAS OSTEABLÁSTICAS
HUMANAS E UM RELATO DE SUA APLICAÇÃO CLÍNICA EM PERFURAÇÃO
RADICULAR.

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Odontologia da
Faculdade de Ciências da Saúde da
Universidade de Brasília, como requisito
parcial à obtenção do título de Mestre em
Odontologia

Orientadora: Prof. Dra. Loise Pedrosa Salles

Brasília, 2020

Marcos Coelho Santiago

AVALIAÇÃO DE PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DE CIMENTOS
BIOCERÂMICOS EM CULTURA DE CÉLULAS OSTEÓBLÁSTICAS
HUMANAS E UM RELATO DE SUA APLICAÇÃO CLÍNICA EM PERFURAÇÃO
RADICULAR.

Dissertação aprovada, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Odontologia, Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

Data da defesa: 10 de março de 2020

Banca examinadora:

Prof. Dr. Loise Pedrosa Salles (Orientador)

Prof. Dr. Laudimar Alves de Oliveira

Prof. Dr. Rodrigo Ricci Vivan

Aos meus pais Edmond e Ester por sempre acreditarem em mim e me apoiarem nas decisões mais importantes. Aos meus irmãos Lucas e Marina e a Thais que apesar dos períodos difíceis sempre me incentivaram para que essa conquista se tornasse possível.

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora, Prof. Dra. Loise Pedrosa Salles, pelos ensinamentos, por me apresentar o mundo da pesquisa laboratorial e principalmente por ser um exemplo de pessoa com entusiasmo, dedicação e profissionalismo. Obrigado pelo carinho e atenção de sempre. Você é uma inspiração para mim.

A minha família, por sempre acreditar em mim me dando força para alcançar meus objetivos: Pai, Mãe, Lucas e Marina muito obrigado.

Ao meu colega de mestrado e amigo Marcio Amaral, pela parceria de sempre.

Aos amigos da Equipe Master Rodrigo Aucélio e Marcio Alex, pelo incentivo de sempre buscar novas conquistas.

Ao amigo e incentivador Prof. Dr. Laudimar Alves de Oliveira, pelo exemplo de profissional e inteligência.

Ao Rafael que apesar de chegar quase no final do meu trabalho não poupou esforços em me auxiliar durante a prática laboratorial.

A todos os docentes do programa de Pós-Graduação em Odontologia, em especial a Prof. Dra. Nailê Damé Teixeira pelo incentivo a pesquisa.

Ao Prof. Dr. Fernando Araripe por abrir as portas do laboratório de biologia molecular e viabilizar grande parte dos experimentos dessa pesquisa.

Aos amigos da pós-graduação Yasmin, Suellen, Carlos Alexandre, Carina, Cecília, Giulia, Patrícia e Raquel pela parceria durante essa jornada.

Ao meu amigo e sócio (sim, isso é possível!) Artur, por manter a administração e funcionamento da nossa clínica. E principalmente pela amizade, companheirismo e apoio em minhas decisões.

As amigas e parceiras Silvana, Adriana, Amanda e Isabela por organizar tudo que podiam na minha ausência, não poupando esforços para me ajudar sempre que precisei.

Ao Gustavo Henrique Salles, por colaborar na excussão dos experimentos.

RESUMO

Atualmente o agregado de trióxido mineral (MTA) ainda é considerado o material de escolha para o tratamento reparador de perfuração radicular e cirurgias apicais. Ao longo dos anos esse material vem sendo aperfeiçoado, o que culminou na consolidação dos cimentos biocerâmicos para esse tipo de tratamento. Seu potencial bioativo e resistência a umidade também o credenciam como cimento obturador do sistema de canais radiculares. O objetivo desse estudo foi avaliar as propriedades biológicas dos cimentos biocerâmicos em cultura de células osteoblásticas humanas e relatar um caso clínico de tratamento de perfuração radicular com cimento obturador biocerâmico. O estudo foi dividido em 5 capítulos: No capítulo 1, foi apresentada uma introdução sobre a complexidade do tratamento endodôntico e a necessidade do desenvolvimento de materiais biocompatíveis tanto para obturação de canais radiculares quanto para tratamentos mais complexos como perfurações radiculares, lesões apicais persistentes, tratamentos regenerativos, ápices incompletos dentre outras. Uma revisão da literatura também foi realizada com pesquisas atuais que contribuíram para a execução deste trabalho. No capítulo 2, foi apresentado um estudo sobre a biocompatibilidade e bioatividade de cimentos biocerâmicos em cultura de células do tipo osteoblastos humanos (Saos-2). O objetivo deste trabalho foi avaliar a biocompatibilidade e a bioatividade de dois novos cimentos biocerâmicos reparadores, Bio-C® Repair e PBS HP®, que foram recentemente disponibilizados com a promessa de apresentarem propriedades biológicas superiores aos cimentos convencionais. Foram realizados experimentos para avaliação da viabilidade celular (MTT), proliferação celular (ensaio de *Wound Healing*) e bioatividade por PCR em tempo real (qPCR) dos genes marcadores de osteogênese (*BGLAP*, *ALPL* e *BSP*). A atividade enzimática (ALP) também foi aferida. O capítulo 3 é o relato retrospectivo de um caso clínico de tratamento de perfuração radicular no terço apical de um molar inferior com o cimento biocerâmico EndoSequence BC Sealer. O paciente foi inicialmente encaminhado para tratamento cirúrgico. Entretanto, diante dos estudos demonstrando excelentes propriedades

biológicas dos cimentos biocerâmicos, optou-se por um tratamento conservador com o Endosequence BC sealer. Este relato de caso teve preservação por 3 anos. Condições clínicas como perfurações radiculares apresentam prognóstico desfavorável por afetar significativamente o periodonto e ser de difícil reparo sem uma intervenção cirúrgica. Os cimentos obturadores biocerâmicos surgiram como uma alternativa conservadora para tratamentos de perfuração desde que seja possível a descontaminação e selamento da área afetada. Nos capítulos 4 e 5 foram apresentadas as considerações finais sobre os cimentos biocerâmicos e um *press release* respectivamente.

Palavras-chave: Tratamento do Canal Radicular. Cimento de Silicato. Cimentos Dentários. Obturação do Canal Radicular

ABSTRACT

Currently, the mineral trioxide aggregate (MTA) is still considered the material of choice for the repair of root perforation and apical surgeries. Over the years, this material has been improved, which culminated in the consolidation of bioceramic cements for this type of treatment. Its bioactive potential and resistance to moisture also qualify it as a filling cement for the root canal system. The objective of this study was to evaluate the biological properties of bioceramic cements in human osteoblastic cell culture and to report a clinical case of root perforation treatment with bioceramic sealer. The study was divided into 5 chapters: In chapter 1, an introduction was presented on the complexity of endodontic treatment and the need for the development of biocompatible materials for both root canal filling and for more complex treatments such as root perforations, persistent apical lesions, treatments regenerative, incomplete apices among others. A literature review was also carried out with current research that contributed to the execution of this work. In chapter 2, a study was presented on the biocompatibility and bioactivity of bioceramic cements in human osteoblast cell culture (Saos-2). The objective of this work was to evaluate the biocompatibility and bioactivity of two new bioceramic repair cements, Bio-C® Repair and PBS HP®, which were recently made available with the promise of presenting superior biological properties than conventional cements. Experiments were carried out to evaluate cell viability (MTT), cell proliferation (Wound Healing assay) and bioactivity by real-time PCR (qPCR) of osteogenesis marker genes (*BGLAP*, *ALPL* and *BSP*). Enzymatic activity (ALP) was also measured. Chapter 3 is a retrospective report of a clinical case of treatment of root perforation in the apical third of a mandibular molar with the bioceramic EndoSequence BC Sealer. The patient was initially referred for surgical treatment. However, in view of studies showing excellent biological properties of bioceramic cements, a conservative treatment with Endosequence BC sealer was chosen. This case report was follow-up for 3 years. Clinical conditions such as root perforations have an unfavorable prognosis because it significantly affects the periodontium and is difficult to repair without surgical intervention. Bioceramic filling cements have emerged as a conservative alternative for drilling treatments as long as decontamination and sealing of the affected area is possible. Chapters

4 and 5 presented the final considerations on bioceramic cements and a press release respectively.

Keywords: Silicate Cement. Root Canal Filling Materials. Root Canal Obturation. Dental Cements

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Capítulo 2

Tabela 1 - Cimentos endodônticos, composição e presa inicial	40
Figura 1 - Gráfico de viabilidade celular.....	45
Figura 2 A - Gráfico de área do <i>Wound Healing</i> coberta por células	47
Figura 2 B - Gráfico de velocidade de proliferação celular	47
Figura 3 - <i>Wound Healing</i> assay	48
Figura 4 - Gráficos do <i>fold</i> de expressão dos genes <i>BGLAP</i> , <i>ALPL</i> e <i>BSP</i>	49
Figura 5 - Gráfico de atividade da fosfatase alcalina	50
Tabela 2 - Média da atividade de fosfatase alcalina.	51

Capítulo 3

Figura 1 A - Tomografia com imagem evidenciando o desvio e perfuração	68
Figura 1 B - Perfuração do canal mésiolingual	68
Figura 2 A - Desvio da luz do canal e da perfuração da raiz mesiolingual.....	69
Figura 2 B - Lima manual pré-curvada retomando o trajeto original do canal	69
Figura 3 A - K #10 inserida 1mm além do forame e acoplada ao motor oscilatório	70
Figura 3 B - Instrumento #25/06 sistema prodesign M	70
Figura 4 A - Radiografia imediatamente após a finalização do tratamento.....	71
Figura 4 B - Radiografia 12 meses após a obturação dos condutos	71
Figura 4 C - Radiografia após 36 meses sugerindo reparo apical	72

TABELA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

MTA	Agregado Trióxido Mineral
CaSiO	Silicato de Cálcio
BiO	Óxido de Bismuto
CaCO	Carbonato de Cálcio
CaSO	Sulfato de Cálcio
CaAlO	Aluminato de Cálcio
MTT	{brometo de [3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-difenil tetrazolium]}
FTIR	Fourier transform infrared
XRD	X-ray diffraction
Bio-C	Bio-C® Repair
PBS-HP	PBS HP®
MTA-HP	MTA Repair-HP
ProRoot	ProRoot® MTA
NeoMTA-P	NeoMTA Plus®
ZOE	Cimento de Óxido de Zinco e Eugenol
CT	Grupo controle
ALPL	<i>Alkaline phosphatase tissue-nonspecific gene</i>
PCR	<i>Polimerase chain reaction</i> (reação de polimerização em cadeia)
qPCR	<i>Real time PCR</i> (reação de polimerização em cadeia em tempo real)
BGLAP	<i>Bone gamma-carboxyglutamic acid-containing protein gene</i>
BSP	<i>Bone Sialoprotein gene</i>
HA	Hidroxiapatita
DMEM	Meio Dulbecco Eagle Modificado
SFB	Soro Fetal Bovino
GAPDH	<i>Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase gene</i>
PBS	<i>Phosphate Buffered Saline</i> (Tampão fosfato-salino)

ALP	Enzima Fosfatase Alcalina
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
CaSR	Receptores extracelulares sensíveis a cálcio
L929	Linhagem de fibroblastos embrionários de camundongos
Saos-2	Linhagem celular de osteosarcoma humano
FMM1	Linhagem de fibroblastos da mucosa oral humana
MC3T3-E1	Linhagem de células osteoblásticas de rato
ANOVA	Teste de análise de variância
IRM	<i>Intermediate Restorative Material</i>
Ca ⁺²	Íons cálcio
cAMP	Adenosina 3',5'-monofosfato cíclico/mensageiro celular
Atf6	Fator 6 de transcrição
DNA	Ácido desoxirribonucleico
RNA	Ácido ribonucleico

SUMÁRIO

1. CAPÍTULO 1	
1.1 INTRODUÇÃO.....	15
1.2 REVISÃO DA LITERATURA	17
1.2.1 CIMENTOS BIOCERÂMICOS REPARADORES	17
1.2.2 CIMENTOS BIOCERÂMICOS OBTURADORES	21
1.3 OBJETIVOS.....	25
1.4 REFERÊNCIAS	26
2. CAPÍTULO 2	
2.1 INTRODUÇÃO.....	37
2.2 MATERIAL E MÉTODOS	39
2.3 RESULTADOS	44
2.4 DISCUSSÃO.....	52
2.5 CONCLUSÃO	56
2.6 REFERÊNCIAS	58
3. CAPÍTULO 3	
3.1 INTRODUÇÃO.....	65
3.2 RELATO DE CASO	67
3.3 DISCUSSÃO.....	72
3.4 CONCLUSÃO	75
3.5 REFERÊNCIAS	76
4. CAPÍTULO 4	
4.1 DISCUSSÃO GERAL	79
4.2 CONCLUSÕES.....	81
5. CAPÍTULO 5 Press Release	82
ANEXOS.....	83

CAPÍTULO 1

1.1 INTRODUÇÃO

A polpa radicular é responsável pela vitalidade e nutrição dentária. Entretanto, em casos onde não há a possibilidade de manter essa vitalidade o tratamento endodôntico se faz necessário. Os objetivos da terapia endodôntica são em síntese: o debridamento, a desinfecção, preparo biomecânico e obturação do sistema dos canais radiculares [1]. Alguns fatores são determinantes para o sucesso do tratamento endodôntico, entre eles, a eliminação de microrganismos, seus subprodutos e, principalmente, o selamento hermético do sistema de canais radiculares com um material que favoreça o reparo dos tecidos adjacentes [1].

Outro aspecto essencial para o sucesso do tratamento endodôntico, é o conhecimento adequado da complexidade anatômica dos dentes e estruturas adjacentes. [2]. A anatomia complexa; com existência de canais acessórios, deltas apicais, curvaturas acentuadas, istmos e ramificações das mais diferentes formas; dificulta o tratamento [2]. É importante ressaltar que a inexperiência profissional, a falta de conhecimento da anatomia dentária interna e a consequente recontaminação do interior dos condutos, são as causas mais comuns dos insucessos em perfurações radiculares e lesões apicais persistentes [3]. O prognóstico do tratamento de perfurações radiculares varia principalmente de acordo com a localização e possibilidade de acesso direto ao local atingido. Independentemente do motivo, o tratamento das perfurações consiste em localização, descontaminação e preenchimento com material biocompatível com capacidade de vedamento, insolúvel e tolerante à umidade [4]. Perfurações radiculares no terço apical tendem a ser mais complexas. O acesso direto e a sua visualização são prejudicados por se situarem habitualmente em regiões de curvatura radicular, dificultando a aplicação via canal de qualquer material reparador na região afetada. Diante disso, o cimento obturador ou reparador deve ser de fácil manipulação e possibilitar sua inserção no local da perfuração. Ou seja, a retomada do conduto original e principalmente sua descontaminação são essenciais para que se crie condições favoráveis ao reparo [2,3]. De uma maneira geral, perfurações radiculares não tratadas, lesões

apicais persistentes, tratamentos regenerativos e dentes com ápices incompletos configuram como situações complexas em Endodontia. Além da habilidade profissional, materiais biocompatíveis e preferencialmente bioativos são desejáveis. O reparo das estruturas atingidas depende diretamente das propriedades biológicas dos materiais que estimulam a proliferação e atividade de células cementoblásticas e osteoblásticas [5,6].

As propriedades biológicas apresentadas pelo material obturador ou reparador são de fundamental importância para o sucesso da terapia endodôntica. Com o passar dos anos, novos materiais foram desenvolvidos tanto para obturação de canais radiculares quanto para selamento de perfurações. Assim, o amálgama, cimentos de ionômero de vidro, cimentos à base de resina e cimentos à base de óxido de zinco-eugenol entraram em desuso [7,8]. Na década de 90, o Agregado Trióxido Mineral (MTA), material capaz de preencher alguns dos requisitos biológicos fundamentais surgiu no mercado para uso odontológico [9]. Inicialmente desenvolvido como material retro-obturador, o MTA foi apontado por vários estudos como o melhor material para cirurgias apicais e selamento de perfurações radiculares. Ao longo do tempo cimentos obturadores também foram lançados com MTA em sua composição [9].

Cimentos obturadores e reparadores a base de MTA vêm sendo aprimorados nos últimos anos e alguns estudos já demonstraram excelentes resultados. O MTA, considerado o biocerâmico de primeira escolha para o tratamento de perfurações radiculares, vem ganhando destaque na endodontia principalmente em relação às suas propriedades biológicas. Neste ponto é importante explicar que esses cimentos fazem referência a um material cerâmico de uso biológico, inerte ou bioativo [9,10]. Os biocerâmicos têm aplicações na medicina e odontologia com relatos desde a década de 70 [11]. Utilizados inicialmente para recobrimento de metais, os cimentos biocerâmicos são compostos principalmente por fosfato de cálcio, silicato de cálcio, cerâmicas de vidro, alumina, zircônia e hidroxiapatita que conferem a ele biocompatibilidade e bioatividade [10,12,13].

Os cimentos biocerâmicos têm sido apresentados como alternativa ao MTA com a premissa de terem propriedades físico-químicas e biológicas superiores às do MTA [14]. À medida que novos biocerâmicos vão surgindo, estudos comparativos quanto a superioridade de efetividade de um ou outro tipo de

cimento reparador são necessários. Os estudos em cultura de células, em modelos animais e relatos de casos fornecem conhecimentos relevantes que contribuem de forma científica com o aprimoramento da Endodontia e direcionam a escolha do material ideal para cada situação clínica. Diante dessa premissa, o objetivo deste trabalho foi avaliar a biocompatibilidade e o potencial bioativo dos novos cimentos endodônticos biocerâmicos em cultura de células ósseas humanas e relatar um caso clínico em que foi utilizado um cimento biocerâmico lançado no mercado em 2014 [5].

1.2 REVISÃO DE LITERATURA

A obturação do sistema de canais radiculares e o tratamento de complicações advindas do tratamento endodôntico estimularam vários estudos ao longo tempo. Grosman *et al.* (1988) [15] resumiu as características ideais de um cimento endodôntico, porém, atualmente nenhum material apresenta-se totalmente satisfatório [16]. Os cimentos biocerâmicos surgiram recentemente com propriedades que tendem a se aproximar das ideais [17]. São compostos cerâmicos biocompatíveis provenientes de processamentos químicos que resultam em uma substância biocompatível com comportamento semelhante ao processo de formação de hidroxiapatita com capacidade de induzir uma resposta reparadora [17]. Recentemente, a utilização dos cimentos biocerâmicos em tratamentos endodônticos de rotina e suas complicações vem se tornando mais frequentes. As propriedades conferidas a esse material como biocompatibilidade, capacidade de manter o pH elevado, facilidade de manipulação, tolerância a umidade e estabilidade dimensional vem sendo relatada em vários estudos [13,17,18].

1.2.1 CIMENTOS BIOCERÂMICOS REPARADORES

Pesquisas sobre os cimentos biocerâmicos e MTA em comparação a outros cimentos mais antigos no mercado vem sendo realizados ao longo dos últimos anos. Os resultados evidenciam principalmente a melhor biocompatibilidade, a

boa capacidade de selamento e principalmente a tolerância a umidade de ambos os materiais [19,20]. O MTA é composto por silicato de cálcio (CaSiO), óxido de bismuto (BiO), carbonato de cálcio (CaCO), sulfato de cálcio (CaSO) e aluminato de cálcio (CaAlO). Após hidratação, o material se solidifica em cristais discretos em matriz amorfa. Esses cristais são compostos por óxido de cálcio, e a região amorfa é composta de 33% de cálcio, 49% de fosfato, 2% de carbono, 3% de cloreto e 6% de sílica [19]. Já os cimentos biocerâmicos, por sua vez, são compostos por silicatos tricálcicos e dicálcicos, fosfatos de cálcio, hidróxido de cálcio e óxido de zircônia como radiopacificador. Igualmente, iniciam sua presa na presença de umidade e estão disponíveis em duas formas: pó-líquido ou “prontos para uso” [21].

Um dos primeiros produtos a base de MTA comercializados foi o ProRoot® MTA. Ainda na cor cinza e com metais em sua composição apresentava como limitação alteração cromática dos dentes tratados. Posteriormente, uma versão branca foi lançada sem alumínio e arsênio e viu-se a possibilidade de cimentos mais puros a base de silicato de cálcio substituindo a fórmula original do cimento Portland [5]. Essa versão branca apresenta de acordo com a literatura capacidade de manutenção do alto pH favorecendo o reparo e neoformação óssea [14]. Entretanto, os cimentos a base de MTA ainda apresentam algumas limitações principalmente quanto a manipulação, manchamento da estrutura dentária e tempo de presa [22,23,24]. Com o intuito de solucionar essas desvantagens, os cimentos a base de MTA vêm sofrendo algumas melhorias e modificações em relação a sua composição original.

Os novos cimentos biocerâmicos têm apresentado resultados promissores. Com características de biocompatibilidade e bioatividade os cimentos biocerâmicos também iniciam sua presa com umidade e aparentemente possuem maior facilidade de manipulação quando comparados ao MTA puro, indicado principalmente em casos cirúrgicos [25]. Com base nas informações dos fabricantes, a principal diferença na composição dos novos cimentos biocerâmicos e os cimentos originais de MTA parece ser a presença de óxidos de cálcio, carbonato de cálcio e fosfatos de cálcio nos primeiros. Ambos os materiais possuem silicatos de cálcio em suas composições, bem como agentes radiopacificadores e componentes de presa.

As primeiras propostas de cimentos biocerâmicos reparadores como alternativas ao MTA foram o Biodentine e Bioaggregate no ano de 2009 [28]. Suas composições são similares ao MTA, ambos são cimentos baseados em silicato de cálcio, exceto pela presença de óxidos de cálcio no Biodentine e de fosfatos de cálcio no Bioaggregate [26]. De fato, os materiais biocerâmicos são considerados como variações da composição do MTA [27].

Apesar de ser esperado que todo o cimento endodôntico apresente biocompatibilidade, quando recém manipulado e inserido nos canais radiculares, estes em sua maioria apresentam-se citotóxicos. Após a presa final essa citotoxicidade tende a diminuir [28,29]. O tempo de presa deve ser o suficiente para inserção do material. No entanto, períodos muito longos de endurecimento associado a solubilidade do material podem favorecer a difusão de componentes prejudiciais aos tecidos dentários [30]. A cicatrização e indução do reparo não são afetados pelo cimento desde que não influenciados por produtos oriundos de sua decomposição com o decorrer do tempo [31].

A capacidade de manter o elevado pH de uma região afetada é uma propriedade conhecida do hidróxido de cálcio e do MTA, importante para o reparo de regiões contaminadas [14]. Em estudo realizado por Hansen SW *et al.* (2011) [14] comparou-se a capacidade do hidróxido de cálcio, do MTA e o do cimento biocerâmico Endosequence Root Repair™ em manter o pH alcalino no meio externo. Foram utilizados dentes humanos uniradiculares extraídos que tiveram cavidades preparadas na superfície radicular com espessura de 2mm e 5mm. As amostras foram divididas em grupos e essas cavidades preenchidas com o ProRoot® MTA branco e EndoSequence Root Repair™. O controle positivo foi preenchido com hidróxido de cálcio e o controle negativo com solução salina. O pH foi medido aos 20 minutos, 3 horas, 24 horas, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas e 4 semanas. Entre 20 minutos e 3 horas, não houve diferença estatística do pH entre as amostras com ProRoot MTA branco e EndoSequence Root Repair™ em ambos os níveis. Ao final das 4 semanas o pH foi de similar para os dois materiais, 7.4 (EndoSequence) e 7.7 (ProRoot) [14].

Os cimentos biocerâmicos já são uma realidade e suas aplicações são cada vez mais frequentes, principalmente em casos mais complexos que exigem intervenção cirúrgica. Suas propriedades físico-químicas, biocompatibilidade e

bioatividade são relatadas em pesquisas recentes e por isso sua utilização em tratamentos reparadores vem sendo proposta [3,10,12,13]. Situações clínicas habitualmente tratadas com MTA hoje têm a possibilidade de utilização de um material biocompatível, bioativo e com facilidade de manipulação, principalmente com composições “prontas para uso” [25]. Poucos estudos sobre essas formulações como o de Benetti *et al.* (2019) [25] são encontrados na literatura. Esse trabalho avaliou a citotoxicidade, biocompatibilidade e biomineralização do cimento “pronto-para-uso” Bio-C® Repair (Angelus) em comparação ao MTA Repair HP (Angelus) e MTA branco (Angelus) em fibroblastos de camundongos L929. As células foram expostas a extratos de cada material (não diluído, ½ e ¼ de diluição) e as amostras avaliadas após 6h, 24h e 48h. As células expostas apresentaram viabilidade celular na maioria das amostras quando comparadas ao grupo controle de forma dose dependente. Os autores concluíram que o Bio-C Repair “pronto-para-uso” é biocompatível e com propriedades semelhantes ao MTA Repair HP e ao MTA branco, sendo uma excelente opção de uso principalmente pela facilidade de inserção nos locais atingidos [25]. Seria importante realizar estudos semelhantes a esse em células humanas e que estão envolvidas no processo de reparo endodôntico. Porém, como o cimento Bio-C® Repair é novo, a literatura a seu respeito ainda é bastante escassa.

Outros cimentos biocerâmicos reparadores também tiveram suas propriedades estudadas, principalmente o Biodentine, com apresentação pó-líquido, e propriedades biológicas interessantes [32]. Em estudo realizado por Gomes-Cornélio AL *et al.* (2015) [32] comparou-se a bioatividade do Biodentine™ em relação ao MTA Plus em células do tipo Saos-2. As células foram expostas por 24h aos extratos dos materiais com diluições 1:1, 1:2, 1:4 e 1:8 e a viabilidade celular avaliada com ensaio MTT. Os resultados revelaram uma biocompatibilidade dependente das concentrações onde as amostras mais diluídas apresentam maior viabilidade.

A bioatividade de alguns cimentos, proporciona a reabilitação e tratamento de regiões ou raízes dentárias perfuradas, antes condenadas por infecções persistentes [4,25,33]. As características osteoindutoras desses cimentos biocerâmicos reparadores, como o PBS-HP, e sua tolerância a umidade sugerem sua utilização inclusive como material para enxerto sintético em cirurgias de instalação de implantes imediatos [39]. Essa bioatividade

também é observada em cimentos a base de MTA conforme estudo apresentado por Abu Zeid *et al.* (2017) [4034] onde o NeoMTA Plus e o MTA branco foram submetidos a testes de bioatividade e analisados por FTIR (Fourier transform infrared) e XRD (X-ray diffraction). Os resultados demonstram uma bioatividade de ambos os cimentos, porém o NeoMTA Plus por apresentar um tempo de presa mais rápido obteve melhor comportamento sendo uma alternativa ao MTA branco no tratamento cirúrgico endodôntico.

Pesquisas comparando os diversos tipos de cimento seja a base de MTA, biocerâmicos ou resinosos são cada vez mais frequentes. Os resultados de uma grande maioria demonstram a efetividade dos cimentos biocerâmicos em comparação aos outros cimentos principalmente em relação a sua biocompatibilidade, bioatividade e facilidade de manipulação, características essenciais para um cimento ideal [17]. Outras características como adaptação marginal, adesividade as paredes do canal radicular e baixa descoloração reforçam a ideia de torná-los uma opção de escolha para tratamento de complicações endodônticas [35].

1.2.2 CIMENTOS BIOCERÂMICOS OBTURADORES

Conforme já elucidado, o MTA é um material biocompatível de ampla utilização na endodontia sendo recomendado em cirurgias apicais e selamento de perfurações radiculares principalmente na sua forma pura [36]. Baseado em suas propriedades biológicas, surgiram no mercado alguns cimentos obturadores a base de MTA como por exemplo o EndoSeal e o MTA Fillapex. A citotoxicidade desses materiais foi avaliada e comparada a outros cimentos já consagrados como o AH Plus. Em estudo realizado por Marins FC *et al.* (2017) [36] fibroblastos humanos imortalizados da linhagem MRC-5 foram expostos aos cimentos Endoseal, MTA Fillapex e AH Plus, considerado padrão ouro. Os resultados revelaram que mesmo possuindo como componente base o MTA, tanto o Endoseal® como o MTA Fillapex apresentaram-se citotóxicos. Além disso, o AH Plus utilizado como material de referência para comparação apresentou citotoxicidade estatisticamente inferior aos dois cimentos à base de MTA em uma das quatro diluições avaliadas. Em outro estudo, o MTA Fillapex e o MTA Plus tiveram suas propriedades biológicas observadas em cultura de

células pulpares humanas. Os resultados demonstraram taxas de viabilidade celular adequadas para o MTA Plus em todas as diluições. Já o MTA Fillapex apresentou-se citotóxico em algumas diluições [6,32].

Diante de alguns resultados negativos de cimentos obturadores a base de MTA, principalmente em relação a citotoxicidade, foi constatada a necessidade de aprimoramento desses materiais. Possivelmente um dos cimentos biocerâmicos obturadores com mais referências na literatura quanto as suas propriedades físico-químicas e biológicas é o Endosequence BC Sealer™. Porém, não há muitos relatos de casos clínicos com longo tempo de preservação. A composição do Endosequence BC Sealer™ é basicamente de óxido de zircônia, silicato de cálcio, fosfato de cálcio monobásico, hidróxido de cálcio e agentes espessantes. Possui um tempo de presa de aproximadamente 4 horas na temperatura ambiente e a capacidade de endurecer apenas quando exposto a umidade, além da capacidade de se unir a dentina podendo levar a formação de hidroxiapatita [37]. Essa umidade que pode ser proveniente do interior dos túbulos dentários é capaz hidratar o cimento que inicia seu endurecimento e resulta na formação de hidroxiapatita, promovendo uma ligação química à dentina. Outras propriedades, tais como a capacidade de expansão e selamento, biocompatibilidade e um potente agente antimicrobiano o tornam um aliado poderoso na obturação dos canais radiculares [10,12].

Diante de casos complexos de perfuração radicular associada as propriedades dos cimentos biocerâmicos, viu-se a possibilidade de tratamento e preenchimento de perfurações com um cimento biocompatível, bioativo, com estabilidade dimensional e com bom escoamento sem necessidade de acesso cirúrgico [10,12]. Candeiro GT *et al.* (2015) [38] compararam as propriedades biológicas do cimento biocerâmico Endosequence BC Sealer™ e AH Plus™ em fibroblastos humanos (FMM1). As células foram expostas aos cimentos e a viabilidade celular medida através do ensaio MTT nos intervalos de 1,3,5 e 7 dias. Os resultados revelaram um número de células viáveis significativamente maior nas amostras expostas ao Endosequence BC™. Resultados semelhantes aos encontrados por Zhang W *et al.* (2009) [39] que avaliaram a citotoxicidade dos cimentos a base de silicato de cálcio e o AH Plus™ em fibroblastos de ratos (L929). Também utilizando o ensaio MTT, as amostras foram avaliadas 24 horas após a exposição aos cimentos. AH Plus™ foi significativamente mais citotóxico

que o IRoot SP e o MTA. No entanto, Loushine BA *et al.* (2011) [40] também avaliaram a citotoxicidade dos cimentos Endosequence BC™ e AH Plus™ em cultura de células MC3T3-E1 pelo ensaio MTT. Os resultados apresentados foram diferentes quando relacionados ao tempo de presa de cada cimento. Ambos os cimentos foram citotóxicos nas primeiras 24 horas, porém o AH Plus foi diminuindo gradualmente sua citotoxicidade tornando-se não citotóxico antes da terceira semana. Diferentemente, o Endosequence BC Sealer permaneceu moderadamente citotóxico após 6 semanas [40].

Em outro estudo, pesquisadores também avaliaram algumas propriedades do cimento Endosequence BC Sealer em relação ao AH Plus. A radiopacidade do cimento biocerâmico foi inferior ao AH Plus, porém ambos dentro dos limites das normas ISO. Já a liberação de íons cálcio do Endosequence BC Sealer foi significativamente superior ao AH Plus. O escoamento de ambos não apresentou diferenças significativas. Os resultados revelaram que o Endosequence BC Sealer pode ser uma excelente opção de cimento obturador sendo capaz de atingir regiões não instrumentadas ou mais difíceis, liberando cálcio e favorecendo o reparo das áreas afetadas [41].

Microrganismos presentes no interior dos condutos radiculares e o biofilme extra radicular são responsáveis pelo desenvolvimento e manutenção de lesões apicais. Um dos objetivos principais do tratamento endodôntico é a remoção desses microrganismos através do preparo químico e mecânico proporcionando um ambiente favorável para o reparo e impedindo a recolonização da região [38]. Para tanto, Bukhari S *et al.* (2019) [42] avaliaram o efeito antimicrobiano do bicerâmico Endosequence BC em comparação AH Plus em dentes unirradiculares extraídos e contaminados por *Enterococos faecalis* por 8 semanas. Os cimentos foram colocados sobre a parede do canal radicular e as amostras incubadas por 24 horas e 2 semanas. Ao analisar os resultados os autores concluíram que o Endosequence BC foi capaz de eliminar *E. Faecalis* com níveis significativamente maiores que o AH Plus. Resultados semelhantes aos encontrados por Candeiro GT *et al.* (2015) [29] que por meio de dois testes, difusão em ágar e contato direto, concluíram que tanto Endosequence BC sealer quanto o Ah Plus tem efeito antimicrobiano importante variando de acordo com tempo de exposição ao *E. Faecalis* aos materiais.

As propriedades biológicas dos cimentos biocerâmicos e a base de MTA foram demonstrados nesse estudo e em vários outros. Sua utilização pode ser recomendada no tratamento endodôntico ou cirúrgico. Entretanto, se tratando de cimentos biocerâmicos ainda são necessários mais estudos e principalmente avaliações *in vivo* a longo prazo para atestar a sua real efetividade já comprovada pelo seu antecessor MTA.

1.3 OBJETIVOS

Geral:

O objetivo geral deste trabalho foi avaliar a biocompatibilidade e o potencial bioativo dos cimentos biocerâmicos em cultura de células ósseas humanas do tipo Saos-2 e o seu comportamento clínico frente a uma perfuração radicular.

Específicos:

- Investigar a biocompatibilidade dos novos cimentos biocerâmicos em comparação aos cimentos a base de MTA, por meio de teste de atividade de enzimas desidrogenases mitocondriais (MTT) em células osteoblásticas humanas Saos-2.
- Avaliar comparativamente a proliferação celular de células tipo Saos-2 expostas aos cimentos a base de MTA e biocerâmicos por meio do experimento de *Wound Healing*
- Avaliar, comparativamente ao MTA, a capacidade dos cimentos biocerâmicos em induzir a expressão de genes importantes para a formação de matriz óssea mineralizada nas células do tipo Saos-2.
- Avaliar a atividade da enzima fosfatase alcalina, de forma comparativa, em células osteoblásticas expostas aos diferentes cimentos bioagregados e MTA.
- Relatar o comportamento clínico de um cimento biocerâmico obturador e seu potencial de induzir neoformação óssea e reparo no tratamento de perfuração radicular complexa.

1.4 REFERÊNCIAS

1. Tomson RME, Polycarpou N, Tomson PL. Contemporary obturation of the rootcanal system. *Nat Publ Gr.* 2014; 216(6): 315-322.
2. Ahmed HMA, Neelakantan P, Dummer PMH. A new system for classifying accessory canal morphology. *Int Endod J.* 2018; 51(2):164-176.
3. Kakani KA, Veeramachaneni C, Majeti C, Tummala M, Khiyani I. A Review on Perforation Repair Materials. *Journal of Clinical and Diagnostic Research.* 2015; 9: 09-13.
4. Balasubramaniam R, Krishnan A, Jayakumar S. Restoring the dignity: Case reports of root perforation management. *International Journal of Applied Dental Sciences.* 2017; 3(3): 171-174.
5. Camilleri, J. Mineral trioxide aggregate: present and future developments. *Endodont Topics.* 2015; 32 (1), 31-46.
6. Mestieri LB, Gomes-Cornélio AL, Rodrigues EM, Salles LP, Bosso-Martelo R, Guerreiro Tanomaru JM, Tanomaru-Filho M. Biocompatibility and bioactivity of calcium silicate- based endodontic sealers in human dental pulp cells. 2015; 23(5): 467-471.
7. Osorio, R.M., Hefti, A., Vertucci, F.J., Shawley, A.L. Cytotoxicity of endodontic materials. *J. Endod.* 1998;24 (2), 91-96.
8. Torabinejad M and Parirokh M. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review–part II: leakage and biocompatibility investigations. *J Endod*, 2010; 36:190.
9. Torabinejad M, Pitt Ford TR, McKennedy DJ, Abedi HR, Miller DA, Kariyawasam SP. Histologic assessment of mineral trioxide aggregate as a root- end filling in monkeys. *J Endod.* 1997;23: 225.
10. Koch K. Bioceramic technology a game changer in endodontic obturation. *Art of Dentistry.* 2011; 9: 164-173.

11. Hench LL. Bioceramics: from concept to clinic. *J Am Ceram Soc.* 1991;74(7):1487–1510.
12. Koch KA, Brave DG. Bioceramics, Part II: The clinician's viewpoint. *Dent Today.* 2012; 31:118-122.
13. Koch KA, Brave GD, Nasseh AA. Bioceramic technology: closing the endo-restorative circle, part 2. *Dent Today.* 2010; 29:98.
14. Hansen SW, Marshall JG, Sedgley CM. Comparison of Intracanal EndoSequence Root Repair Material and ProRoot MTA to Induce pH Changes in Simulated Root Resorption Defects over 4 Weeks in Matched Pairs of Human Teeth. *J Endod.* 2011; 37: 502-506.
15. Grossman L, Oliet S, Del Rio CE. *Endodontic Practice*, 11^a ed. Philadelphia, Lea & Febiger. 1988.
16. Sequeira DB, Seabra CM, Palma PJ, Cardoso AL, Peça J, Santos JM. Effects of a New Bioceramic Material on Human Apical Papilla Cells. *J. Funct. Biomater.* 2018, 9, 74.
17. Lima NFF, dos Santos PRN, Pedrosa MS, Delboni MG. Cimentos biocerâmicos em endodontia: revisão de literatura. *Revista da Faculdade de Odontologia Universidade de Passo Fundo.* 2017; 22, 248-254.
18. Nasseh A. The rise of bioceramics. *Endodontic Practice.* 2009; 2:17-22.
19. Adamo HL, Buruiana R, Schertzer L, Boylan RJ. A comparison of MTA, super-EBA, composite and amalgam as root-end filling materials using a bacterial microleakage model. *Int Endod J.* 1999; 32:197.
20. Daoudi MF, Saunders WP. In vitro evaluation of furcal perforation repair using mineral trioxide aggregate or resin modified glass ionomer cement with and without the use of the operating microscope. *J Endod.* 2002; 28:512.
21. Zhang W, Li Z, Peng B. Ex vivo cytotoxicity of a new calcium silicate-based canal filling material. *Int Endod J.* 2010; 43: 769–74
22. Hargreaves KM, Cohen S. *Caminhos da Polpa.* 10^a Edição, 2011.

23. Mooney GC, North S. The current opinions and use of MTA for apical barrier formation of non-vital immature permanent incisors by consultants in paediatric dentistry in the UK. *Dent Traumatol.* 2008;24(1):65–69
24. Accorinte ML, Loguercio AD, Reis A, Carneiro E, Grande RH, Murata SS, et al. Response of human dental pulp capped with MTA and calcium hydroxide powder. *Oper Dent.* 2008;33(5):488–95.
25. Benetti F, Queiroz IOA, Cosme-Silva L, Conti LC, Oliveira SHP, Angelo Cintra LTA. Cytotoxicity, Biocompatibility and Biomineralization of a New Ready-for-Use Bioceramic Repair Material. *Brazilian Dental Journal.* 2019; 30(4): 325-332.
26. Raghavendra SS, Jadhav GR, Gathani KM, Kotadia P. Bioceramics in endodontics - a review. *J Istanbul Univ Fac Dent.* 2017; 2:128-137.
27. Camilleri J. New Perspective Article: Is Mineral Trioxide Aggregate a bioceramic? -ODOVTOS- *Int. J. Dental Sc.* 2016; 18-1: 13-17
28. Loushine BA, Bryan TE, Looney SW et al. Setting properties and cytotoxicity evaluation of a premixed bioceramic root canal sealer. *J Endod.* 2011;37, 673–7.
29. Souza NJ, Justo GZ, Oliveira CR, Haun M, Bincoletto C. Cytotoxicity of materials used in perforation repair tested using the V79 fibroblast cell line and the granulocyte-macrophage progenitor cells. *Int. Endod. J.* 2006;39 (1), 40–47.
30. Haddad AAL, Aziz ZAC. Bioceramic-Based root canal sealers: A review. *International Journal of Biomaterials.* 2016: 1-10.
31. Faraoni G, Finger MS, Masson MC, Vitorino FR. Avaliação comparativa do escoamento e tempo de presa do cimento MTA Fillapex® RFO. 2013; 18:180.
32. Gomes-Cornélio AL, Rodrigues EM, Salles LP, Mestieri LB, Faria G, Guerreiro-Tanomaru J M, Tanomaru-Filho M. Bioactivity of MTA Plus, Biodentine and an experimental calcium silicate-based cement on human osteoblast-like cells. *International Endodontic Journal.* 2015 1-9.

33. Souza NJ, Justo GZ, Oliveira CR, Haun M, Bincoletto C. Cytotoxicity of materials used in perforation repair tested using the V79 fibroblast cell line and the granulocyte-macrophage progenitor cells. *Int. Endod. J.* 2006; 39(1), 40–47.
34. Abu Zeid ST, Alamoudi NM, Khafagi MG, Abou Neel EA. Chemistry and Bioactivity of NeoMTA Plus™ versus MTA Angelus® Root Repair Materials. *Journal of Spectroscopy.* 2017; 1–9.
35. Madhuri GV, Varri S, Bolla N, Mandava P, Akkala LS, Shaik J. Comparison of bond strength of different endodontic sealers to root dentin: an in vitro push-out test. *J Conserv Dent.* 2016; 19(5):461-4.
36. Marins FC, Ronconi CT, Saavedra FM, Lima ABM, Zaia AA, Moreira EJJ, Silva EJJ. Avaliação da citotoxicidade de dois cimentos à base de MTA: um estudo *in vitro* Rev. Bras. Odontol. 2017; 74: 27.
37. Hess D, Solomon E, Spears R, He J. Retreatability of a bioceramic root canal sealing material. *J Endod.* 2011; 37: 1547.
38. Candeiro GT, Moura-Netto C, D’Almeida-Couto RS, Azambuja-Júnior N, Marques MM, Cai S, et al. Cytotoxicity, genotoxicity and antibacterial effectiveness of a bioceramic endodontic sealer. *Int Endod J.* 2015;49(9):858–864.
39. Zhang W, Li Z, Peng B. Assessment of a new root canal sealer’s apical sealing ability. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009; 107(6): 79-82.
40. Loushine BA, Bryan TE, Looney SW et al. Setting properties and cytotoxicity evaluation of a premixed bioceramic root canal sealer. *J Endod.* 2011;37, 673–7.
41. Candeiro GT, Correia FC, 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: 842-845

42. Bukhari S e Karabucak B. The Antimicrobial Effect of Bioceramic Sealer on an 8-week Matured *Enterococcus faecalis* Biofilm Attached to Root Canal Dentinal Surface. J Endod. 2019;45(8):1047-1052.

CAPÍTULO 2

**BIOCOMPATIBILIDADE E BIOATIVIDADE DE CIMENTOS BIOCERÂMICOS
REPARADORES EM CULTURA DE CÉLULAS OSTEoblásticas
HUMANAS**

*Artigo submetido ao periódico Journal of Endodontics
Trabalho aceito para apresentação no General Session and Exhibition of IADR
2020 (Washington DC)

RESUMO

Introdução: Os cimentos reparadores utilizados em cirurgias apicais, perfurações radiculares ou complicações endodônticas de natureza similar, devem ser biocompatíveis e capazes de induzir ao reparo de tecidos mineralizados. Recentemente, dois novos cimentos reparadores biocerâmicos foram lançados com a promessa de apresentarem propriedades biológicas superiores aos convencionais: Bio-C® Repair e PBS HP®. O objetivo deste estudo foi avaliar a biocompatibilidade e a bioatividade dos cimentos Bio-C® Repair (Bio-C), PBS HP® (PBS-HP), Biodentine™ (Biodentine), MTA Repair-HP (MTA-HP), ProRoot® MTA (ProRoot) e NeoMTA Plus® (NeoMTA-P) em cultura de células osteoblásticas humanas Saos-2 (ATCC® HTB-85). **Métodos:** *Pellets* dos cimentos foram preparados em condições estéreis e incubados por 24h, a 37°C, 95% de umidade e 5% de CO₂. Após presa, as amostras foram colocadas em *transwells* para exposição celular. Células não expostas constituíram o grupo controle positivo (CT) e expostas ao cimento de óxido de zinco e eugenol, o controle negativo (ZOE). A biocompatibilidade foi avaliada pelo ensaio MTT, a migração celular pelo ensaio *Wound Healing* (n=30/grupo), a bioatividade por PCR em tempo real (qPCR) dos genes marcadores de osteogênese: Fosfatase Alcalina (*ALPL*), Osteocalcina (*BGLAP*) e Sialoproteína Óssea (*BSP*). A atividade enzimática de fosfatase alcalina (ALP) também foi avaliada. Estatística: ANOVA e pós-teste de Bonferroni, p<0.05 (n=9/grupo). **Resultados:** As células expostas por 24h ao Bio-C (100.66%), PBS-HP (95.3%) e Biodentine (101.78%) apresentaram taxa de viabilidade semelhante ao CT (100.23%). Interessantemente, a média da velocidade de migração do grupo Bio-C apresentou padrão semelhante ao NeoMTA-P, inferior aos outros grupos em 24h e 48h (abaixo de 5µm/h), mas superaram significativamente todos em 72h de exposição (aproximadamente 24µm/h). Apesar de apenas CT apresentar fechamento completo do *wound* em 96h, as imagens microscópicas da área adjacente demonstraram características morfológicas de normalidade e confluência das células expostas aos biocerâmicos. Possivelmente, a bioatividade dos cimentos favoreceu a indução de expressão de genes e síntese de proteínas da matriz óssea, em detrimento à proliferação celular. A expressão

de *BGLAP* foi significativamente maior nos grupos Bio-C, MTA-HP (*fold*=4-5) e ProRoot (*fold*=2). O gene *BSP* teve maior expressão nos grupos Bio-C, NeoMTA-P e ProRoot. Apenas grupo Biodentine apresentou superexpressão de *ALPL* quando comparado ao CT. Apesar dos demais grupos apresentarem inibição da expressão gênica de *ALPL* todos demonstraram atividade ideal da enzima, especialmente NeoMTA-P (1277.64U/L). **Conclusão:** O novo cimento reparador biocerâmico Bio-C apresentou excelente biocompatibilidade e potencial bioativo. Enquanto o PBS-HP não demonstrou superioridade sobre os outros materiais neste estudo.

Palavras-chave: biocompabilidade, endodontia regenerativa, silicato de cálcio, obturação retrógrada

ABSTRACT

Introduction: The repair sealers used in apical surgeries, root perforations or endodontic complications of a similar nature, must be biocompatible and capable of inducing the repair of mineralized tissues. Recently, two new bioceramic repair sealers were launched with the promise of presenting biological properties superior to conventional sealers: Bio-C® Repair and PBS HP®. The aim of this study was to evaluate the biocompatibility and bioactivity of Bio-C® Repair (Bio-C), PBS HP® (PBS-HP), Biodentine™ (Biodentine), MTA Repair-HP (MTA-HP), ProRoot cements® MTA (ProRoot) and NeoMTA Plus® (NeoMTA-P) in culture of Saos-2 human osteoblastic cells (ATCC® HTB-85). **Methods:** Cement pellets were prepared in sterile conditions and incubated for 24 hours at 37°C, 95% humidity and 5% CO₂. After setting, the samples were placed in transwells for cell exposure. Unexposed cells constituted the positive control group (CT) and exposed to zinc oxide and eugenol cement, the negative control (ZOE). Biocompatibility was evaluated by the MTT assay, cell proliferation by the *Wound Healing* assay, bioactivity by the enzymatic assay of alkaline phosphatase (ALP) and real-time PCR (qPCR) of the osteogenesis marker genes: Alkaline Phosphatase (*ALPL*), Osteocalcin (*BGLAP*) and Bone Sialoprotein (*BSP*). **Statistics:** ANOVA and Bonferroni post-test, $p < 0.05$ ($n = 9$ / group). **Results:** The cells exposed for 24h to Bio-C (100.66%), PBS-HP (95.3%) and Biodentine (101.78%) showed a viability rate similar to CT (100.23%). Interestingly, the average migration speed of the Bio-C group showed a similar pattern to the NeoMTA-P, lower than the other groups in 24h and 48h (below 5µm / h), but significantly exceeded all in 72h of exposure (approximately 24µm/h). Although only CT showed complete wound closure in 96 hours, microscopic images of the adjacent area demonstrated morphological characteristics of normality and confluence of cells exposed to bioceramics. Possibly, the bioactivity of sealers favored the induction of gene expression and synthesis of bone matrix proteins, to the detriment of cell proliferation. *BGLAP* expression was significantly higher in the Bio-C, MTA-HP (fold = 4-5) and ProRoot (fold = 2) groups. The *BSP* gene had greater expression in the Bio-C, NeoMTA-P and ProRoot groups. Only Biodentine group showed overexpression of *ALPL* when compared to CT.

Although the other groups showed inhibition of *ALPL* gene expression, all showed ideal enzyme activity, especially NeoMTA-P (1277.64U/L). **Conclusion:** The new Bio-C bioceramic repair sealer showed excellent biocompatibility and bioactive potential. While PBS-HP did not demonstrate superiority over the other materials in this study.

Keywords: biocompatibility, regenerative endodontics, calcium silicate, retrograde filling

2.1- INTRODUÇÃO

O tratamento endodôntico de perfurações radiculares, reabsorção interna ou externa, exposição pulpar, dentes com ápice incompletamente formados e lesões de furca, representam até os dias atuais um desafio para os endodontistas. Para equacionar o prognóstico duvidoso e aumentar os índices de sucesso, novas terapias e materiais endodônticos vêm sendo desenvolvidos. As pesquisas têm se concentrado ao longo dos anos na evolução de materiais reparadores cada vez mais biocompatíveis e bioativos, em especial no desenvolvimento de cimentos cerâmicos.

Os primeiros materiais utilizados nesses tratamentos foram amálgama, resinas compostas, cimentos a base de óxido de zinco e cimentos de ionômero de vidro. Entretanto, todos apresentavam alguma citotoxicidade ou outra desvantagem que culminaram na sua substituição pelo Agregado de Trióxido Mineral (MTA) na década de 1990 [1]. O MTA pode ser considerado um biocerâmico composto por silicato de cálcio (CaSiO), óxido de bismuto (BiO), carbonato de cálcio (CaCO), sulfato de cálcio (CaSO) e aluminato de cálcio (CaAlO). Após hidratação, o material se solidifica em cristais contidos em uma matriz amorfa. Esses cristais são compostos por óxido de cálcio, e a região amorfa é composta de 33% de cálcio, 49% de fosfato, 2% de carbono, 3% de cloreto e 6% de sílica [2]. O MTA foi intensamente estudado desde o seu surgimento e provou preencher os requisitos fundamentais de um cimento reparador, principalmente quanto a sua presa na presença de umidade. Os bons resultados apresentados em ensaios clínicos fizeram do MTA o material de escolha em cirurgias apicais e tratamento de perfurações radiculares [3]. No entanto, o MTA ainda apresentava algumas desvantagens, principalmente quanto à dificuldade de manipulação, manchamento da estrutura dentária e tempo de presa [4], o que estimulou o desenvolvimento de materiais a base de MTA com propriedades biológicas e físico-químicas cada vez melhores ao longo dos anos.

A busca incessante por melhorar ainda mais as propriedades dos materiais a base de MTA, culminou no desenvolvimento de uma série de novos cimentos e a consolidação da classe de cimentos endodônticos biocerâmicos [5]. De uma maneira geral os novos biocerâmicos, que assim como o MTA iniciam sua presa na presença de umidade, são compostos por silicatos tricálcicos e dicálcicos, fosfatos de cálcio, hidróxido de cálcio e agente radiopacificador [6]. Importante ressaltar que o termo biocerâmico faz referência a um material cerâmico de uso biológico, que pode ser bioinerte ou bioativo [7]. Os relatos da literatura indicam que biocerâmicos são utilizados em medicina desde a década de 1970 no reparo de estruturas esqueléticas em ortopedia e materiais restauradores de estruturas dentárias na Odontologia [8]. Exemplos de biocerâmicos mais utilizados em medicina e odontologia podem ser cristais puros, alumina ou hidroxiapatita (HA), cerâmicas de vidro, cimentos de ionômero de vidro, fosfatos e silicatos de cálcio [8].

Alguns cimentos biocerâmicos, como por exemplo o Biodentine™, indicados para a terapia endodôntica, parecem ter comportamento semelhante aos já consagrados cimentos a base de MTA [9]. Recentemente, o biocerâmico Bio-C® Repair (baseado em silicato de cálcio) com sua formulação “pronta para uso” foi disponibilizado no mercado para tratamentos reparadores ou indutores. Esse material promete manter ou superar as propriedades biológicas, com maior facilidade de manipulação, limitação já conhecida dos cimentos convencionais a base de MTA [10]. Outro cimento recentemente proposto é o PBS HP®, a base de silicato dicálcico e óxidos minerais que tem pozolona na sua composição. Este último apresentou bons resultados quando utilizado em caso clínico de implante dentário como material de enxerto para manutenção da arquitetura do alvéolo [11]. Os fabricantes clamam que esses cimentos têm propriedades como bioatividade e biocompatibilidade superiores para sua utilização em casos endodônticos complexos [11]. Entretanto, como esses cimentos são propostas novas, a literatura científica quanto a estudos avaliando suas propriedades biológicas e físico-químicas ainda é escassa.

Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar comparativamente a biocompatibilidade e bioatividade dos cimentos endodônticos reparadores biocerâmicos Bio-C® Repair, PBS HP®, Biodentine™, ProRoot® MTA, NeoMTA Plus® e MTA Repair-HP em cultura de células do tipo osteoblastos humanos

(Saos-2). A investigação do potencial biocompatível e bioativo dos cimentos reparadores é de fundamental importância para que se tenha maior previsibilidade de sucesso na terapia endodôntica. Adicionalmente, as células do tipo Saos-2 são consideradas modelo de expressão de marcadores de osteogênese [12].

2.2. MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1- Cultura de células Saos-2

As células do tipo osteoblastos humanos Saos-2 (ATCC® HTB-85) adquiridas junto ao Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ) foram cultivadas como uma cultura em monocamada em frascos T-75 (Corning, Union City, CA, EUA) contendo meio Dulbecco Eagle Modificado (DMEM) suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB), penicilina (100UI/mL), e estreptomicina (100µg/mL), até confluência. Essas células foram cultivadas duas vezes por semana a 37°C, umidade de 95%, CO₂ a 5% (todos suplementos de cultura, Gibco-BRL, Gaithersburg, MD, EUA). As células aderidas foram destacadas com tripsina/EDTA (0.25%) a 37°C durante 2 minutos. O meio de cultura foi renovado a cada 2 dias (DMEM, 10% de SFB e 100IU/mL penicilina, 100ug/ml de estreptomicina). As células coletadas foram dispostas em placas de 24 poços (Corning, Union City, CA, EUA) a uma densidade de 2×10^4 por poço, determinada em hemocitômetro. Em seguida, as células foram incubadas nas mesmas condições descritas acima durante 24 horas, para se obter a formação da monocamada antes da exposição aos cimentos. As células não expostas às amostras de cimentos formaram o grupo controle positivo (CT).

2.2.2- Preparo dos cimentos endodônticos

Os cimentos Bio-C® Repair (Bio-C), Biodentine™ (Biodentine), PBS HP® (PBS-HP), MTA Repair-HP (MTA-HP), ProRoot® MTA (ProRoot), NeoMTA Plus® (NeoMTA-P) (Tabela 1) e EndoFill (ZOE, Dentsply, Pirassununga, São Paulo, Brasil) foram preparados conforme as recomendações dos fabricantes e em condições estéreis. O cimento ZOE foi incluído no estudo para compor o grupo controle negativo de viabilidade celular. Os cimentos foram dispostos em moldes de polipropileno (3x5mm) e incubados por 24 horas a 37°C, 95% de umidade e 5% CO₂ para tomar presa. Após esse tempo, foram removidos dos moldes e acondicionados em dispositivos do tipo *transwells* com membranas permeáveis de 0.4µm (Corning Incorporated, Corning, NY, EUA) para exposição das células osteoblásticas Saos-2 (ATCC® HTB-85) de acordo com o protocolo de cada experimento.

Tabela 1: Cimentos endodônticos, composição e presa inicial

Nome Comercial	Apresentação	Presa inicial (min)	Composição	Fabricante
ProRoot® MTA	Pó-líquido	165	Pó: óxido de bismuto, silicato tricálcico, silicato dicálcico, dialuminato de cálcio e sulfato de cálcio. Líquido: Água destilada estéril [13]	Dentsply Sirona Tulsa, OK, USA
Bio-C® Repair	“Pronto para uso”	40	Silicatos de cálcio, aluminato de cálcio, óxido de cálcio, óxido de zircônio, óxido de ferro, dióxido de silício e agente de dispersão*	Angelus Londrina, PR, Brasil
PBS HP®	Pó-líquido	5	Pó: Óxido de cálcio, carbonato de cálcio, óxido de magnésio, silicato dicálcico, óxido de alumínio, óxido de sódio, óxido de potássio e pozolana (alto nível de óxido de sílica e alumínio altamente reativo com hidróxido de cálcio). Líquido: Água destilada* [14]	CIMMO MJS Ltda. Pouso Alegre- MG Brasil
Biodentine™	Pó-líquido	12	Pó: Silicato tricálcico, óxido de zircônia, óxido de cálcio, carbonato de cálcio, pigmento amarelo e vermelho, óxido de ferro marron. Líquido: cloreto de cálcio dihidratado, água purificada*	Septodont Saint-Maur-des- Fossés, França
NeoMTA Plus®	Pó-gel	<60	Pó: Silicato tricálcico, Silicato dicálcico, óxido tântalo, aluminato tricálcico, sulfato de cálcio e gesso. Líquido: Gel a base de água e agentes espessantes e polímeros solúveis em água*	Avalon Biomed Houston, TX, USA
MTA Repair-HP	Pó-líquido	15	Pó: Silicato tricálcico, silicato dicálcico, aluminato tricálcico, óxido de cálcio, tungstato de cálcio. Líquido: Água e Plastificante*	Angelus Londrina, PR, Brasil

* Informações do fabricante

2.2.3- Viabilidade Celular

A proliferação celular foi determinada pelo ensaio MTT (Sigma Chemicals, St Louis, MO, EUA) que é um teste colorimétrico. Neste ensaio as desidrogenases mitocondriais das células viáveis, transformam o MTT, um composto de cor amarela, em cristais de formazan que tem coloração roxa. A formação desse composto, determina o estado funcional da cadeia respiratória celular. A absorbância observada é proporcional à quantidade de células metabolicamente viáveis. As amostras dos cimentos, após o tempo de presa, foram transferidas para os *transwells* e utilizadas para exposição das células Saos-2 em placas de 24 poços. Depois de 24h de exposição aos cimentos, as amostras de cimentos foram removidas e o meio de cultura substituído por DMEM sem SFB contendo 0.55mg/mL de MTT. As placas foram novamente colocadas na incubadora por 4 horas nas mesmas condições descritas acima. Após esse período, cada poço foi lavado com 1ml de tampão fosfato (PBS 1X) e 500µL de álcool isopropílico acidificado (álcool isopropílico, HCl 0.04N). Alíquotas de 100uL da solução obtida de cada amostra foram transferidas para uma placa de 96 poços (Corning) e a densidade óptica (OD=590nm) foi mensurada com leitora de microplaca (SpectraMax M3, Molecular Devices, San Jose, Califórnia, USA). Os experimentos foram repetidos três vezes de forma independente (n=9/grupo). A viabilidade celular foi calculada da seguinte maneira: $OD \text{ da amostra} \times 100 / OD \text{ do controle}$ [15]. As taxas de viabilidade celular foram consideradas alta de 100-80%, moderada de 79-60%, e baixa de 59-0%.

2.2.4- Wound Healing Assay

A proliferação celular foi avaliada por meio do ensaio de *Wound Healing*. Ao longo do fundo de cada poço, em placas de 24 poços e com as células Saos-2 cerca de 95% confluentes, procedeu-se a realização de uma ferida na largura de 500µm. Para esse fim, foram utilizadas ponteiras estéreis do tipo P-10. Em seguida, os *transwells* com as amostras de cimentos foram posicionados nas

placas e as células incubadas nas mesmas condições descritas anteriormente nos diferentes períodos de tempos a partir de 0h (tempo inicial): 24h, 48h, 72h e 96h de exposição. Em cada tempo do estudo, 30 campos da ferida foram fotografados por grupo (n=30/grupo) utilizando o microscópio invertido Nikon Eclipse TS 100 (Nikon Instruments Inc., Melville, NY, EUA). As imagens microscópicas foram digitalizadas e processadas utilizando o Software ImageJ 1.52K (National Institutes of Health, NIH, Bethesda, Maryland, USA). As velocidades médias de fechamento do espaço em cada período de tempo do estudo foram calculadas como descrito por Jonkman J *et al.* (2014) [16].

2.2.5- Expressão Gênica por qPCR (*real time PCR*)

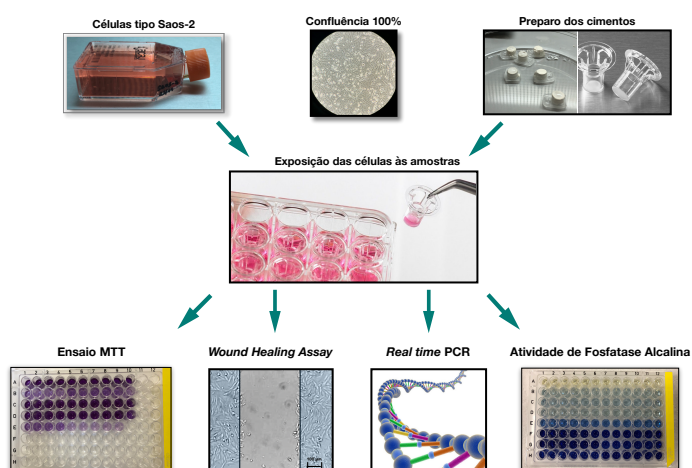
Após 96 horas do ensaio de *Wound Healing*, as células expostas às amostras de cimentos reparadores foram coletadas em reagente Trizol (ThermoFisher Scientific, Waltham, Massachusetts, EUA) e as amostras de RNA total extraídas de acordo com as instruções do fabricante. A partir de cada amostra, 2µg de RNA foram submetidos à transcrição reversa em cDNA utilizando o Kit QuantiTect (Qiagen, Hilden, Alemanha). Os cDNAs obtidos foram utilizados como molde para as reações de PCR em tempo real (qPCR), a fim de avaliar a expressão diferencial dos marcadores de síntese de matriz mineralizada: Sialo-Proteína Óssea (gene *BNSP*), Fosfatase Alcalina (gene *ALPL*) e Osteocalcina (gene *BGLAP*). O gene de referência, como controle endógeno, foi o da enzima Glycer-aldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase (gene *GAPDH*). As reações foram realizadas no sistema de módulo ótico Rotor-Gene Q (Qiagen, Hilden, Alemanha) com um volume de reação final de 20µL por tubo Eppendorf de 200µL. Cada amostra de reação incluiu Sybr-Green PCR Master Mix 1X (Bio-Rad, Hercules, Califórnia, EUA), 100ng de cDNA e 0.25µM de primers direto e reverso (Exxtend, Paulínia, SP, Brasil). Para o gene alvo *BNSP* (L24757.1) o primer direto foi 5' TGCATCGAAGAGTCAAATAGAGG 3' e o primer reverso foi 5' GAGGATAAAAGTAGGCATGCTTG 3'. Para o gene alvo *BGLAP* (NM_199173) o primer direto foi 5'CAGCGAGGTAGTGAAGAGAC 3'e o primer reverso foi 5' TGCTTGGACACAAAGGCTG 3'. Para o gene alvo *ALPL*

(NM_000478.4) o primer direto 5' AAGCACTCCCACTTCATCTG 3' e o primer reverso 5' TTGTTCTGTTTCAGCTCGTAC 3'. Para o gene *GAPDH* (NG_007073), o primer direto foi 5' TGAAGGTCCGAGTCAACG 3' e o reverso 5' TGGGTGGAATCATATTGGAAC 3'. As condições otimizadas de ciclos térmicos foram: *Hot start* de 95°C durante 5min; seguido por 40 ciclos de desnaturação das fitas de DNA a 95°C durante 5s, 60°C durante 15s para anelamento dos primers, síntese e leitura da fluorescência; e ciclos finais para a curva de *melting* segundo *default* do equipamento. Triplicatas idênticas foram preparadas para cada reação e o experimento repetido 3 vezes de forma independente (n=9/grupo). Para comparar os níveis de expressão gênica, foi empregado o método $\Delta\Delta Ct$ ($fold$ de expressão = $2^{-(\Delta\Delta Ct \pm desvpad)}$).

2.2.6- Atividade de Fosfatase Alcalina

A atividade da enzima fosfatase alcalina (ALP) foi avaliada usando um kit comercial de teste colorimétrico (Labtest, Lagoa Santa, MG, Brasil). Após 5 dias de exposição, as células do tipo Saos-2 foram lavadas com tampão fosfato (PBS 1X) e imersas em 500µL de lauril sulfato de sódio (1mg/mL; SLS, Sigma Chemicals, St. Louis, MO, EUA) durante 30min à temperatura ambiente. Amostras de 50µL de cada grupo foram coletadas e adicionadas aos componentes do kit, de acordo com as instruções do fabricante. A absorbância foi medida no comprimento de onda de 570nm (OD=570nm), utilizando o leitor de microplacas (SpectraMax M3, Molecular Devices, San Jose, Califórnia, EUA) e a atividade de ALP calculada como µmol de timolftaleína/min/L. Foram realizadas triplicatas para cada grupo e o experimento foi repetido 3 vezes de forma independente (n=12/grupo). Os resultados foram expressos como a atividade de ALP normalizada pela média de densidade óptica relativa à quantidade de células viáveis (OD do MTT) [15].

Delineamento experimental.



2.2.7- Análise estatística

Os dados obtidos foram exportados para planilhas Excel (Microsoft Office 365, Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA) e submetidos à análises estatísticas ANOVA *one-way* para os dados de MTT, ALP e qPCR. Para os dados do *Wound Healing*, foi realizada análise estatística ANOVA *two-way*, onde a variável de resposta foi a velocidade e os dois fatores foram tempo e grupo de material. As diferenças entre os grupos foram estabelecidas por *post-test* Bonferroni e consideradas significativas para $p < 0.05$. O programa estatístico utilizado foi o Stata/IC 15.1 (StataCorp, College Station, TX, EUA).

2.3. RESULTADOS

2.3.1. Viabilidade Celular

O ensaio MTT demonstrou que a maioria dos grupos celulares expostos aos diferentes cimentos reparadores biocerâmicos avaliados apresentou alta taxa viabilidade celular em relação ao grupo controle após 24h de exposição,

com exceção dos grupos NeoMTA-P que apresentou taxa de viabilidade celular moderada e ZOE com baixa taxa de viabilidade celular (Figura 1). As células dos grupos Bio-C, PBS-HP e Biodentine apresentaram altas taxas de viabilidade celular e estatisticamente semelhantes ao grupo CT de 100.65%, 95.3%, 101.78% e 100.23%, respectivamente. As células expostas ao NeoMTA-P apresentaram taxa de viabilidade celular moderada (75.10%) e as células expostas ao grupo ZOE baixa taxa de viabilidade celular (25.97%, controle negativo). A diferença das médias destes dois grupos foi estatisticamente significativa em relação aos demais grupos. A diferença estatística também foi significativa para o grupo MTA-HP (90.36%) em relação aos grupos CT, Biodentine e Bio-C.

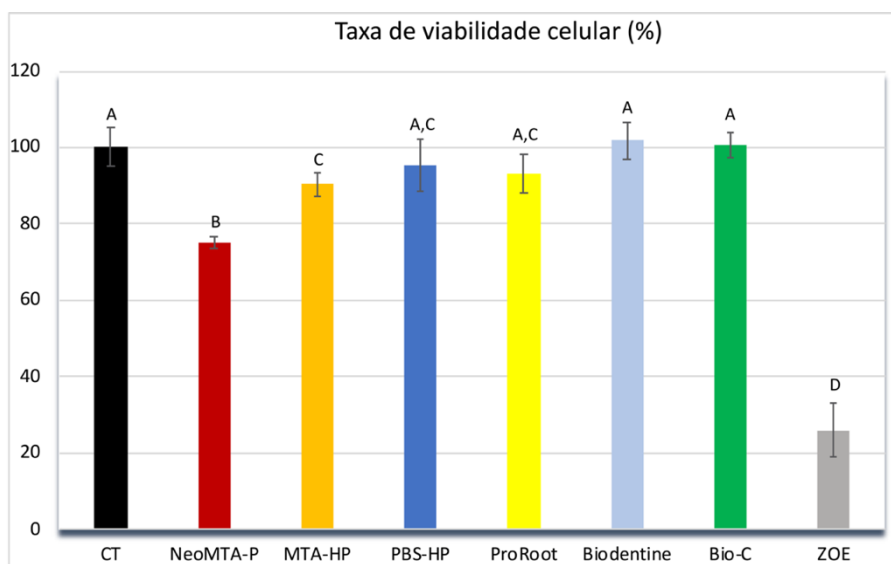


Figura 1: Gráfico de viabilidade celular. CT, grupo controle de células não expostas e, respectivamente, os cimentos reparadores NeoMTA Plus, MTA Repair-HP, PBS-HP, ProRoot MTA, Biodentine, Bio-C Repair, Cimento de óxido de zinco e eugenol (controle negativo). Letras diferentes representam diferença estatística entre grupos (One-way ANOVA, Bonferroni, $p < 0.05$).

2.3.2. Proliferação Celular

Os grupos de células expostas aos cimentos biocerâmicos apresentaram taxa de migração celular ($\mu\text{m/h}$) significativamente menor do que a do grupo controle em todos os períodos de tempo avaliados (Figura 2A e B). Nas amostras expostas ao Bio-C e NeoMTA-P não houve diferença estatística entre a área da ferida no tempo 0 e a área coberta por células nos tempos de 24h e 48h, inferior a 5% (Figura 2A). No tempo de 96h, o grupo Biodentine foi o que apresentou maior área da ferida coberta por células quando comparado aos demais grupos de biocerâmicos e o Bio-C a menor área (Figura 2A). A taxa de migração celular (velocidade) foi menor para todos os grupos no tempo de 24h em comparação ao grupo controle. Os grupos Bio-C e NeoMTA-P apresentaram uma taxa de migração significativamente lenta (inferior a $3 \mu\text{m/h}$) nos tempos de 24h e 48h. Entretanto, houve aumento significativo da velocidade de migração das células expostas a estes cimentos em 72h (acima de $20 \mu\text{m/h}$), duas vezes a do grupo controle (Figura 2B). As células expostas ao cimento PBS-HP e Biodentine apresentaram taxa de migração celular significativamente mais alta que os demais grupos de cimentos no tempo de 24h, mas inferior do grupo controle. Apenas no tempo de 96h a velocidade de proliferação das células expostas aos cimentos PBS-HP, Biodentine, Bio-C e ProRoot foi superior a do grupo controle, de 10 a $12 \mu\text{m/h}$. Análise estatística two-way ANOVA demonstrou interação significativa para os fatores tempo de exposição e tipo de material. As análises microscópicas mostraram que o fechamento da ferida progrediu em todos poços, mas o grupo controle foi o único que demonstrou fechamento

completo no tempo de 96h. Entretanto, de forma interessante a confluência e aspecto morfológico de normalidade das células puderam ser observados na área externa que delimita o *wound* em todas as amostras dos grupos de cimentos biocerâmicos e diferente do controle negativo ZOE, onde foi observado morte celular e, conseqüentemente, aparecimento de espaços vazios (Figura 3).

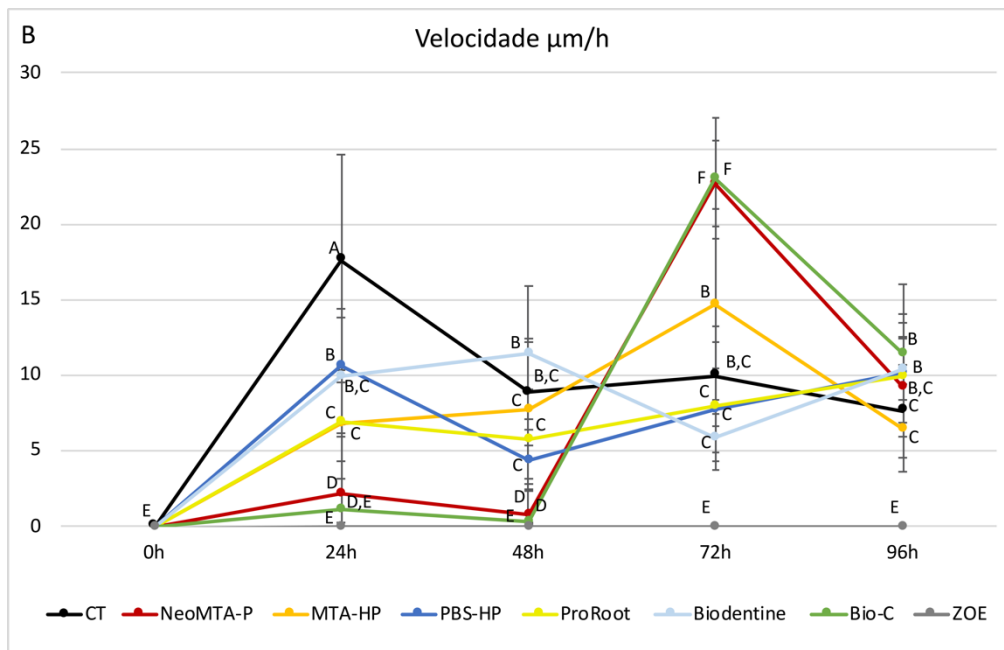
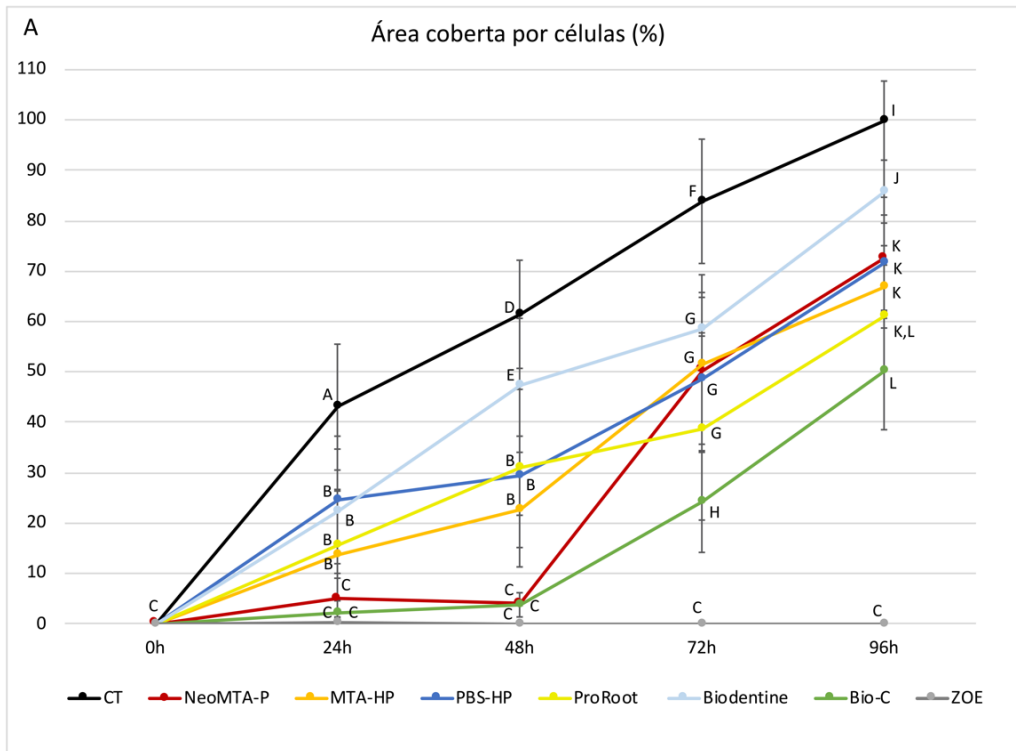


Figura 2A e B, respectivamente: Gráficos de área do *wound* coberta por células e velocidade de proliferação celular. Os resultados demonstram uma pausa de proliferação significativa nas primeiras 48h das Saos-2 expostas aos cimentos Bio-C e NeoMTA Plus e maior fechamento de área nas células expostas ao Biodentine. Apenas o grupo CT apresentou fechamento completo da área de *wound* após 96h de exposição. CT, grupo controle de células não expostas e, respectivamente, células expostas aos cimentos reparadores NeoMTA Plus, MTA Repair-HP, PBS-HP, ProRoot MTA, Biodentine, Bio-C Repair, Cimento de óxido de zinco e eugenol (controle negativo). Letras diferentes representam diferença estatística entre os grupos e os tempos de exposição (Two-way ANOVA, Bonferroni, $p < 0.05$).

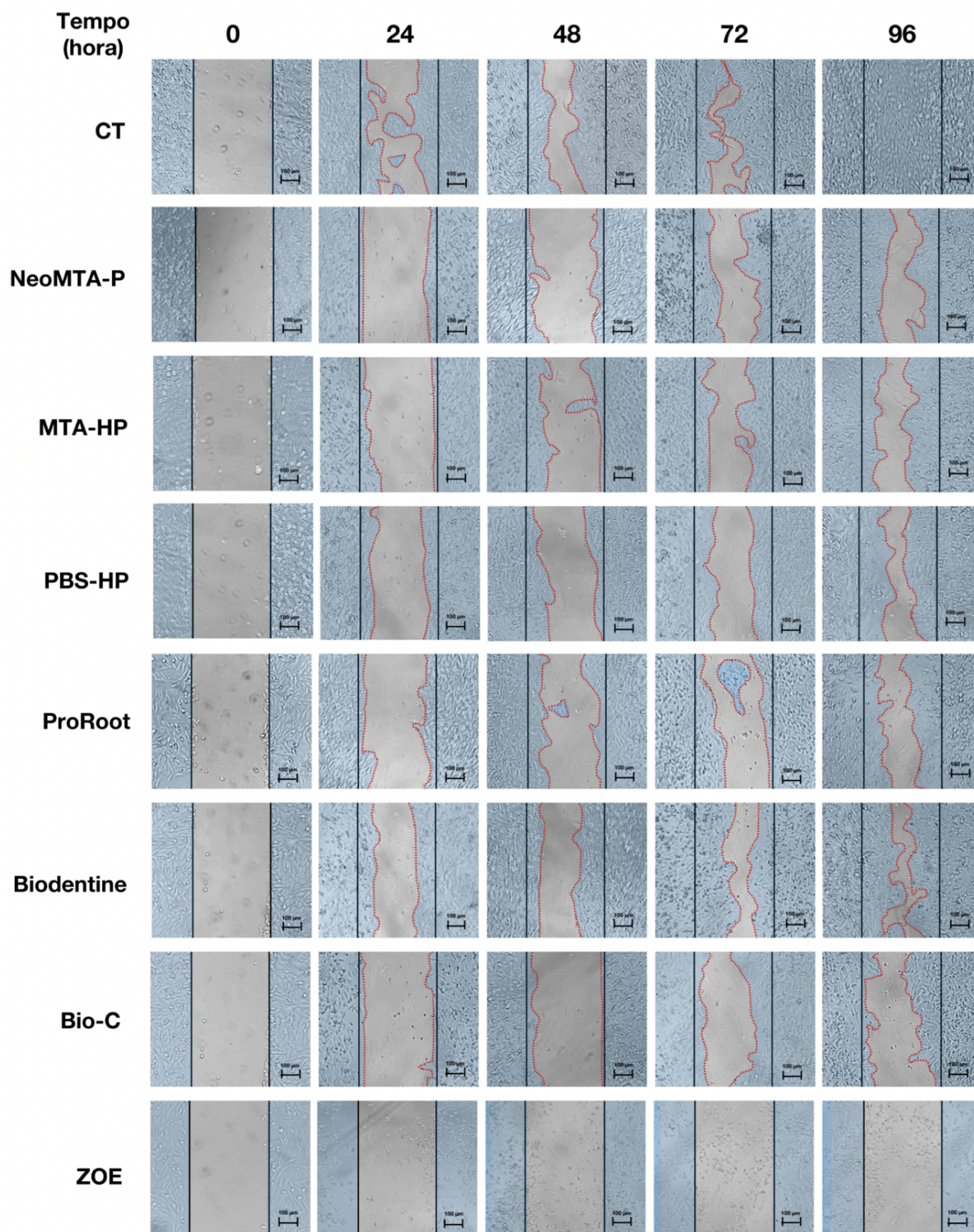


Figura 3: Wound Healing Assay. Imagens microscópicas demonstrando o fechamento da ferida nos tempos 0h, 24h, 48h, 72h até 96h (tempo decorrido para o fechamento total da ferida do grupo controle). Objetiva de 10x, barras = 100 µm. CT, grupo controle de células não expostas e, respectivamente, células expostas aos cimentos reparadores NeoMTA Plus, MTA Repair-HP, PBS-HP, ProRoot MTA, Biodentine, Bio-C Repair, Cimento de óxido de zinco e eugenol (controle negativo).

2.3.3. Expressão Gênica

Após 96 horas de exposição, o *fold* de expressão do gene *BGLAP* foi significativamente mais alto nos grupos Bio-C, MTA-HP e ProRoot, com um *fold* de expressão de 4-5 vezes o do grupo controle para o MTA-HP e o Bio-C (Figura 4). O grupo de células expostas ao cimento ProRoot apresentou um *fold* de aproximadamente 2 vezes o do grupo controle. Os demais grupos foram semelhantes ao CT. O grupo de células expostas ao ZOE apresentou inibição significativa da expressão de todos os genes avaliados. Em relação ao gene *ALPL*, apenas o grupo exposto ao Biodentine apresentou expressão relativa superior ao CT (*fold* de aproximadamente 1.4). Os grupos Bio-C, MTA-HP e ProRoot apresentaram inibição da expressão do gene *ALPL* e sem diferença estatística entre eles. A expressão do gene *BSP* foi significativamente maior nos grupos Bio-C, NeoMTA-P e ProRoot, quando comparados aos demais grupos. O grupo ProRoot apresentou o *fold* de expressão relativa de *BSP* mais alto, aproximadamente 3 vezes maior que o grupo controle (Figura 4).

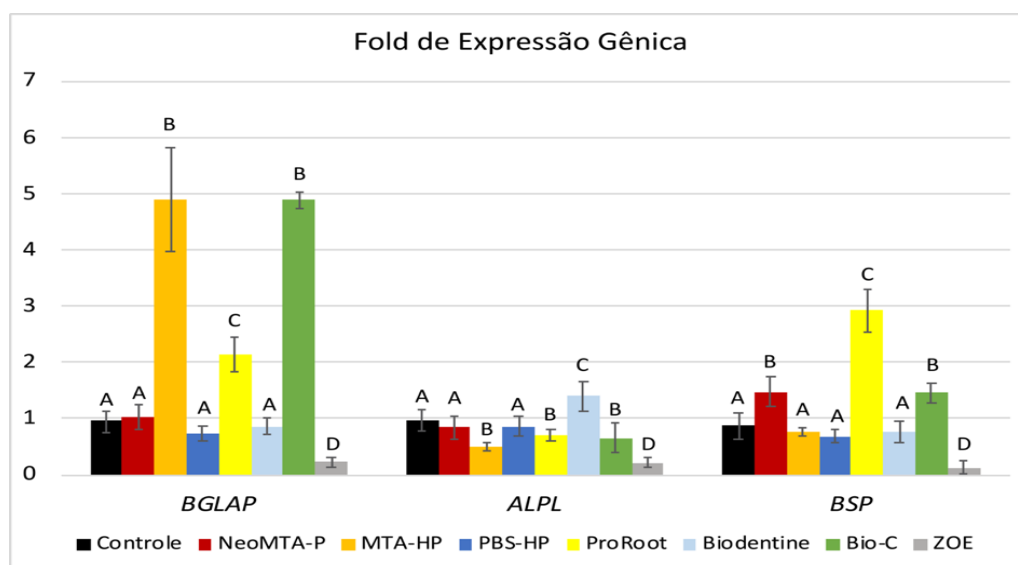


Figura 4: Gráficos do *fold* de expressão dos genes *BGLAP*, *ALPL* e *BSP*. *BGLAP* é o gene da osteocalcina, *ALPL* é gene da fosfatase alcalina e *BSP* é o gene da sialoproteína óssea. CT, grupo controle de células não expostas e, respectivamente, os cimentos reparadores NeoMTA Plus, MTA Repair-HP, PBS-HP, ProRoot MTA, Biodentine, Bio-C Repair, Cimento de óxido de zinco e eugenol (controle negativo). Letras diferentes representam diferença estatística entre grupos (One-way ANOVA, Bonferroni, $p < 0.05$).

2.3.4. Atividade Fosfatase Alcalina

O grupo controle apresentou atividade de fosfatase alcalina equivalente a 1046U/L. As células do tipo Saos-2 expostas ao cimento NeoMTA-P (1277U/L) apresentaram atividade da ALP significativamente maior quando comparadas ao grupo controle (1046U/L) e demais grupos (Figura 5). Os grupos ProRoot (1119U/L) e MTA-HP (1114U/L) também tiveram níveis significativamente aumentados de atividade da ALP comparada aos outros grupos. Não houve diferença estatística na atividade de fosfatase alcalina para os grupos PBS-HP (1069U/L), BIO-C (934U/L), Biodentine (1009U/L) e CT (1047U/L) (tabela 2).

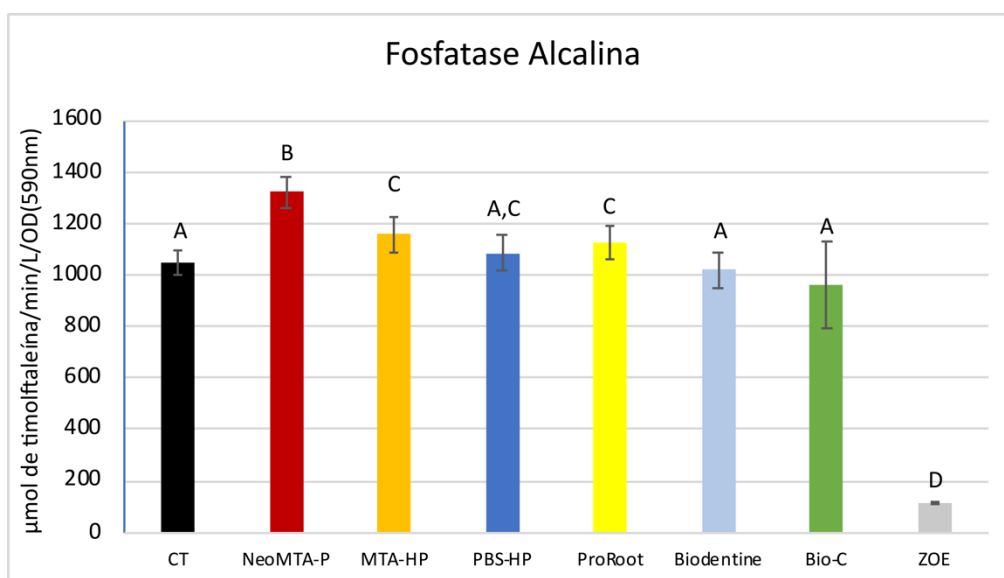


Figura 5: Gráfico de atividade da fosfatase alcalina. CT, grupo controle de células não expostas e atividade da fosfatase alcalina nos grupos NeoMTA Plus, MTA Repair-HP, PBS-HP, ProRoot MTA, Biodentine, Bio-C Repair, Cimento de óxido de zinco e eugenol (controle negativo). Letras diferentes representam diferença estatística entre grupos (One-way ANOVA, Bonferroni, $p < 0.05$).

Tabela 2: Média da atividade de fosfatase alcalina.

Grupo	Atividade média ALP (μmol de timoftaleína/min/L/OD)	Desvio padrão	Diferença estatística entre os grupos ($p < 0.05$)*
CT	1050.5	± 47.2	A
NeoMTA Plus	1321.8	± 60.5	B
MTA-HP	1157.3	± 70.4	C
PBS-HP	1084.8	± 71.3	A,C
ProRoot	1126.5	± 64.4	C
Biodentine	1018.6	± 69.4	A
Bio-C	959.8	± 165.8	A
ZOE	113	± 6	D

*Letras diferentes representam diferença estatística entre grupos (One-way ANOVA, Bonferroni, $p < 0.05$).

2.4. DISCUSSÃO

A biocompatibilidade e o potencial bioativo dos cimentos influenciam diretamente o reparo das estruturas dentárias acometidas pelas diversas doenças endodônticas. Essas características direcionam a escolha do material a ser utilizado em tratamentos como cirurgias apicais, reabsorções ou perfurações radiculares, por exemplo. Os novos cimentos Bio-C Repair e PBS-HP, avaliados neste estudo apresentaram propriedades biológicas semelhantes ou até superiores às dos cimentos a base de MTA em determinadas análises.

As células do tipo osteoblastos humanos expostas aos novos cimentos Bio-C Repair e PBS-HP apresentaram alta taxa de viabilidade celular (100.65% e 95.3%, respectivamente), comprovando a biocompatibilidade destes em relação às células ósseas. Esse resultado, provavelmente se deve a capacidade

deste material de manter o pH básico no meio circundante e liberar íons cálcio, que são favoráveis à proliferação de células osteoblásticas [17,18]. Em um estudo diferente, com células de ligamento periodontal, o cimento Bio-C Repair apresentou resultados de biocompatibilidade [19]. Não foram encontrados outros estudos semelhantes a este com o cimento PBS-HP. Os demais cimentos avaliados, como o ProRoot MTA e o Biodentine, também apresentaram resultados de biocompatibilidade. Entretanto, quando avaliados em células da papila dentária humana expostas a eluídos, os cimentos ProRoot MTA e Biodentine apresentaram, respectivamente, biocompatibilidade e citotoxicidade de forma dose e tempo-dependente [20]. O cimento Biodentine tem apresentado resultados de biocompatibilidade semelhantes em estudos *in vitro* com outras linhagens de células osteoblásticas [21]. Porém, este cimento parece ter alguma citotoxicidade em células da papila dentária e células pulpares [22]. Esta divergência de resultados em diferentes linhagens celulares, aponta para a importância de estudos como este e de considerar o tecido que será exposto a determinado material endodôntico quando do seu uso clínico. Além do tipo celular que estará exposto ao cimento endodôntico, a biocompatibilidade do material pode ser influenciada pelo tempo de presa, contato direto e eluídos contendo elementos tóxicos da sua composição [23].

Os resultados do experimento *Wound Healing* corroboraram e ofereceram mais informações quanto a viabilidade e capacidade de migração das células expostas aos cimentos biocerâmicos. Interessantemente, as células expostas aos cimentos Bio-C e NeoMTA-P tiveram um comportamento similar, a taxa de migração celular foi significativa apenas em 72h de exposição. Adicionalmente, em 96h de exposição aos cimentos Bio-C, PBS-HP, ProRoot, NeoMTA-P e Biodentine as células apresentaram velocidade de migração semelhante, mas nenhum dos grupos de cimentos fechou por completo a área de *wound* como o grupo controle. Resultado semelhante foi encontrado por Tomás-Catalá *et al.* (2017) [24] que avaliaram a proliferação de células pulpares humanas quando expostas a eluídos dos cimentos MTA-HP, NeoMTA Plus e Biodentine. As amostras de células expostas ao MTA-HP e o NeoMTA-P apresentaram maiores áreas de espaços abertos em 48h, enquanto o grupo Biodentine, em todas as diluições testadas, apresentou maior taxa de migração celular [24]. Uma hipótese para explicar o comportamento diferente das células

osteoblásticas expostas aos biocerâmicos, pode ser o efeito bioativo destes materiais, em especial, ativação de vias de sinalização de Ca^{+2} . Um estudo demonstrou que na presença de altos níveis de partículas de fosfato de cálcio houve inibição da proliferação celular mesmo sem qualquer efeito citotóxico em células osteoblásticas Saos-2 [25]. O aumento da concentração intracelular de Ca^{+2} pode desencadear alterações nos níveis intracelulares de cAMP, da atividade da proteína quinase C e de desidrogenases mitocondriais, modificação do pH intracelular, ativar expressão gênica entre outros [25]. Resultado semelhante foi obtido nesse estudo, apesar da proliferação celular ter sido mais baixa nos grupos de cimento, as células na região adjacente do *Wound Healing* estavam aderidas e com características morfológicas de normalidade [25,26]. Nossa hipótese é de que a alta concentração de íons provenientes dos materiais biocerâmicos estimulou a diferenciação celular, que em geral se desenvolve inversamente proporcional a proliferação.

O comportamento de osteoblastos é modulado por receptores extracelulares sensíveis a cálcio (CaSR). Foi demonstrado que os CaSR são os maiores mediadores de sinalização celular em reações biológicas induzidas pelo MTA [27]. O estudo realizado em células da polpa dentária humana (hDPC) demonstrou que o efeito do MTA causa uma modulação dual por meio dos CaSR envolvendo Ca^{+2} e pH [27]. Em especial, a cascata de ativação “MTA-CaSR-via da fosfolipase C” demonstrou um importante papel na diferenciação osteogênica destas células regulando a transcrição gênica [27]. Os níveis de expressão de Osteocalcina, Osteopontina, Sialoproteína Dentinária e outros marcadores de mineralização aumentaram significativamente após exposição das hDPCs ao MTA [27]. Outro estudo demonstrou que o ProRoot MTA foi capaz de induzir a osteoblastogênese em células MC3T3-E1 através da indução do fator 6 de transcrição (Atf6) e consequentemente aumento da expressão da Osteocalcina [28]. Os grupos de células osteoblásticas expostas ao MTA-HP, Bio-C e ProRoot, em nosso estudo, também apresentaram uma maior expressão do gene da osteocalcina (*BGLAP*). A osteocalcina é a proteína não colágena mais abundante e expressa no osso. Sua função ainda não está completamente elucidada, possivelmente essa proteína deve regular a taxa de mineralização, uma vez que se liga fortemente ao cálcio em cristais de hidroxiapatita e forma um complexo com o colágeno através da proteína de matriz osteopontina [29].

Supersaturação do meio extracelular com íons e biomoléculas, como proteínas da matriz óssea, pode atuar como agente controlador do padrão de formação dos cristais de hidroxiapatita [15,30]. Quanto ao gene da sialoproteína óssea (*BSP*), os grupos Bio-C, NeoMTA-P e MTA-HP apresentaram os maiores níveis de expressão. Resultados semelhantes foram apresentados para o cimento ProRoot MTA, após exposição de cementoblastos (OCCM-30) por 5 dias. Não foram encontrados outros estudos que avaliassem a expressão desse gene em células expostas ao Bio-C Repair ou PBS-HP [26].

A expressão gênica de *ALPL*, importante marcador da mineralização óssea, foi inibida em todos os grupos avaliados, exceto o grupo Biodentine que apresentou super expressão do gene. Células embrionárias de camundongo quando expostas aos cimentos MTA e Bioaggregate apresentaram super expressão dos genes *ALPL*, *BSP* e *BGLAP*; enquanto o grupo Biodentine apresentou inibição da expressão após 72h. Este resultado foi oposto ao nosso estudo, possivelmente devido ao menor tempo de exposição [31]. A expressão destes marcadores de osteogênese (*ALPL*, *BSP* e *BGLAP*) costuma ser utilizada para dividir a osteoblastogênese em 3 fases: fase inicial (*ALPL*), fase intermediária (*BSP* e osteopontina) e fase tardia (*BGLAP*) [28]. Os materiais avaliados neste estudo parecem ter induzido as células osteoblásticas em taxas diversas de diferenciação. Células expostas ao Bio-C, MTA-HP, ProRoot e NeoMTA-P apresentaram maior expressão de *BGLAP* e/ou *BSP* em 4 dias de exposição, podendo indicar uma fase intermediária ou tardia de diferenciação. O grupo Biodentine por sua vez, apresentou maior expressão de *ALPL* em 4 dias, que pode ser indicativo de uma fase inicial de diferenciação. Curiosamente, esses resultados são consistentes com os do ensaio de *Wound Healing* em que os cimentos Bio-C, MTA-HP, ProRoot e NeoMTA-P parecem ter induzido mais rapidamente uma fase de diferenciação em detrimento da proliferação celular nas primeiras 48 horas, enquanto o Biodentine apresentou a maior proliferação celular comparado aos outros materiais. Por outro lado, a atividade da enzima fosfatase alcalina nas células osteoblásticas foi alta ou similar ao grupo controle, após 5 dias de exposição. Os grupos de cimentos baseados em MTA, como o NeoMTA-P, MTA HP Repair e ProRoot MTA, apresentaram atividade de ALP significativamente mais alta que todos os grupos avaliados. Esse resultado, pode explicar a inibição da expressão gênica de *ALPL*, como um *feedback* negativo

uma vez que produção da enzima pelas células expostas aos cimentos estava alta. Essa hipótese é corroborada por outro estudo em que células osteoblásticas (Saos-2) expostas por 3 dias ao cimento MTA Plus apresentaram inibição da expressão gênica de *ALPL* e aumento da atividade enzimática [9]. A hipótese mais provável é que a disponibilidade de íons cálcio provenientes do material e o pH alcalino do meio tenham induzido maior atividade enzimática da ALP [15].

De uma maneira geral, o cimento Bio-C Repair apresentou excelente biocompatibilidade e potencial bioativo sobre células ósseas neste estudo. Inclusive, determinados resultados foram superiores a outros cimentos consagrados e bastante semelhante ao do cimento NeoMTA Plus. Por outro lado, o cimento PBS-HP apresentou, em sua maioria, resultados semelhantes ao do grupo controle. Apesar da escassa literatura sobre o PBS-HP, a presença de pozolana em sua composição parece conferir a este material um alto nível de óxido de sílica e alumínio altamente reativo com hidróxido de cálcio, além de diminuir consideravelmente o tempo de presa [14]. Possivelmente, devido a esta característica, o PBS-HP já estava completamente endurecido quando avaliado, de tal forma que a biodisponibilidade de íons cálcio foi menor em suas amostras. Conseqüentemente, suas características osteoindutoras não foram superiores às dos demais cimentos biocerâmicos.

2.5. CONCLUSÃO

- A reposta dos tecidos ao cimento reparador utilizado pode determinar o sucesso da terapia endodôntica e por isso o potencial bioativo é essencial nesse tipo de material, associado as suas propriedades físico-químicas.
- De uma maneira geral, os cimentos biocerâmicos, Bio-C Repair, PBS-HP, NeoMTA-P, Biodentine, ProRoot e MTA-HP apresentaram potencial bioativo em células osteoblásticas humanas.
- As células do tipo Saos-2 quando expostas aos cimentos Bio-C Repair, PBS-HP, NeoMTA-P, Biodentine, ProRoot e MTA-HP têm sua proliferação alterada, porém sua morfologia se mantém com características de normalidade.

- O Bio-C Repair com sua formulação “pronta para uso” e fácil manipulação é uma alternativa interessante no tratamento de perfurações radiculares, cirurgias apicais e até mesmo tratamentos regenerativos.

2.6. REFERÊNCIAS

1. Torabinejad M, Pitt Ford TR, McKennedy DJ, Abedi HR, Miller DA, Kariyawasam SP. Histologic assessment of mineral trioxide aggregate as a root- end filling in monkeys. *J Endod.* 1997; 23: 225.
2. Daoudi MF, Saunders WP. In vitro evaluation of furcal perforation repair using mineral trioxide aggregate or resin modified glass ionomer cement with and without the use of the operating microscope. *J Endod.* 2002; 28:512.
3. Souza NJ, Justo GZ, Oliveira CR, Haun M, Bincoletto C. Cytotoxicity of materials used in perforation repair tested using the V79 fibroblast cell line and the granulocyte-macrophage progenitor cells. *Int Endod J.* 2006; 39:40–47.
4. Camilleri J, Cutajar A, Mallia B. Hydration characteristics of zirconium oxide replaced Portland cement for use as a root-end filling material. *Dent Mater.* 2011; 27: 845-854.
5. Koch KA, Brave GD, Nasseh AA. Bioceramic technology: closing the endo-restorative circle, part 2. *Dent Today.* 2010; 29:98.
6. Zhang W, Li Z, Peng B. Assessment of a new root canal sealer's apical sealing ability. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009;107(6):79-82.
7. Best SM, Porter AE, Thian ES, Huang J. Bioceramics: Past, Present and for the Future, *Journal of the European Ceramic Society.* 2008; 28: 1319-13.
8. Hench LL. Bioceramics: from concept to clinic. *J Am Ceram Soc.* 1991;74(7):1487–1510.
9. Gomes-Cornélio AL, Rodrigues EM, Salles LP, Mestieri LB, Faria G, Guerreiro-Tanomaru JM, Tanomaru-Filho M. Bioactivity of MTA Plus, Biodentine and an experimental calcium silicate-based cement on human osteoblast-like cells. *Int Endod J.* 2015; 1-9.
10. Benetti F, Queiroz IOA, Cosme- Silva L, Conti LC, Oliveira SHP, Angelo Cintra LTA. Cytotoxicity, Biocompatibility and Biomineralization of a New

- Ready-for-Use Bioceramic Repair Material. *Brazilian Dental Journal*. 2019; 30(4): 325-332.
11. Zerbinatti CC, Veiga DF, Oliveira MAB, Mundim FGV, Pereira RM, Azevedo F, Schnaider TB, Neto JDS. Bioceramic cement in the filling of bone defects in rats. *Acta Cir Bras*. 2019;34-36.
 12. McQuillan DJ, Richardson MD, Bateman JF. Matrix deposition by a calcifying human osteogenic sarcoma cell line (SAOS-2). *Bone*. 1995; 16: 415–426.
 13. Belío-Reyes IA, Bucio L, Cruz-Chaves E. Phase composition of ProRoot mineral trioxide aggregate by X-ray powder diffraction. *J Endod*. 2009;35(6):875-878.
 14. Al-Chaar G. Natural Pozzolan as a Partial Substitute for Cement in Concrete. *The Open Construction and Building Technology Journal*. 2013;1-11.
 15. Salles LP, Gomes-Cornelio AL, Guimaraes FC, Herrera BS, Bao SN, Rossa-Junior C, Guerreiro-Tanomaru JM, Tanomaru-Filho M. Mineral trioxide aggregate-based endodontic sealer stimulates hydroxyapatite nucleation in human osteoblast-like cell culture. *J Endod*. 2012; 38: 971-976.
 16. Jonkman JEN, Cathcart JA, Xu F, Bartolini ME, Amon JE, Stevens KM, Colarusso P. An introduction to the wound healing assay using live-cell microscopy. *Cell Adhesion & Migration*. 2014; 8:4 40-451.
 17. Islam I, Kheng Chng H, Jin Yap, A. U. Comparison of the Physical and Mechanical Properties of MTA and Portland Cement. *J Endod*. 2006; 32(3): 193–197.
 18. Kowaltowski AJ, Menezes-Filho SL, Assali EA, Gonçalves IG, Cabral-Costa JV, Abreu P, Shirihai OS. Mitochondrial morphology regulates organellar Ca²⁺ uptake and changes cellular Ca²⁺ homeostasis. *The FASEB Journal*. 2019; 33:13176-13188.
 19. Lozano FJR, García SL, Bernal DG, Lloret MRP, Gironés JG, Lloret MPP, Lozano A, Llena C, Spagnuolo G, Forner L. In Vitro Effect of Putty Calcium Silicate Materials on Human Periodontal Ligament Stem Cells. *Appl. Sci*. 2020;10: 325:1-13.

20. Sequeira DB, Seabra CM, Palma PJ, Cardoso AL, Peça J, Santos JM. Effects of a New Bioceramic Material on Human Apical Papilla Cells. *J. Funct. Biomater.* 2018; 9: 74.
21. Attik GN, Villat C, Hallay F, Pradelle-Plasse N, Bonnet H, Moreu K, Colon P, Grosogoeat B. In vitro biocompatibility of a dentine substitute cement on human MG63 osteoblasts cells: biodentine versus MTA. *Int Endod J.* 2014; 47: 1133–1141.
22. Luo Z, Li D, Kohli MR, Yu Q, Kim S, He WX. Effect of Biodentine on the proliferation, migration and adhesion of human dental pulp stem cells. *Journal of Dentistry.* 2014;42: 490–497.
23. Tsai CL, Ke MC, Chen YH, Kuo HK, Yu HJ, Chen CT, Tseng YC, Chuang PC, Wu PC. Mineral trioxide aggregate affects cell viability and induces apoptosis of stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *BMC Pharmacology and Toxicology.* 2018; 19:21.
24. Tomás-Catalá CJ, Collado-González M, Garcia-Bernal D, Onate-Sanches RE, Forner L, Llena C, Lozano A, Moraleda JM, Rodríguez-Lozano FJ. Biocompatibility of New Pulp-capping Materials NeoMTA Plus, MTA Repair HP, and Biodentine on Human Dental Pulp Stem Cells. *J Endod.* 2018; 44(01):126-132.
25. Midy V, Dard M, Hollande E. Evaluation of the effect of three calcium phosphate powders on osteoblast cells. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine.* 2001; 12(3), 259–265.
26. Hakki SS, Bozkurt SB, Hakki EE, Belli S. Effects of Mineral Trioxide Aggregate on Cell Survival, Gene Expression Associated with Mineralized Tissues, and Biomineralization of Cementoblasts. *Journal of Endodontics.* 2009; 35(4), 513–519.
27. Kim JM, Choi S, Kwack KH, Kim S.-Y., Lee, H-W, Park K. G protein-coupled calcium-sensing receptor is a crucial mediator of MTA-induced biological activities. *Biomaterials.* 2017; 127, 107–116.
28. Maeda T, Suzuki A, Yuzawa S, Baba Y, Kimura Y, Kato Y. Mineral trioxide aggregate induces osteoblastogenesis via Atf6. *Bone Reports.* 2015; 2, 36–43.
29. Zoch ML, Clemens TL, Riddle RC. New insights into the biology of osteocalcin. *Bone.* 2016;82:42-9.

30. Jiang H & Liu XY. Principles of mimicking and engineering the self-organized structure of hard tissues. *J BiolChem.* 2004; 279:41286-41293.
31. Lee BN, Lee KN, Koh JT, Min KS, Chang HS, Hwang IN, Hwang YC, Oh WM. Effects of 3 endodontic bioactive cements on osteogenic differentiation in mesenchymal stem cells. *J Endod.* 2014; 40: 1217–1222.

CAPÍTULO 3

**CIMENTO BIOCERÂMICO NO TRATAMENTO CONSERVADOR
DE PERFURAÇÃO RADICULAR EM MOLAR INFERIOR.**

*Artigo aceito para publicação em 13 de novembro de 2019.
Revista Dental Press Endodontics

RESUMO

INTRODUÇÃO: A perfuração radicular é um acidente técnico-operatório que resulta em comunicação da cavidade pulpar com os tecidos periodontais. Esse tipo de acidente pode apresentar prognóstico desfavorável por afetar significativamente o soalho da câmara coronária ou os terços cervical, médio e apical do canal radicular. Entre os fatores que interferem no prognóstico das perfurações radiculares, destacam-se: localização, extensão, presença ou ausência de bolsa periodontal, tempo decorrido entre a perfuração e o tratamento, e tipo de material obturador. Neste contexto, os cimentos obturadores de canais denominados Biocerâmicos surgiram como uma proposta inovadora para tratamento de perfurações antes consideradas de prognóstico desfavorável. **OBJETIVO:** Este trabalho teve por objetivo relatar o tratamento de uma perfuração radicular em molar inferior com o cimento biocerâmico EndoSequence BC Sealer, após 3 anos de preservação. **RESULTADOS:** As imagens radiográficas e os dados clínicos do paciente evidenciaram o sucesso no tratamento da perfuração, com reparo da lesão periradicular. **CONCLUSÃO:** O cimento endodôntico biocerâmico EndoSequence BC Sealer associado com a retomada do trajeto original do conduto e sua instrumentação, favoreceram o reparo dos tecidos perirradiculares, sugerindo propriedades biológicas promissoras de compatibilidade e bioatividade.

Palavras chaves: Tratamento do Canal Radicular. Cimento de Silicato. Cimentos Dentários. Obturação do Canal Radicular

ABSTRACT

INTRODUCTION: Root perforation is a technical-surgical accident that results in communication of the pulp cavity with periodontal tissues. This type of accident may have an unfavorable prognosis because it significantly affects the floor of the coronary chamber or the cervical, middle and apical thirds of the root canal. Factors that interfere with the prognosis of root perforations include location, extension, presence or absence of periodontal pocket, time elapsed between perforation and treatment, and type of obturator material. In this context, Bioceramic canal sealers have emerged as an innovative proposal for treatment of perforations previously considered to have an unfavorable prognosis. **OBJECTIVE:** The aim of this study was to report the treatment of a lower molar root perforation with the EndoSequence BC Sealer bioceramic sealer after 3 years follow up. **RESULTS:** Radiographic images and patient clinical data showed success in the treatment of perforation with repair of the periradicular lesion. **CONCLUSION:** EndoSequence BC Sealer bioceramic endodontic sealer associated with the resumption of the original conduit path and its instrumentation favored the repair of periradicular tissues, suggesting promising biological properties of compatibility and bioactivity.

HEADINGS: Silicate Cement. Root Canal Filling Materials. Root Canal Obturation. Dental Cements

3.1 INTRODUÇÃO

As perfurações radiculares intra-ósseas representam um dos mais complexos acidentes da endodontia. Normalmente, são causadas por inexperiência profissional ou desconhecimento de anatomia dentária interna e suas variações [1]. A localização e possibilidade de acesso à perfuração está diretamente ligada ao prognóstico. O tratamento de uma perfuração intraóssea, independente do motivo, consiste em localização, descontaminação e preenchimento com material biocompatível, com capacidade de vedamento, insolúvel e tolerante à umidade. Perfurações no terço apical são complicadas pois normalmente estão além de curvaturas, dificultando aplicação de algum material reparador. Além disso, o trajeto do canal deve ser retomado e o conduto preparado adequadamente, caso contrário, o prognóstico se torna ainda pior [2].

O sucesso do tratamento de uma perfuração radicular depende diretamente das propriedades apresentadas pelo material obturador a ser utilizado. A endodontia vem evoluindo com o passar dos anos, novos materiais têm sido desenvolvidos, com propriedades melhoradas principalmente em relação a compatibilidade tecidual. Materiais como amálgama, cimento de ionômero de vidro, cimentos à base de resina e cimentos à base de óxido de zinco-eugenol deixaram de ser utilizados por serem tóxicos, e não promoverem bom selamento na presença de umidade resultando em infiltração bacteriana [3]. Inicialmente, na década de 90, o material proposto para tratamento de perfurações radiculares era o MTA (Agregado Trióxido Mineral), que pode ser considerado o primeiro cimento biocerâmico. Ao longo dos anos, o MTA vem sofrendo modificações, principalmente em relação ao escoamento, para ser utilizado como cimento obturador de canais radiculares. Os novos cimentos que surgiram na endodontia a partir do aprimoramento do MTA, definidos como material livre de cimento Portland, consolidaram essa nova classe de cimento endodôntico denominados biocerâmicos [4]. O MTA é composto por partículas hidrofílicas de silicatos de cálcio, óxido de silicato, sulfato de cálcio di-hidratado, aluminoferrato de tetracálcio e pequenas quantidades de óxidos minerais. Possui a capacidade de estimular formação e reparo do tecido ósseo e, portanto, biocompatível com os tecidos perirradiculares [5]. Porém possui algumas limitações, em relação a manipulação do material, escoamento e manchamento

da estrutura dentária causado principalmente pelo radiopacificador óxido de bismuto [8]. Outro fator negativo do radiopacificador, óxido de bismuto, é que sua presença na composição do MTA, resulta em uma superfície porosa deixando o material mais solúvel quando comparado ao cimento Portland puro. O aprimoramento desse material tem viabilizado seu uso em diversas modalidades da endodontia, abrangendo casos ainda mais complexos com prognósticos ainda melhores [9].

Os primeiros relatos sobre biocerâmicos na endodontia, citam o Bioaggregate (Verio Dental) que apresentava a composição similar ao MTA, exceto pela ausência do radiopacificador óxido de bismuto, substituído pelo óxido de tântalo, e presença de outros componentes como o fosfato de cálcio e óxido de silício. De fato, os materiais biocerâmicos podem ser considerados como variações da composição do MTA, que também é um biocerâmico, baseados em silicato de cálcio associados a diferentes agentes radiopacificadores. A terminologia biocerâmico, tem gerado alguma divergência quanto a interpretação; pois não representa um biomaterial, mas sim um cimento cerâmico biocompatível, com aplicações na medicina e odontologia [4,6].

Sua biocompatibilidade se deve a similaridade com o processo biológico de formação de hidroxiapatita e à capacidade de induzir formação e reparação tecidual. A nanotecnologia foi de grande importância para viabilizar o uso dos biocerâmicos na odontologia. Nanopartículas biocerâmicas aumentaram a adaptação do adesivo a nano-irregularidades, com tempo de presa reduzido, além de outras propriedades como estabilidade dimensional, insolubilidade ao fluido tecidual, ligação química ao tecido dentário, e osteocondutividade. Sua composição de silicatos tricálcicos e dicálcicos, fosfatos de cálcio, hidróxido de cálcio e óxido de zircônio como um radiopacificador podem conferir a esse material propriedades biológicas importantes, como biocompatibilidade e bioatividade, tornando-o um material extremamente interessante para a odontologia [6]. Os bioagregados são produzidos em laboratório, e com produtos químicos como matéria-prima e não minerais naturais [4]. Apresentam o silicato tricálcico como o componente principal em substituição ao cimento Portland evitando a incorporação de metais pesados.

A hidratação do composto biocerâmico se mantém semelhante à do MTA, porém com a substituição do radiopacificador óxido de bismuto, que alterava a

coloração da estrutura dentária. Alguns aditivos foram incorporados à sua composição ocasionando menor radiopacidade, porém com hidratação melhorada [4].

O cimento Endodôntico Endosequence® BC Sealer® é um biocerâmico desenvolvido a base de óxido de zircônia, silicato de cálcio, fosfato de cálcio monobásico, hidróxido de cálcio e agentes espessantes. Possui tempo de presa inicial de aproximadamente 4 horas na temperatura ambiente e a capacidade de endurecer apenas quando exposto a umidade [7]. Essas propriedades tornam esses cimentos extremamente interessantes para tratamento de perfurações radiculares [8]. O tempo de presa desse material reduz com a presença de umidade. Essa umidade proveniente dos túbulos dentários é capaz hidratar o cimento que inicia o processo de presa, e resulta na formação de hidroxiapatita, promovendo uma ligação química à dentina [8].

Assim, este trabalho teve por objetivo relatar um caso clínico de tratamento endodôntico com o cimento biocerâmico EndoSequence BC Sealer em molar inferior apresentando perfuração na raiz mesiolingual e seu resultado após 3 anos de preservação.

3.2 RELATO DE CASO

Paciente do sexo feminino, 38 anos, foi encaminhada a clínica odontológica, para avaliação e planejamento de tratamento de perfuração. Clinicamente apresentava discreto edema na região vestibular do dente 36 e queixa de sensibilidade à percussão. A radiografia periapical evidenciou imagem radiolúcida associada as raízes mesiais e distal. Foi solicitada tomografia computadorizada cone beam, e observou-se desvio da luz canal e perfuração radicular no canal mesiolingual e área hipodensa na região apical (Figuras 1A e 1B).

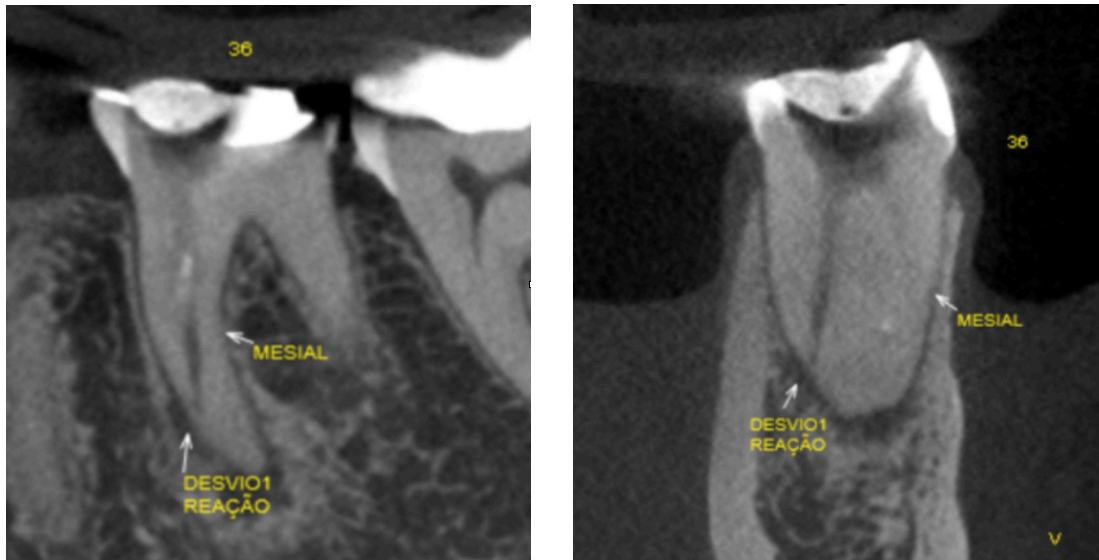


Figura 1 A. Tomografia computadorizada com imagem evidenciando o desvio e perfuração.
Figura 1 B. Perfuração do canal mésiolingual

Na primeira sessão, após anestesia local, foi realizado acesso coronário com brocas esféricas diamantadas 1012 e 2083 (KG Sorensen, Barueri, SP, Brasil), isolamento absoluto, irrigação com Hipoclorito de Sódio 2.5% (ASFER, Indústria Química Ltda. São Caetano do Sul, SP, Brasil). Limas manuais tipo K-file #10 (Dentsply Maleifer, Ballaigues-Suíça) foram utilizadas na exploração inicial dos condutos localização do ponto de desvio da luz do canal e da perfuração da raiz mesiolingual (Figura 2A). Com a lima manual pré curvada, tocando as paredes do conduto foi possível retomar o trajeto original, realizar a odontometria e atingir a patência (Figura 2B). Os condutos mesiovestibular e distal também foram explorados em todo seu comprimento atingindo a patência. Os condutos foram irrigados com solução estéril de soro fisiológico para neutralização da solução de hipoclorito de sódio e em seguida a sessão foi finalizada com medicação intracanal com solução aquosa de clorexidina 2% (Maquira, Maringá, PR, Brasil), visto que os condutos não haviam sido instrumentados completamente, e restauração provisória com cimento de ionômero de vidro Vidrion R (SS White, São Paulo, SP, Brasil).



Figura 2 A. Desvio da luz do canal e da perfuração da raiz mesiolingual.



Figura 2 B. Lima manual pré-curvada retomando o trajeto original do canal

Na segunda sessão, com intervalo de 7 dias, o atendimento foi iniciado com anestesia, isolamento absoluto, abertura coronária e irrigação inicial com soro fisiológico para remoção completa da medicação de clorexidina 2% seguida

de irrigação do conduto com Hipoclorito de Sódio 2.5% (ASFER, Indústria Química Ltda. São Caetano do Sul, São Paulo, Brasil). Para instrumentação do canal mesiolingual a lima K #10 foi inserida no conduto 1mm além do forame e, com auxílio do motor oscilatório, as paredes do conduto foram instrumentadas até que o trajeto estivesse livre. Em seguida, uma lima tipo K #15 foi inserida 1mm além do forame, para que fosse realizado a passagem através do forame, acoplada ao motor oscilatório e o conduto instrumentado. Na sequência, o preparo dos canais foi realizado com o sistema manual Prodesign M® (Easy, Belo Horizonte, MG, Brasil). Com a lima #.25/06 pré curvada realizou-se o pré-alargamento dos terços médio e cervical, com movimento rotatório. Em seguida, com a lima #.25/01, também pré-curvada, seguiu-se em movimento rotatório por todo o trajeto do conduto até atingir a patência. Posteriormente, com a lima #.15/05 também em movimento rotatório atingiu-se a patência e, em seguida, finalizou-se o preparo com a lima #.25/06 (Figuras 3A e 3B). Os canais mesiovestibular e distal seguiram o mesmo protocolo, porém o distal foi ampliado até a lima #35. Após a instrumentação dos canais e irrigação, procedeu-se com inundação do conduto com EDTA (Biodinâmica, Ibioporã, Paraná, Brasil), seguida de ativação com Easy Clean® (Easy, Belo Horizonte, MG, Brasil) e secagem do canal com cones de papel estéreis. Foi inserida, com auxílio de uma espiral de lentulo, a medicação intracanal com hidróxido de cálcio PA e soro fisiológico estéril e o dente foi restaurado provisoriamente com ionômero de vidro.

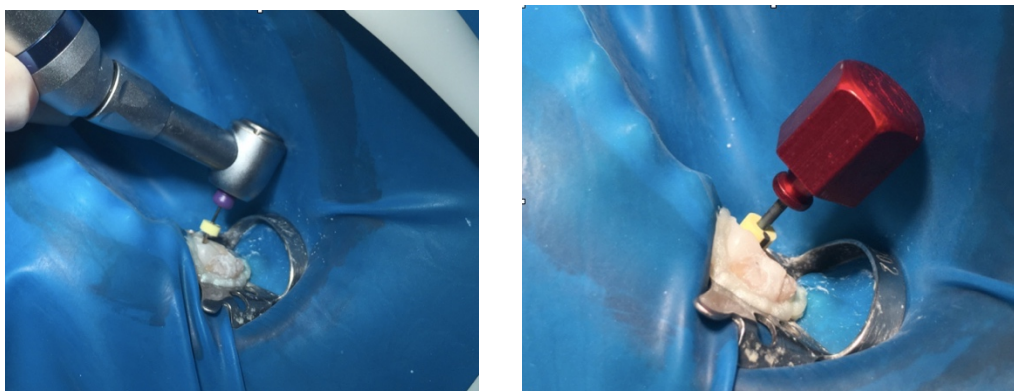


Figura 3 A. K #10 inserida 1mm além do forame e acoplada ao motor oscilatório. **Figura 3 B.** Instrumento #.25/06 sistema prodesign M.

Na terceira sessão, com intervalo de 30 dias, o atendimento foi iniciado com anestesia, isolamento absoluto, abertura coronária, irrigação abundante com Hipoclorito de Sódio 2.5% para remoção da medicação intracanal, seguida de inundação final do conduto com EDTA e ativação com Easy Clean®. Na sequência, os canais foram secos com cone de papel estéril e obturados com cone único de guta percha (ENDOTANARI, Manaus, Amazonas, Brasil) envoltos pelo cimento endodôntico EndoSequence BC Sealer (Brasseler USA, Dental Instrumentation, EUA), que além de envolver o cone de guta percha, foi levado ao interior do conduto com auxílio de espiral de lentulo, com o intuito de garantir o escoamento do cimento e selar a perfuração. Como o cimento é pronto para uso, não foi necessária manipulação prévia e sua aplicação seguiu a recomendação do fabricante para técnica de obturação a frio: cone único. Foi realizado o selamento da cavidade com resina Opus Bulk Fill Flow (FGM, Joinville, Santa Catarina, Brasil) e a paciente encaminhada para reabilitação protética (Figura 4A). A paciente retornou para avaliação clínica e radiográfica em 12 e 36 meses (Figuras 4B e 4C). A retomada do caminho original do canal mesiolingual do dente 36, o preparo químico-mecânico e a obturação com cimento endodôntico à base de silicato de cálcio permitiram o reparo perirradicular, após preservação de 3 anos.



Figura 4 A. Radiografia imediatamente após a finalização do tratamento. **Figura 4 B.** Radiografia 12 meses após a obturação dos condutos.



Figura 4 C. Radiografia após 36 meses sugerindo reparo apical

3.3 DISCUSSÃO

O tratamento de perfurações radiculares é um desafio para o profissional pois sua abordagem e êxito dependem de vários fatores: localização, facilidade de acesso, preenchimento e selamento com material biocompatível e principalmente presença ou não de contaminação. No presente trabalho, inicialmente foi proposta a cirurgia apical, porém devido a dificuldade de acesso à região e prognóstico duvidoso, optou-se pela utilização do cimento biocerâmico. A obturação com este material poderia representar uma nova opção com prognóstico mais favorável. Apesar da escassa literatura apresentada sobre o cimento biocerâmico Endosequence BC Sealer, os estudos *in vitro* e modelos animais indicavam um interessante potencial bioativo para induzir reparo de tecidos mineralizados.

Diferentemente deste estudo, em que a perfuração radicular ocorreu no terço apical sem possibilidade de visualização do local com microscópio, o estudo realizado por Dhingra A, Saurabh, Brullar HK, por exemplo, utilizaram o EndoSequence Root Repair (Brasseler) para selamento de perfuração no assoalho da câmara pulpar. A região afetada foi selada com o material biocerâmico e após 6 meses de acompanhamento foi possível observar radiograficamente imagem sugestiva de reparo da região e o paciente sem

queixas de qualquer sintoma [14]. A grande maioria dos relatos de tratamentos não cirúrgicos de perfuração radicular são em regiões acessíveis como assoalho da câmara pulpar e terços cervical e médio onde é possível a visualização com microscópio. Regiões apicais normalmente exigem uma intervenção cirúrgica, diferentemente do caso apresentado nesse estudo, onde foi possível retomar o trajeto original do conduto, promovendo sua instrumentação e descontaminação, viabilizando sua obturação com escoamento do cimento biocerâmico para o local da perfuração. Propriedades como escoamento, selamento, biocompatibilidade entre outras, além da instrumentação do conduto original, foram essenciais para o sucesso do tratamento sem que houvesse necessidade de intervenção cirúrgica [15].

Os resultados obtidos neste trabalho demonstraram importantes propriedades do Endosequence como radiopacidade adequada nas radiografias e escoamento satisfatório possibilitando o preenchimento da região perfurada e sua visualização. Candeiro GT, et.al. [11] realizaram um estudo comparativo e avaliaram algumas propriedades físico-químicas do cimento biocerâmico Endosequence BC Sealer comparadas ao AH Plus (cimento à base de resina). A radiopacidade do biocerâmico foi inferior ao AH Plus, porém ambos dentro dos limites das normas ISO 6876/2001. Já a liberação de íons cálcio foi significativamente superior em relação ao AH Plus e a fluidez de ambos não apresentou diferenças significativas. Tais resultados apontaram o Endosequence BC Sealer como excelente opção de cimento obturador. A capacidade de manter o elevado pH da região afetada é uma propriedade conhecida do hidróxido de cálcio e do MTA. Essa propriedade relatada nos estudos *in vitro* podem explicar diretamente o sucesso no reparo tecidual obtido neste estudo. O alto pH nos primeiros dias pode explicar também uma ação antibacteriana favorável e ambiente propício à mineralização em nosso caso clínico. De forma importante, o silicato tricálcico presente nos cimentos biocerâmicos reage na presença de fluidos fisiológicos formando hidroxiapatita em ambiente de pH básico. Essa formação se dá na superfície da pasta de silicato tricálcico que é biocompatível e capaz de induzir a diferenciação de células pulpares humanas semelhante ao que ocorre com o hidróxido de cálcio.

A substituição dos componentes do MTA pelo silicato tricálcico proporcionou melhora do material em relação às suas propriedades físicas [13].

Um cimento ideal para selamento de perfurações radiculares não pode ser citotóxico, mas sim biocompatível e bioativo, visto que entrará em contato direto com tecido ósseo e ligamento periodontal. Os cimentos biocerâmicos tem apresentado bons resultados em relação a biocompatibilidade em vários estudos. Em especial, o Endosequence BC Sealer demonstrou uma biocompatibilidade superior ao MTA Fillapex quando avaliados em cultura de fibroblastos de camundongo. O MTA Fillapex exibiu células significativamente menos viáveis em comparação com o cimento Endosequence BC Sealer após 1 e 20 horas de incubação. Os autores argumentam que nas primeiras horas os cimentos são mais citotóxicos, porém com o passar do tempo a tendência é que passem a ser bem tolerados [18]. Benetti F. *et.al.*[16] avaliaram a citotoxicidade e biocompatibilidade do cimento biocerâmico similar ao Endosequence BC, o Sealer Plus BC (Mk Life), em comparação ao MTA Fillapex (Angelus) e AH Plus (Dentsply). Observou-se que viabilidade celular estava diretamente ligada a diluição dos extratos e ao tempo de implantação das amostras em subcutâneo de ratos. Aos 30 dias, o Sealer Plus BC foi semelhante ao controle e o MTA Fillapex e o AH Plus exibiram maior inflamação. O Sealer Plus BC foi considerado pelos autores biocompatível quando comparado ao MTA Fillapex e AH Plus. Esses resultados *in vivo* forneceram indícios interessantes para uso clínico onde em nosso estudo a paciente não relatou dor pós-operatória após a finalização do tratamento.

O selamento da região perfurada e a estabilidade dimensional prevenindo infiltração marginal são fundamentais para manter o ambiente tratado em condições para o reparo. Estudos como o realizado por Lertmalapong P. *et.al.* [17], investigou a infiltração bacteriana e adaptação de tampões apicais realizados com cimentos biocerâmicos (ProRootMTA, Biodentine, TotalFill BC Sealer, TotalFill BC Putty e RetroMTA). Dentes extraídos foram preparados, simulando ápices abertos e em seguida preenchidos com o material obturador com espessuras de 3mm e 4mm e expostos ao *Enterococcus faecalis* por 75 dias. Os grupos com os cimentos Biodentine e TotalFill BC RRM e o grupo ProRootMTA de 4 mm apresentaram a melhor capacidade de vedação e adaptação marginal dos tampões apicais. Propriedades antimicrobianas e biocompatibilidade, além de estabilidade do material endossam a terapia que

propomos nesse estudo, com preservação de 3 anos, com indícios de reparo apical.

Comparativamente ao MTA reparador, o cimento biocerâmico Endosequence BC Sealer foi de fácil manuseio e seu escoamento/fluidez permitiram o preencher a perfuração radicular, com consequente reparo dos tecidos adjacentes afetados. O reparo dos tecidos perirradiculares, evidente após o período de 3 anos, reforça as propriedades biológicas de compatibilidade e bioatividade deste cimento relatadas nos estudos *in vitro*. Tratamentos de perfuração no terço apical, normalmente necessitam de alguma intervenção cirúrgica. Relatos sobre utilização de cimentos endodônticos para preenchimento/selamento de perfuração são escassos na literatura científica e por isso, esse relato apresenta uma alternativa de tratamento mais conservador que foi viabilizado considerando as propriedades do cimento utilizado, tais como radiopacidade, escoamento, selamento, biocompatibilidade e bioatividade. Adicionalmente, períodos longos de preservação dão maior credibilidade ao tratamento e credenciam o material como alternativa viável na terapia endodôntica.

3.4 CONCLUSÃO

Os biocerâmicos já são uma realidade na endodontia. Sua aplicação tem sido estudada e resultados de diversos estudos indicam propriedades promissoras, que pode, em breve se tornar o material de escolha para a prática endodôntica, principalmente no tratamento complexo de perfurações radiculares. Outras modalidades de tratamento endodôntico também estão sendo beneficiadas com esse novo tipo de material, como a endodontia regenerativa e cirurgias apicais.

3.5. REFERÊNCIAS

1. Estrela, C. Endodontic science. São Paulo: Artes Médicas Dentistry. 2009. 1223p.
2. Mohammed Saed, RS, Ashley, MP, Darcey J. Root perforations: a etiology, management strategies and outcomes. The hole truth. British Dental Journal. 2016; 220, 171-180.
3. Oliveira, P.M.S. Biocerâmicas em Endodontia: Revisão da literatura. Monografia apresentada à Universidade Fernando Pessoa, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em medicina Dentária. Porto. 2014.
4. Camilleri J. New Perspective Article: Is Mineral Trioxide Aggregate a bioceramic? -ODOVTOS-Int. J. Dental Sc. 2016 18-1: 13-17
5. Kakani KA, Veeramachaneni C, Majeti C, Tummala M, Khiyani I. A Review on Perforation Repair Materials. Journal Of Clinical And Diagnostic Research. 2015; 9: 09-13.
6. Lima NFF, dos Santos PRN, Pedrosa MS, Delboni MG. Cimentos biocerâmicos em endodontia: revisão de literatura. Revista da Faculdade de Odontologia Universidade de Passo Fundo. 2017; 22, 248-254.
7. Koch KA, Brave DG. Bioceramics, Part II: The clinician's viewpoint. Dent Today. 2012; 31:118-122.
8. Zhang W, Li Z, Peng B. Assessment of a new root canal sealer's apical sealing ability. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2009; 107: 79-80.
9. Camilleri J, Cutajar A, Mallia B. Hydration characteristics of zirconium oxide replaced Portland cement for use as a root-end filling material. Dent Mater. 2011; 27: 845-54.
10. Coomaraswamy KS, Lumley PJ, Hofmann MP. Effect of bismuth oxide radioopacifier content on the material properties of an endodontic Portland cement-based (MTA- like) system. J Endod. 2007; 33: 295-298.

11. Candeiro GT, Correia FC, 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: 842-845
12. Hansen SW, Marshall JG, Sedgley CM. Comparison of Intracanal EndoSequence Root Repair Material and ProRoot MTA to Induce pH Changes in Simulated Root Resorption Defects over 4 Weeks in Matched Pairs of Human Teeth. *J Endod.* 2011; 37: 502-506.
13. Camilleri J, Sorrentino F, Damidot D. Investigation of the hydration and bioactivity of radiopacified tricalcium silicate cement, Biodentine and MTA Angelus. *Dent Mater.* 2013; 29: 580-593. E
14. Dhingra A, Saurabh, Brullar HK. Endodontic perforation repair with bioceramic an endosequence root repair material. *Guident.* 2014, 7: 25-27.
15. Balasubramaniam R, Krishnan A, Jayakumar S. Restoring the dignity: Case reports of root perforation management. *International Journal of Applied Dental Sciences.* 2017; 3(3): 171-174.
16. Benetti F, Queiroz IOZ, Oliveira PHC, Conti LC, Azuma MM, Oliveira SHP, Cintra LTA. Cytotoxicity and biocompatibility of a new bioceramic endodontic sealer containing calcium hydroxide. *Braz. Oral Res.* 2019; 33.
17. Lertmalapong P, Jantararat J, Srisatjaluk RL, Komoltri C. Bacterial leakage and marginal adaptation of various bioceramics as apical plug in open apex model. *Journal of Investigative and Clinical Dentistry.* 2018;1-7.
18. Baraba, A., Pezelj-Ribarić, S., Roguljić, M., & Miletić, I. Cytotoxicity of Two Bioactive Root Canal Sealers. *Acta Stomatologica Croatica.* 2016; 50(1), 8–13.

CAPÍTULO 4

4.1 DISCUSSÃO GERAL

A necessidade de cimentos obturadores e reparadores com propriedades biológicas cada vez melhores motivou um grande número de pesquisas, que se intensificaram a partir da década de 90. O Agregado Trióxido Mineral – MTA utilizado inicialmente apenas como cimento reparador, apresentou resultados excelentes em diversas pesquisas principalmente quanto a biocompatibilidade e bioatividade, elevando consideravelmente o índice de sucesso de tratamentos mais complexos. Cirurgias apicais antes realizadas com amálgama, ionômero de vidro, Super EBA, entre outros, passaram a ter uma opção mais biocompatível e bioativa. Em pouco tempo, os resultados de pesquisas credenciaram MTA como material de escolha para esse tipo de tratamento.

Diante do sucesso do tratamento em cirurgias apicais e suas excelentes propriedades biológicas, o MTA se tornou importante aliado no tratamento de acidentes e complicações endodônticas. Entre elas se destacam, principalmente, as perfurações radiculares e os tratamentos regenerativos. Com o avanço tecnológico, o MTA foi sendo aprimorado, suas partículas se tornaram cada vez menores e substâncias tóxicas como prejudiciais foram substituídas tornando-o cada vez mais biocompatível. Sua utilização como cimento obturador também foi proposta e diversos cimentos com MTA em sua composição foram disponibilizados no mercado. Seguindo o caminho do MTA, os cimentos biocerâmicos, utilizados na medicina desde a década de 70, foram sugeridos para uso em tratamentos endodônticos. Com a promessa de serem mais biocompatíveis e principalmente bioativos, os cimentos biocerâmicos passaram a ser utilizados com maior frequência. Os resultados de estudos *in vivo* e *in vitro* apresentam em sua grande maioria excelente biocompatibilidade e bioatividade, porém sem as já conhecidas limitações do MTA em relação a manipulação e manchamento de estrutura dentária.

Atualmente os cimentos biocerâmicos são utilizados em maior escala na Endodontia tanto como cimento obturador quanto reparador.

Os dados obtidos em estudo apresentado no capítulo 2 desse trabalho demonstraram que a maioria dos grupos celulares expostos aos diferentes cimentos reparadores biocerâmicos avaliados apresentou alta taxa de

viabilidade celular em relação ao grupo controle, após 24h de exposição, com exceção dos grupos NeoMTA-P e ZOE. As células expostas ao NeoMTA-P apresentaram taxa de viabilidade celular moderada e as células expostas ao grupo ZOE, baixa taxa de viabilidade celular (controle negativo).

Os resultados obtidos com células osteoblásticas humanas do tipo Saos-2 foram importantes por se tratar de uma linhagem celular semelhante as que serão expostas a um determinado material endodôntico. O comportamento dos cimentos biocerâmicos em todos os experimentos comprovaram sua biocompatibilidade, bioatividade e capacidade de induzir a reparação tecidual. Em geral, todos cimentos avaliados neste estudo parecem ter induzido as células osteoblásticas em taxas diversas de diferenciação. Os resultados obtidos permitem inferir que, provavelmente, esse processo fisiológico de adaptação do osso mediado por osteoblastos se inicia com estímulos provenientes dos materiais biocerâmicos quando utilizados clinicamente. No entanto, outros estudos para avaliar também suas propriedades físico-químicas devem ser realizados para que esses materiais sejam aperfeiçoados e disponibilizados em suas melhores formulações.

No capítulo 3 foi apresentado um relato de caso clínico de perfuração radicular no terço apical de molar inferior utilizando um cimento biocerâmico como material obturador. Perfurações radiculares são situações que requerem uma certa habilidade profissional e materiais com características específicas para seu tratamento. O prognóstico está relativamente ligado à sua localização e principalmente ao acesso do local afetado. Portanto, o tratamento de perfurações no terço apical em raízes curvas é um verdadeiro desafio para o clínico e, normalmente, é realizado cirurgicamente. Porém, com base na literatura relacionada principalmente à aplicação clínica *in vivo*, foi proposto nesse trabalho o tratamento conservador de perfuração radicular. O EndoSequence BC Sealer foi escolhido como cimento biocerâmico obturador e o tratamento realizado sem a necessidade de cirurgia apical. A biocompatibilidade e bioatividade associada à possibilidade de retomar o trajeto original do canal culminou na proposta mais conservadora de tratamento. A possibilidade de preencher a perfuração com o cimento biocerâmico associada à descontaminação e ao selamento da região viabilizou o reparo e a retomada do dente às suas funções. A preservação do caso foi de 3 anos. O resultado

desse trabalho oferece ao endodontista uma possibilidade de um tratamento conservador com um novo cimento proposto no mercado.

4.2 CONCLUSÕES

As aplicações dos novos cimentos a base de MTA e biocerâmicos em obturação do sistema de canais radiculares ou no tratamento perfurações se devem principalmente as suas propriedades biológicas. A biocompatibilidade e bioatividade os credenciam como materiais de primeira escolha. Resumidamente, este trabalho de dissertação foi constituído por estudos que revelam a importância de materiais biocompatíveis e bioativos no tratamento de casos complexos na endodontia. Destaca a relevância de estudos que avaliem as propriedades biológicas dos materiais endodônticos em diversos tipos de células, afinal fornecem dados que podem nortear a indicação clínica destes materiais e possíveis reações teciduais aos mesmos. Em Ambos os estudos, *in vivo* e *in vitro*, os resultados obtidos pelos cimentos biocerâmicos comprovaram sua eficiência, biocompatibilidade e bioatividade como cimentos reparadores ou obturadores em Endodontia.

CAPÍTULO 5 – *Press Release*

O tratamento endodôntico popularmente conhecido como tratamento de canal visa principalmente tratar a dor causada pela polpa dentária (nervo) inflamada ou contaminada por agentes externos provenientes da cárie ou trauma da região. A terapia consiste na substituição desse tecido por um material biocompatível que possibilite o reparo e consequente retorno do dente as suas funções estéticas e mastigatórias. Para que isso seja possível, os materiais utilizados devem ser bem tolerados pelo organismo, resistentes e de preferência que estimulem a cicatrização o mais rápido possível. Diversos materiais vêm sendo propostos ao longo tempo, porém nos últimos anos com o grande avanço tecnológico na odontologia destacaram-se principalmente o MTA e os novos cimentos biocerâmicos. O presente estudo avaliou em *in vitro* as propriedades biológicas de dois novos cimentos biocerâmicos e de cimentos a base de MTA. Os resultados apontaram características promissoras para sua utilização no tratamento odontológico. Além disso, um caso clínico de perfuração radicular foi relatado com a utilização de um cimento biocerâmico. Após 3 anos de preservação, foi possível observar o sucesso do tratamento com a remissão da dor do paciente, reparo do tecido ósseo adjacente e o retorno da função mastigatória. O presente estudo demonstrou *in vivo* um excelente efeito biológico destes cimentos sobre as células ósseas. Resultado semelhante foi observado clinicamente no relato de caso, corroborando o potencial bioativo e capacidade de reparo dos cimentos biocerâmicos. Os resultados obtidos neste estudo devem auxiliar os profissionais na escolha do material a ser utilizado na terapia endodôntica com base em evidências científicas.

AVALIAÇÃO DE PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DE CIMENTOS
BIOCERÂMICOS EM CULTURA DE CÉLULAS OSTEOBLÁSTICAS
HUMANAS E UM RELATO DE SUA APLICAÇÃO CLÍNICA EM PERFURAÇÃO
RADICULAR.

ANEXOS

*Trabalhos publicados ou submetidos a jornais científicos

Brasília 2020