UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Programa de Pós Graduação em Ciências Odontológicas Aplicadas
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU

MARINA ANGÉLICA MARCIANO DA SILVA

**Propriedades físico-químicas e biológicas de cimento
experimental à base de Portland associado a diferentes
radiopacificadores**

BAURU
2014

MARINA ANGÉLICA MARCIANO DA SILVA

**Propriedades físico-químicas e biológicas de cimento
experimental à base de Portland associado a diferentes
radiopacificadores**

Tese apresentada à Faculdade de
Odontologia de Bauru da Universidade de
São Paulo para obtenção do título de doutor
em Ciências Odontológicas Aplicadas

Área de concentração: Endodontia

Orientador: Prof. Dr. Marco Antonio Hungaro
Duarte

Versão Corrigida

BAURU
2014

Silva, Marina Angélica Marciano

Si38p Propriedades físico-químicas e biológicas de cimento experimental à base de Portland associado à diferentes radiopacificadores./Marina Angélica Marciano da Silva – Bauru, 2014.

153p. : il. ; 30 cm.

Tese. (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Bauru. Universidade de São Paulo.

Orientador: Prof. Dr. Marco Antonio Hungaro Duarte

Nota: A versão original desta tese encontra-se disponível no Serviço de Biblioteca e Documentação da Faculdade de Odontologia de Bauru – FOB/USP.

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, por processos fotocopiadores e outros meios eletrônicos.

Assinatura:

Data:

Comitê de Ética da FOB-USP
Protocolo nº: 020/2011
Data: 22/08/2011

FOLHA DE APROVAÇÃO

DEDICATÓRIA

À **Deus** por tudo de especial que me foi concedido, pelas oportunidades, amizades conquistadas e pela tranquilidade e força nos momentos de fraqueza.

Dedico este trabalho aos meus queridos pais **José Marciano da Silva** e **Rosali Aparecida Mussato da Silva**. Pelo amor, dedicação, educação, exemplo e apoio incondicional.

Dedico este trabalho ao meu noivo **Ribamar Lazanha Lucateli**, que compartilhou comigo as alegrias e me apoiou nos momentos difíceis com muito companheirismo e amor.

Dedico, também, ao meu irmão **Carlos Henrique Marciano da Silva** pelo incentivo e apoio.

AGRADECIMENTOS

À **Universidade de São Paulo**, por meio de seu atual reitor, **Prof. Dr. Marco Antonio Zago**, à **Faculdade de Odontologia de Bauru**, por meio de sua atual diretora, **Profª Drª Maria Aparecida de Andrade Moreira Machado** e à **Comissão de Pós-Graduação**, na pessoa de seu atual presidente **Prof. Dr. Paulo César Rodrigues Conti** pelo apoio à pesquisa.

À **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)** pela concessão de bolsa de estudo para a realização do trabalho.

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Marco Antonio Hungaro Duarte** pelos ensinamentos, apoio e ajuda. Pessoa admirável por todo o conhecimento e humildade e um grande exemplo de que o esforço e a dedicação valem a pena.

Aos queridos professores da disciplina de Endodontia por todo apoio durante a Graduação, Mestrado e Doutorado. Obrigada pela oportunidade da convivência com pessoas tão expressivas e de tanto sucesso.

Prof. Dr. Clovis Monteiro Bramante, Profª Drª Flaviana Bombarda de Andrade, Prof. Dr. Ivaldo Gomes de Moraes, Prof. Dr. Roberto Brandão Garcia, Prof. Dr. Rodrigo Ricci Vivan e Prof. Dr. Norberti Bernardineli.

À **Universidade de Malta** pelo aceite da realização de parte do estudo na Instituição e pelo apoio à Pesquisa.

À minha orientadora durante o período de estágio na Universidade de Malta, **PhD Josette Camilleri**. Obrigada por todos os ensinamentos e pela oportunidade de compartilhar experiências e conhecimentos que serão fundamentais para o meu futuro profissional.

Ao **Prof. Dr. Rafael Francisco Lia Mondelli** pela dedicação na orientação, ensino e compartilhamento de seus enormes conhecimentos. A integração entre diferentes áreas foi fundamental para o enriquecimento da pesquisa.

Ao **Reginaldo Mendonça Costa** pela fundamental ajuda e colaboração na execução de algumas etapas do estudo.

Aos queridos amigos pós-graduandos, obrigada pela convivência e bons momentos compartilhados durante todo o Doutorado, levo de cada um boas lembranças.

Aldo del Carpio Perochena, Amanda Maliza, Bruno Cavenago, Bruno Guimarães, Clarissa Teles, Marcela Milanezi, Marcelo Villas-Boas, Pablo Amoroso, Paloma Minotti, Raquel Midená, Ronald Ordinola-Zapata e demais colegas de Pós-Graduação.

Aos funcionários da disciplina de Endodontia: **Andressa Barraviera Laureano Tiozzi, Edimauro de Andrade, Neide Leandro e Suely Regina Bettio**, muito obrigada pela grande ajuda durante todo o Doutorado.

Aos docentes e funcionários da disciplina de Histologia pela ajuda durante a execução do trabalho, **Prof. Dr. Gerson Francisco de Assis, Daniele Santi Ceolin, Patrícia de Sá Mortagua Germino e Tânia Mary Cestari**.

E a todos, que de uma forma ou outra, contribuíram para o desenvolvimento desse trabalho.

RESUMO

O objetivo do estudo foi avaliar as propriedades físicas, químicas e biológicas de um cimento experimental à base de Portland contendo diferentes agentes radiopacificadores. Os cimentos foram divididos em 6 grupos: 1. MTA-Angelus branco (controle), 2. cimento Portland branco (CP), 3. CP com 20% de óxido de zircônio (OZ), 4. CP/50% OZ, 5. CP com 20% de tungstato de cálcio (TC) e 6. CP/50% TC. As proporções foram determinadas em peso (80 e 50% de CP para 20 e 50% de radiopacificadores, respectivamente). Os cimentos experimentais foram manipulados utilizando 0,3 mL de líquido composto por 80% de água destilada e 20% de propilenoglicol, em volume. A caracterização dos materiais foi realizada em microscopia eletrônica de varredura (MEV), no modo EDS e em difratômetro de raios-X (XRD). Para os testes de radiopacidade, escoamento, espessura de filme e solubilidade foram seguidas as especificações nº 57 da ANSI/ADA (2000). Na determinação do tempo de presa, foi empregada a norma ASTM C266/2008. Na análise do pH e liberação de íons cálcio foram analisados os períodos de 3, 24, 72 e 168 horas. Para análise da descoloração dentária, foram realizadas análises em espectrofotômetro, estereomicroscopia e MEV. Para análise da resposta inflamatória, foi utilizado o teste de implantação em subcutâneo de ratos. A utilização do óxido de zircônio e do tungstato de cálcio em combinação com o cimento Portland resultou no desenvolvimento de cimentos que exibiram uma radiopacidade próxima (20% de radiopacificadores) ou acima (50%) do recomendado pela norma nº 57 da ANSI/ADA; tempo de presa mais prolongado, espessura de filme menor e escoamento mais elevado em comparação com o MTA-Angelus; solubilidade adequada e comparável ao MTA-Angelus, elevado pH e liberação de íons cálcio superior ao MTA-Angelus nos períodos iniciais e similar aos 7 dias, ausência de descoloração dentária e resposta inflamatória semelhante ao MTA-Angelus.

Palavras-chave: MTA. Cimento Portland. Radiopacificadores.

ABSTRACT

Physical, chemical and biological properties of an experimental Portland-based cement with different radiopacifier agents

The aim of the study was to evaluate the physical, chemical and biological properties of an experimental calcium silicate-based cement with different concentrations of the radiopacifiers zirconium oxide and calcium tungstate. The materials were divided in 6 groups: 1. White MTA (control), 2. White Portland cement (PC), 3. PC with 20% zirconium oxide (ZO), 4. PC/50% ZO, 5. PC with 20% calcium tungstate (CT) and 6. PC/50% CT. The proportions were determined by weight. The cements were manipulated using 0.3 mL of liquid composed of 80% distilled water and 20% propylene glycol. The control was manipulated according to manufacturer's instructions. The characterization of the materials was performed using scanning electron microscopy (SEM) in EDS mode and X-ray diffractometer (XRD). For radiopacity, flowability, film thickness and solubility test, the specifications n° 57 of ADA (2000) was followed. To determine the setting time, ASTM C266/2008 specifications was followed. For pH and calcium ion release assessment, the periods of 3, 24, 72 and 168 hours were evaluated. The analysis of dental discolouration was performed using spectrophotometer, stereomicroscopy and SEM. To evaluate the inflammatory response, the test of subcutaneous implantation in rats was used. The use of zirconium oxide and calcium tungstate in association with Portland cement resulted in development of cements with radiopacity nearly (20% radiopacifiers) or above (50%) the recommended by ANSI/ADA specifications n° 57, more prolonged setting time, lower film thickness and higher flowability in comparison with MTA-Angelus, an adequate and comparable solubility with MTA-Angelus, high pH and calcium ion release higher than MTA-Angelus in the initial periods and similar at 7 days, absence of dental discolouration and inflammatory response similar to that presented by MTA-Angelus.

Key words: MTA. Portland Cement. Radiopacifiers.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - (A) Inclusão dos cimentos em resina epóxi para análise em microscopia eletrônica de varredura e espectroscopia de energia dispersiva. (B) Polimento das amostras. (C) Amostra polida preparada para análise microscópica.55
- Figura 2** - A) Microscópio eletrônico de varredura, juntamente com modo de EDS acoplado. (B) Difratorômetro de raios-X (XRD). Equipamentos pertencentes à Universidade de Malta, Msida – Malta.56
- Figura 3** - Teste de radiopacidade. (A) Anel metálico utilizado no teste. (B) Anel preenchido com cimento lixado manualmente com lixa d'água. (C) Escala de alumínio. (D, E) Amostras de cimento posicionadas em filme oclusal juntamente com a escala de alumínio, radiografadas à uma distância de 30 cm.58
- Figura 4** - (A) Agulhas de Gilmore utilizadas no teste de tempo de presa. O tempo de presa inicial mensurado com agulha de Gilmore com peso menor (B), enquanto o tempo de presa final mensurado com agulha de Gilmore com peso maior (C).59
- Figura 5** - Teste de espessura de filme. (A) Porção determinada de cimento colocada no centro de uma placa de vidro. (B) Adaptação de uma segunda placa de vidro sobre a primeira. (C, D) Colocação de um peso de 150 N sobre as placas. (E) Mensuração da espessura das duas placas com o cimento interposto, com auxílio de paquímetro digital, para o cálculo da espessura de filme.60
- Figura 6** - Teste de escoamento. (A) Um volume de 0,5 mL de cimento foi utilizado para a realização do teste. (B) Porção determinada de cimento colocada no centro de uma placa de vidro. (C) Adaptação de uma segunda placa de vidro sobre a primeira. (D) Peso adaptado de 100g adaptado sobre as placas. (E) Cimento interposto para a mensuração do diâmetro menor e maior da película de cimento formada entre as placas.61
- Figura 7** - Teste de solubilidade. (A) Anel de teflon preenchido com cimento. (B) Balança de precisão utilizada para pesagem das amostras. (C) Espécime imerso em água ultra-pura para análise da solubilidade do material.62
-

Figura 8 - Testes de pH e liberação de íons cálcio. (A, B) Dente de acrílico com a porção apical seccionada, sendo confeccionada uma cavidades retrógradas com 3 mm de profundidade. (C,D) pHmetro e espectrofotômetro de absorção atômica para análise do pH e liberação de íons cálcio, respectivamente.	64
Figura 9 - Teste de alteração de cor. (A) Amostra de dente bovino seccionado em bloco de 10x10 mm. (B, C) Cavidade de 5 mm de diâmetro e 1,5 mm de profundidade confeccionada na porção lingual de amostra, utilizando uma broca diamantada 4054. (D) A espessura de dentina e esmalte no centro das cavidades foi checada com o auxílio de um espessímetro.	65
Figura 10 - Etapas cirúrgicas realizadas no teste de biocompatibilidade. (A) Anestesia na região posterior da coxa do animal. (B, C) Após tricotomia da região dorsal, foi realizada a antissepsia.	69
Figura 11 - (A) Preenchimento de tubo de polietileno com cimento com auxílio de calcador. (B) Tubo de polietileno preenchido com cimento. (C) Os tubos de polietileno foram levados ao tecido subcutâneo com auxílio de trocarre.	69
Figura 12 - Procedimentos cirúrgicos. (A) Incisão. (B) Inserção do tubo preenchido com cimento no tecido subcutâneo com auxílio de trocarre. (C) Sutura.	70
Figura 13 - (A) Câmara de gás carbônico utilizada no sacrifício dos animais. (B) Após a morte dos animais, o tecido foi divulsionado para localização dos tubos. (C) Micrótomo para seccionamento das amostras.	70
Figura 14 - (A) Corte histológico correspondente à área de neoformação tecidual ao redor do tubo de polietileno contendo o cimento implantado. (B) Extremidade do tubo em com área para análise em destaque. (C) Área destacada em (B) em aumento de 40×. A mesma área é visualizada em aumento de 100× em (D). Em (C) e (D) é possível observar a presença marcante de uma célula gigante multinucleada e diversos macrófagos.	71
Figura 15 - Imagem representativa da análise quantitativa. As células inflamatórias foram demarcadas e contabilizadas com auxílio do software Image J 1.47v.	72
Figura 16 - Micrografias dos materiais não hidratados e respectivas análises químicas em EDS.	77

Figura 17 -	Análise em XRD dos cimentos não hidratados.	79
Figura 18 -	Micrografias dos cimentos após 28 dias de hidratação em microscopia eletrônica de varredura.	81
Figura 19 -	Análise em XRD dos cimentos após 28 dias de hidratação.....	83
Figura 20 -	Representação gráfica da média e desvio padrão da radiopacidade dos cimentos avaliados em milímetros de alumínio (mm Al). As diferentes letras nas colunas representam as diferenças estatísticas entre os materiais ($p < 0,05$). A linha pontilhada corresponde ao valor mínimo exigido pela norma nº 57 da ANSI/ADA, correspondente à 3 mm Al.	84
Figura 21 -	Representação gráfica da média e desvio padrão do tempo de presa inicial dos cimentos avaliados em minutos (min). As diferentes letras nas colunas representam as diferenças estatísticas entre os materiais ($p < 0,05$).	85
Figura 22 -	Representação gráfica da média e desvio padrão do tempo de presa final dos cimentos avaliados em minutos (min). As diferentes letras nas colunas representam as diferenças estatísticas entre os materiais ($p < 0,05$).	85
Figura 23 -	Representação gráfica da média e desvio padrão da espessura de filme dos cimentos avaliados em milímetros (mm). As diferentes letras nas colunas representam as diferenças estatísticas entre os materiais ($p < 0,05$).	86
Figura 24 -	Representação gráfica da média e desvio padrão do escoamento dos cimentos avaliados em milímetros (mm). As diferentes letras nas colunas representam as diferenças estatísticas entre os materiais ($p < 0,05$).	87
Figura 25 -	Representação gráfica da média e desvio padrão da solubilidade dos cimentos avaliados em porcentagem (%). As diferentes letras nas colunas representam as diferenças estatísticas entre os materiais ($p < 0,05$).	88
Figura 26 -	Representação gráfica da média do pH dos cimentos avaliados no decorrer dos períodos experimentais.	90
Figura 27 -	Representação gráfica da média da liberação de íons cálcio dos cimentos avaliados no decorrer dos períodos experimentais.	92

Figura 28 -	Análise da interação entre os radiopacificadores e o colágeno. É possível notar um precipitado de coloração negra com a interação entre o óxido de bismuto o colágeno. O mesmo não foi observado com a interação entre os demais radiopacificadores e o colágeno.	95
Figura 29 -	Amostras representativas dos dentes bovinos preenchidos com MTA-Angelus, CP, CP/20% OZ e CP/20% TC analisadas em estereomicroscópio. Em (A), é possível verificar o manchamento dentário do dente selado com MTA-Angelus. O seccionamento da amostra revelou um escurecimento acentuado e concentrado próximo à interface entre o cimento e a dentina (B). Os demais materiais avaliados não apresentaram manchamento dentário (C-H).....	97
Figura 30 -	Micrografias em MEV da interface cimento/dentina e mapeamento dos elementos químicos.....	101
Figura 31 -	Imagens representativas de cortes histológicos dos grupos no período de 15 dias. Aumento de 40×. Em (A) MTA-Angelus. Proliferação fibro-angioblástica (asterisco). Vaso sanguíneo (seta vermelha) e macrófago (seta preta). Em (B), cimento Portland com infiltrado inflamatório crônico macrofágico (seta preta) com proliferação fibro-angioblástica (asterisco) e presença de material extravasado no interior do tecido (seta azul). Em (C), CP/20% OZ com proliferação fibro-angioblástica (asterisco) e grânulos de material extravasado (seta azul). Em (D), CP/50% OZ com infiltrado inflamatório crônico macrofágico com a presença de célula gigante multinucleada (seta preta), com material fagocitado em seu interior (seta azul). Em (E) CP/20% TC com infiltrado predominantemente macrofágico (seta preta). Em (F) CP/50% TC. Proliferação fibro-angioblástica com um vaso sanguíneo em destaque (seta vermelha) e material extravasado (seta azul).	105
Figura 32 -	Imagens representativas de cortes histológicos dos grupos no período de 30 dias. Aumento de 40×. Em (A) MTA-Angelus. Proliferação fibro-angioblástica (asterisco) e presença de material extravasado (seta azul). Em (B), cimento Portland com infiltrado inflamatório crônico macrofágico (seta preta) e proliferação fibro-angioblástica (asterisco). Em (C), CP/20% OZ com proliferação fibro-angioblástica (asterisco) e presença de grânulos de material extravasado (seta azul). Em (D), CP/50% OZ com proliferação fibro-angioblástica (asterisco) e material extravasado (seta azul). Em (E) CP/20% TC	

proliferação fibro-angioblástica (asterisco). Em (F) CP/50% TC. Infiltrado inflamatório macrofágico (seta preta) com a presença de material extravasado (seta azul).	109
Figura 33 - Imagens representativas de cortes histológicos dos grupos aos 60 dias de análise. Aumento de 40×. Em (A) MTA-Angelus. Proliferação fibro-angioblástica (asterisco) e presença de material extravasado (seta azul). Em (B), cimento Portland com proliferação fibro-angioblástica (asterisco) e material extravasado (seta azul). Em (C), CP/20% OZ com proliferação fibro-angioblástica (asterisco) e presença de grânulos de material extravasado (seta azul). Em (D), CP/50% OZ com proliferação fibro-angioblástica (asterisco) e material extravasado (seta azul). Em (E) CP/20% TC proliferação fibro-angioblástica (asterisco). Em (F) CP/50% TC. Infiltrado predominantemente fibro-angioblástico (asterisco) com a presença de material extravasado no interior do tecido (seta azul).	113
Figura 34 - Representação gráfica da média e desvio padrão do infiltrado inflamatório verificado para os cimentos estudados no período de 15 dias. As diferentes letras acima das colunas representam as diferenças estatísticas entre os materiais ($p < 0,05$).	116
Figura 35 - Representação gráfica da média e desvio padrão do infiltrado inflamatório verificado para os cimentos estudados no período de 30 dias. As diferentes letras acima das colunas representam as diferenças estatísticas entre os materiais ($p < 0,05$).	116
Figura 36 - Representação gráfica da média e desvio padrão do infiltrado inflamatório verificado para os cimentos estudados no período de 60 dias. As diferentes letras acima das colunas representam as diferenças estatísticas entre os materiais ($p < 0,05$).	117

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Composição dos cimentos avaliados.....	53
Tabela 2	- Distribuição dos animais em relação aos grupos e períodos experimentais.....	68
Tabela 3	- Média e desvio padrão do pH para os cimentos testados. As diferentes letras em cada coluna representam as diferenças estatísticas entre os cimentos em cada período ($p < 0,05$).....	89
Tabela 4	- Média e desvio padrão da liberação de íons cálcio em mg/L para os cimentos testados. As diferentes letras em cada coluna representam as diferenças estatísticas entre os cimentos em cada período ($p < 0,05$).....	91
Tabela 5	- Média e desvio padrão da alteração de cor (ΔE) para os cimentos testados. As diferentes letras na coluna representam as diferenças estatísticas entre os cimentos ($p < 0,05$).....	93
Tabela 6	- Média e desvio padrão do infiltrado inflamatório nos períodos de 15, 30 e 60 dias. As diferentes letras minúsculas nas colunas representam as diferenças estatísticas entre os cimentos em um mesmo período ($p < 0,05$). As diferentes letras maiúsculas nas linhas representam as diferenças estatísticas de um mesmo cimento em relação ao tempo ($p < 0,05$).....	115

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADA	American Dental Association
ANSI	American National Standards Institute
ASTM	American Society for Testing Materials
cm	Centímetros
CP	Cimento Portland
EDS	Energy Dispersive X-ray Spectroscopy
EDX	Energy Dispersive X-ray
FDA	Food and Drug Administration
g	Gramas
ISO	International Organization for Standardization
kV	Kilovolts
mA	Miliampere
min	Minutos
mL	Mililitros
mm	Milímetros
mm Al	Milímetros equivalentes em alumínio
mol	Molar
MTA	Mineral Trioxide Aggregate
N	Newton
°C	Graus Celsius
OZ	Óxido de zircônio
TC	Tungstato de cálcio
XRD	X-ray Diffraction
µm	Micrômetros

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	23
2.1	Constituição dos cimentos à base de silicato de cálcio	25
2.2	Propriedades físicas, químicas e biológicas dos cimentos à base de silicato de cálcio.....	27
2.2.1	Radiopacidade.....	28
2.2.2	Tempo de presa	30
2.2.3	Consistência e características de manipulação.....	31
2.2.4	Solubilidade	33
2.2.5	pH e liberação de íons cálcio.....	35
2.2.6	Descoloração dentária.....	36
2.2.7	Biocompatibilidade	38
2.3	Radiopacificadores alternativos.....	41
3	PROPOSIÇÃO	47
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	51
4.1	Preparo dos cimentos.....	53
4.2	Caracterização dos materiais	54
4.3	Radiopacidade.....	56
4.4	Tempo de presa	58
4.5	Espessura de filme	59
4.6	Consistência (escoamento)	60
4.7	Solubilidade	61
4.8	Determinação do pH e da liberação de íons cálcio	62
4.9	Análise da descoloração dentária.....	64
4.10	Biocompatibilidade	67

5	RESULTADOS.....	73
5.1	Caracterização dos materiais	75
5.2	Radiopacidade.....	83
5.3	Tempo de presa	84
5.4	Espessura de filme	86
5.5	Consistência (escoamento)	86
5.6	Solubilidade	87
5.7	pH e liberação de íons cálcio.....	88
5.8	Descoloração dentária.....	93
5.8.1	Análise da cor dentária após contato com os cimentos.....	93
5.8.2	Análise da cor dos componentes presentes na dentina em contato com os radiopacificadores	93
5.8.3	Análise em estereomicroscopia de amostras representativas seccionadas	95
5.8.4	Microscopia eletrônica de varredura e mapeamento em EDS	99
5.9	Biocompatibilidade	103
5.9.1	Análise descritiva.....	103
5.9.1.1	Período de 15 dias	103
5.9.1.2	Período de 30 dias	107
5.9.1.3	Período de 60 dias	111
5.9.2	Análise quantitativa	115
6	DISCUSSÃO	119
7	CONCLUSÕES	133
	REFERÊNCIAS	137
	ANEXO.....	151

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

O agregado trióxido mineral, mais conhecido pela sigla em inglês MTA (Mineral Trioxide Aggregate) é um material amplamente utilizado na Endodontia como cimento retrobturador, capeador pulpar e selador de perfurações (LEE; MONSEF; TORABINEJAD, 1993; TORABINEJAD, M., *et al.*, 1995a; FORD, *et al.*, 1996). Estudos clínicos e laboratoriais demonstraram que este material é capaz de promover o reparo dos tecidos perirradiculares quando utilizado em diferentes procedimentos (HOLLAND, *et al.*, 2001c; CHONG; PITT FORD; HUDSON, 2003; FARSI, *et al.*, 2006). O MTA apresenta, também, propriedades físicas e químicas caracterizadas pelo tempo de presa longo e pH elevado (PARIROKH; TORABINEJAD, 2010), além de ser considerado um material bioativo devido à capacidade de formar uma superfície cristalina de apatita, interagindo com as superfícies em contato (GANDOLFI, *et al.*, 2010).

O cimento MTA é composto, basicamente, por íons cálcio, silício, alumínio e bismuto (CAMILLERI, *et al.*, 2005). Tais íons encontram-se na forma de silicato tricálcio, silicato dicálcio, aluminato tricálcio e aluminoferrita tetracálcio (CAMILLERI, 2008a). Isto, torna o cimento MTA denominável cimento à base de silicato de cálcio. Em 2000, ESTRELA, *et al.*, demonstraram haver uma semelhança química entre o MTA e um outro cimento à base de silicato de cálcio, conhecido como cimento Portland, que é amplamente utilizado na construção civil. Estudos posteriores demonstraram haver similaridade na constituição de ambos, exceto pela presença de óxido de bismuto no MTA (CAMILLERI, *et al.*, 2005). Comportamento semelhante foi verificado, também, em relação às propriedades físicas (ISLAM; CHNG; YAP, 2006) e biológicas de ambos (SAIDON, *et al.*, 2003; DE DEUS, *et al.*, 2005). Embora o MTA apresente propriedades físicas, químicas e biológicas satisfatórias, alguns aspectos podem limitar a sua utilização dentre estas o custo elevado, o baixo escoamento e a possibilidade de manchamento das estruturas dentárias (BELOBROV; PARASHOS, 2011; DUARTE, *et al.*, 2012a).

A primeira apresentação comercial do MTA disponível no mercado foi o ProRoot MTA (Tulsa Dental Products, Tulsa, Oklahoma, EUA). Posteriormente, foi

disponibilizado o MTA-Angelus (Angelus Soluções Odontológicas, Paraná, Brasil). A existência de poucas marcas autorizadas a produzir este cimento para utilização clínica, torna o produto valorizado e, muitas vezes, inacessível em áreas com recursos financeiros limitados. Por outro lado, o cimento Portland pode ser obtido em grandes quantidades e por um custo reduzido. Os inúmeros estudos demonstrando a sua similaridade quanto às propriedades físicas, químicas e biológicas em relação ao MTA alicerçam a utilização do Portland como base para o desenvolvimento de novos cimentos à base de silicato de cálcio (ESTRELA, *et al.*, 2000; ISLAM; CHNG; YAP, 2006), com consequente diminuição no valor final do produto em comparação ao MTA.

A consistência arenosa e a baixa viscosidade características do MTA dificultam a sua inserção e o completo selamento (DUARTE, *et al.*, 2012b). O propilenoglicol, associado à água destilada, têm sido estudado como um veículo com a finalidade de conferir maior escoamento ao MTA (HOLLAND, *et al.*, 2007; DUARTE, *et al.*, 2012b). DUARTE, *et al.*, (2012b) verificaram que a adição de propilenoglicol ao MTA-Angelus aumentou o tempo de presa, melhorou o escoamento e aumentou o pH e liberação de íons cálcio deste material. O cimento Portland apresenta, também, um escoamento baixo, impedindo o correto preenchimento em determinados casos. A adição de componentes que promovam um maior escoamento a estes cimentos pode ser benéfica quanto à qualidade do selamento.

Outro fator que tem sido discutido atualmente é o potencial do MTA em causar o escurecimento das estruturas dentárias (BELOBROV; PARASHOS, 2011; LENHERR, *et al.*, 2012; VALLES, *et al.*, 2013a,2013b). Esta característica é altamente indesejável para materiais endodônticos, principalmente quando utilizados em áreas com comprometimento estético como, por exemplo, em dentes anteriores. O óxido de bismuto tem sido apontado como o elemento responsável pelo escurecimento verificado após a utilização do MTA (LENHERR, *et al.*, 2012; VALLES, *et al.*, 2013b). Assim, radiopacificadores alternativos têm sido estudados para substituir o óxido de bismuto (DUARTE, *et al.*, 2009; CAMILLERI; CUTAJAR; MALLIA, 2011; CUTAJAR, *et al.*, 2011).

A ausência de radiopacidade do cimento Portland torna necessária a adição

de um agente radiopacificador que permita a sua utilização clínica (DUARTE, *et al.*, 2009). Assim, a necessidade de adição de um radiopacificador ao cimento Portland permite selecionar a substância que apresente as melhores características. O óxido de bismuto, além de ter sido relacionado ao escurecimento dentário, pode interferir nas propriedades físico-químicas do MTA e do cimento Portland (quando adicionado à este), afetando o processo de hidratação (CAMILLERI, 2007,2008c). Ocorre um aumento de porosidade e diminuição na resistência às forças de compressão do cimento (COOMARASWAMY; LUMLEY; HOFMANN, 2007). Além disso, o óxido de bismuto apresenta toxicidade e pode afetar o crescimento e proliferação celular (MIN, *et al.*, 2007) e induzir a morte celular (CAMILLERI, *et al.*, 2004). Assim, alguns autores sugerem a substituição deste radiopacificador por outra substância que promova uma radiopacidade adequada para ser distinguido das estruturas anatômicas e, ao mesmo tempo não interfira nas propriedades do cimento.

O óxido de zircônio é um dos radiopacificadores propostos para substituir o óxido de bismuto. Esta substância é proveniente de um mineral raro denominado badileíta (MERCK INDEX 1996). O óxido de zircônio é empregado em dermatologia, e também como constituinte do cimento AH Plus (LEYHAUSEN, *et al.*, 1999). Alguns estudos não observaram citotoxicidade ou genotoxicidade causado por esta substância (PICONI; MACCAURO, 1999; BRAZ, *et al.*, 2008). CAMILLERI; CUTAJAR; MALLIA, (2011) constataram, também, que o óxido de zircônio não interfere no processo de hidratação do cimento Portland. CUTAJAR, *et al.*, (2011) verificaram que dentre as proporções de 0 a 50% de óxido de zircônio adicionadas ao cimento Portland, a proporção de 30% resultava em um cimento com propriedades físicas semelhantes ao MTA.

O tungstato de cálcio, também conhecido como chileíta (MERCK INDEX 1996) é um pó branco fino produzido por mistura estequiométrica de óxido de cálcio, carbonato de cálcio e ácido tungstênico. Esta substância, além de ser empregada no tratamento de tumores, é utilizada na Endodontia como um dos componentes radiopacificadores do cimento AH Plus (LEYHAUSEN, *et al.*, 1999). GOMES CORNÉLIO, *et al.*, (2011) não verificaram citotoxicidade para o tungstato de cálcio e o óxido de zircônio, sugerindo que esses agentes podem ser boas alternativas para serem adicionados ao cimento Portland.

A busca incessante por novos materiais capazes de suprir as carências dos já disponíveis no mercado é imprescindível para o avanço científico e consequente melhoria do tratamento endodôntico. Assim, a proposta do cimento experimental à base de Portland é a de fornecer melhores características de manipulação com a ausência do escurecimento dentário verificado com o MTA, por meio do aperfeiçoamento das propriedades físicas e químicas, mantendo as propriedades biológicas adequadas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Constituição dos cimentos à base de silicato de cálcio

O cimento MTA foi desenvolvido na década de 90 na Universidade de Loma Linda, na Califórnia (EUA). Este material foi patenteado pelo Prof. Mahmoud Torabinejad (TORABINEJAD, M, 1995) e, após receber a aprovação da FDA (Food and Drug Administration), nos Estados Unidos, foi comercializado com o nome de ProRoot MTA pela empresa Tulsa (Tulsa Dental Products, Tulsa, Oklahoma, EUA). Inicialmente, apenas o MTA na sua forma cinza era disponível sendo que, anos mais tarde, a fórmula com coloração branca foi desenvolvida. Posteriormente, a empresa brasileira Angelus (Angelus Soluções Odontológicas, Paraná, Brasil) também iniciou a comercialização do MTA no Brasil, e também em outros países.

Em 1995, em estudo preliminar analisando a composição química do MTA, TORABINEJAD, M., *et al.*, (1995a) identificaram os principais componentes presentes no material. Os elementos verificados foram o óxido de cálcio e o fosfato de cálcio. Estas matérias-primas, submetidas à altas temperaturas em um forno, produzem o silicato tricálcio ($3\text{CaO}.\text{SiO}_2$), silicato dicálcio ($2\text{CaO}.\text{SiO}_2$), aluminato tricálcio ($3\text{CaO}.\text{Al}_2\text{O}_3$) e aluminoferritatetracálcio ($4\text{CaO}.\text{Al}_2\text{O}_3.\text{Fe}_2\text{O}_3$). Após a hidratação do cimento, ocorre a formação de duas fases: a cristalina composta por óxido de cálcio e a amorfa composta por fosfato de cálcio. Neste estudo, os autores verificaram como principais íons presentes no MTA o cálcio e o fósforo.

Dez anos mais tarde, CAMILLERI, *et al.*, (2005) demonstraram, por meio de análise em microscopia eletrônica de varredura, no modo EDX (energia dispersiva de raios-X), que o cimento MTA na forma não hidratada (pó), era composto principalmente por íons cálcio, silício, bismuto e oxigênio, sendo que o MTA cinza apresentava, também, traços de ferro em sua composição. Na análise em XRD (difração de raios-X) dos materiais hidratados, os autores identificaram que o MTA era composto primariamente por silicato tricálcio e silicato dicálcio. Estrutura semelhante foi identificada no cimento utilizado na construção civil, denominado cimento Portland, porém sem a presença do radiopacificador óxido de bismuto, que

era adicionado ao MTA para permitir sua utilização como um material odontológico. A presença de fósforo não foi identificada no cimento na forma de pó, em contraste com os resultados encontrados por TORABINEJAD, M., *et al.*, (1995a), para o cimento hidratado. Por outro lado, CAMILLERI, *et al.*, (2005) verificaram a presença de fósforo também no MTA hidratado, porém apenas quando este foi imerso em solução de fosfato. Assim, verificou-se que o fósforo não era um composto presente no MTA, mas sim resultado de uma etapa laboratorial empregada na análise do material hidratado. Além disso, a ideia que se tinha de que o MTA era composto por tri-óxidos, por demonstrar em EDX três picos distintos de elementos (TORABINEJAD, M., *et al.*, 1995a), foi alterada por ter sido identificado que o MTA era composto principalmente por silicato de cálcio (CAMILLERI, *et al.*, 2005).

Diversos autores avaliaram a constituição química do MTA, utilizando para isso, diferentes metodologias. São reportadas semelhanças com o cimento Portland, exceto para a presença do bismuto na composição do MTA (ESTRELA, *et al.*, 2000; FUNTEAS; WALLACE; FOCHTMAN, 2003; SONG, *et al.*, 2006). Alguns autores identificaram outras diferenças. Em 2005, DAMMASCHKE, *et al.* avaliaram a composição química do MTA e de dois tipos diferentes de Portland e verificaram que no MTA a quantidade de gesso foi aproximadamente metade da encontrada para o Portland. Foram identificados menos metais pesados e alumínio no MTA, porém com a presença de bismuto, não encontrado no Portland. Além disso, as partículas dos cimentos Portland apresentavam tamanhos mais variáveis enquanto o MTA apresentava maior uniformidade, sendo estas de tamanho menor.

Tanto o MTA quanto o cimento Portland podem ser considerados cimentos à base de silicato de cálcio. Tal denominação tem sido atualmente empregada para se referir à cimentos com tal constituição. De acordo com a Sociedade Americana para Teste de Materiais (ASTM, American Society for Testing Materials), o MTA é um cimento Portland Tipo 1. Ambos são considerados cimentos hidráulicos pois sua reação de presa tem início na presença de água (CAMILLERI, 2008c). Assim, ao contrário dos sistemas ácido-base comumente utilizados nos materiais odontológicos, os cimentos hidráulicos dependem das reações de hidratação para iniciarem a presa (DARVELL; WU, 2011). Durante a hidratação, o Portland produz gel de hidrato de silicato de cálcio e hidróxido de cálcio (CAMILLERI, 2007). O processo de hidratação do Portland envolve diversas reações químicas que ocorrem

simultaneamente. Em água, os silicatos de cálcio sofrem hidrólise produzindo hidróxido de cálcio e, em menor quantidade, hidratos de silicato de cálcio. Ao final do processo de hidratação, é formado um gel de hidrato de silicato de cálcio ($C_3S_2H_3$) (CAMILLERI, 2007). Partículas de cimento que não reagem durante o processo de hidratação são revestidas pelo gel de hidrato de silicato de cálcio (C-S-H) (CAMILLERI, 2007). O processo de hidratação do MTA difere do que ocorre para o cimento Portland. Embora durante a hidratação do MTA haja a produção de hidrato de silicato de cálcio e hidróxido de cálcio, assim como para o Portland, a presença de bismuto afeta a hidratação do MTA. O bismuto pode ser encontrado tanto como um elemento não reagido no MTA hidratado, mas também como parte da estrutura formada de C-S-H (CAMILLERI, 2007). A presença do bismuto afeta a precipitação do hidróxido de cálcio no MTA além de afetar a microestrutura do cimento, tornando-a mais enfraquecida em comparação com o Portland (CAMILLERI, 2007).

2.2 Propriedades físicas, químicas e biológicas dos cimentos à base de silicato de cálcio

As propriedades dos cimentos à base de silicato de cálcio têm sido extensivamente avaliadas nas últimas décadas. Um dos aspectos mais importantes verificados é a influência de componentes adicionados ao cimento Portland e ao MTA no comportamento físico destes materiais.

Com a finalidade de padronizar os testes e valores mínimos e máximos para as propriedades físicas dos materiais, algumas normativas foram estabelecidas. A ISO (International Organization for Standardization), por meio de sua normativa 6876/2001 e a ANSI/ADA, por meio das especificações nº 57 recomendam uma sequência para a realização de testes físicos para os cimentos como radiopacidade, escoamento, espessura de filme, tempo de trabalho e de presa, alteração dimensional e solubilidade. A norma ISO foi primeiramente publicada em 1986 (ISO 6876/1986). Entretanto a discordância entre a norma ISO e as especificações da ANSI/ADA, publicadas em 1983, fizeram com que houvesse uma revisão na norma ISO. Assim, em 1991, uma revisão das normas da ISO teve início com alteração na descrição dos procedimentos de testes como escoamento, tempo de trabalho e tempo de presa.

2.2.1 Radiopacidade

A radiopacidade é uma propriedade física fundamental para os materiais utilizados na Endodontia. A visualização radiográfica é muito importante para identificar a presença, extensão e aparente condensação dos materiais no interior dos canais radiculares (TAGGER; KATZ, 2003). Com esta finalidade, agentes radiopacificadores são adicionados à composição dos materiais utilizados na terapia endodôntica. A norma nº 57 da ANSI/ADA, estabelece que a radiopacidade mínima requerida para os cimentos endodônticos é de 3 mm Al.

Os agentes radiopacificadores adicionados podem variar de acordo com o material. O óxido de bismuto pode ser encontrado na composição do MTA, enquanto radiopacificadores como o óxido de zircônio e o tungstato de cálcio estão presentes na formulação do cimento obturador AH Plus (DUARTE, *et al.*, 2009). A adição de diferentes radiopacificadores têm sido proposta para prover radiopacidade ao Portland e, assim, permitir a sua utilização na Odontologia (DUARTE, *et al.*, 2009; SALIBA, *et al.*, 2009; CAMILLERI, 2010a; CAMILLERI; GANDOLFI, 2010b; CAMILLERI; CUTAJAR; MALLIA, 2011). Dentre os diferentes materiais estudados, o óxido de bismuto tem sido o mais avaliado por compor a formulação do MTA.

De acordo com a patente do MTA, a proporção de óxido de bismuto presente na sua composição é de 20% (TORABINEJAD, M, 1995). Em estudo inicial, verificou-se uma radiopacidade equivalente à 7,17 mm Al (TORABINEJAD, M., *et al.*, 1995a), superior ao recomendado pela norma ANSI/ADA. Estudos posteriores reportaram uma radiopacidade em torno de 6-8 mm Al (LAGHIOS, *et al.*, 2000; DANESH, *et al.*, 2006; ISLAM; CHNG; YAP, 2006; KIM, *et al.*, 2008; CAMILLERI; GANDOLFI, 2010b). A diferença de radiopacidade verificada para o MTA pode estar relacionada à marca comercial. SONG, *et al.*, (2006) reportam uma diferença no conteúdo de óxido de bismuto no ProRoot MTA (Tulsa) e no MTA-Angelus (Angelus). Segundo os autores, o ProRoot MTA apresenta um conteúdo maior de radiopacificador que a apresentação da Angelus. A diferença entre as marcas pode estar relacionada ao método de proporcionamento utilizado para adicionar o óxido de bismuto ao Portland, como sugerido por DUARTE, *et al.*, (2009). Devido ao peso molecular alto do óxido de bismuto, o proporcionamento realizado em peso resulta em uma quantidade menor de radiopacificador do que quando o proporcionamento é

realizado considerando o volume.

O cimento Portland não apresenta uma radiopacidade adequada para atender ao mínimo requerido pela norma ANSI/ADA. A radiopacidade do Portland varia em torno de 0,86-2 mm Al (ISLAM; CHNG; YAP, 2006; KIM, *et al.*, 2008; DUARTE, *et al.*, 2009; SALIBA, *et al.*, 2009). Assim, a adição de um componente radiopacificador é essencial para a utilização deste material na Endodontia. Distintas proporções e diferentes radiopacificadores tem sido avaliados como aditivos ao Portland. A adição de 20% de óxido de bismuto ao Portland resulta em uma radiopacidade que varia na faixa de 5-8 mm Al (DANESH, *et al.*, 2006; ISLAM; CHNG; YAP, 2006; KIM, *et al.*, 2008; DUARTE, *et al.*, 2009; CAMILLERI; GANDOLFI, 2010b). Outras proporções de óxido de bismuto adicionado ao Portland foram, também, avaliadas, como 10, 15, 20, 30 e 50% (COUTINHO-FILHO, *et al.*, 2008; KIM, *et al.*, 2008; BUENO, *et al.*, 2009; HWANG, *et al.*, 2009; SALIBA, *et al.*, 2009). Os resultados encontrados são variáveis, porém em todos os estudos é possível observar que a proporção do radiopacificador tem uma relação diretamente proporcional com a radiopacidade verificada para os cimentos. Assim, o incremento da proporção de radiopacificador aumenta a radiopacidade, o que é esperado que ocorra.

Além da radiopacidade, outras propriedades do Portland podem ser alteradas com a adição de óxido de bismuto. Como reportado por CAMILLERI (2007), o óxido de bismuto pode alterar o processo de hidratação do MTA. Este radiopacificador não atua como uma substância inerte durante o processo de hidratação (CAMILLERI, 2010a), mas pode ser encontrado como parte da estrutura de hidrato de silicato de cálcio (C-S-H). O restante do bismuto não reagido é encontrado juntamente com o hidróxido de cálcio formado durante a hidratação dos silicatos de cálcio (CAMILLERI, 2008c). Assim, a precipitação de hidróxido de cálcio é reduzida no MTA em comparação com o Portland sem óxido de bismuto (CAMILLERI, 2007). Além disso, a microestrutura do cimento é alterada, sendo que o MTA apresenta uma microestrutura mais fraca que o Portland sem óxido de bismuto (CAMILLERI, 2007). Esta alteração na microestrutura pode ser o fator responsável pela redução na resistência à força de compressão observada (COOMARASWAMY; LUMLEY; HOFMANN, 2007; SALIBA, *et al.*, 2009).

2.2.2 Tempo de presa

O tempo de presa dos cimentos à base de silicato de cálcio é considerado uma desvantagem para a utilização destes cimentos. O tempo de presa é elevado, impedindo a colocação de um material restaurador final na mesma sessão de tratamento (DARVELL; WU, 2011). A presa elevada é consequência do processo de hidratação do cimento, que ocorre de maneira lenta. O principal componente do pó, C_3S , reage com a água resultando no processo de endurecimento do cimento, com a produção de C-S-H (DARVELL; WU, 2011):

Este processo ocorre de maneira lenta, resultando em um tempo de presa em torno de 3 horas (TORABINEJAD, M., *et al.*, 1995a).

São relatadas diferenças no tempo de presa entre as diferentes formulações comercialmente disponíveis do MTA. Na literatura são reportados valores para o ProRoot MTA entre 40-45 minutos para a presa inicial e 140 minutos para a presa final (CHNG, *et al.*, 2005; ISLAM; CHNG; YAP, 2006). Por outro lado, o MTA-Angelus apresenta uma presa inicial e final em torno de 12 e 48 minutos, respectivamente (BORTOLUZZI, *et al.*, 2009a). A diferença pode estar relacionada à ausência de sulfato de cálcio (gesso) na composição do MTA-Angelus. Esta substância, utilizada para aumentar o tempo de presa do Portland, está presente na composição do ProRoot MTA, na proporção de 5% (BORTOLUZZI, *et al.*, 2009a). A presença de sulfato de cálcio, dificulta a reação do aluminato tricálcio para produzir hidrato de aluminato de tricálcio (CAMILLERI, 2008b). Outro aspecto que pode alterar a presa do MTA é a proporção pó/líquido. Quando se adiciona mais líquido na manipulação do MTA, ocorre um retardo no tempo de presa do cimento (CAVENAGO, *et al.*, 2013).

O cimento Portland apresenta, também, um tempo de presa elevado. Na indústria, o tempo de presa do cimento Portland é controlado por meio da moagem do cimento com gesso ao final do processo de fabricação (CAMILLERI, 2008b). O gesso é adicionado no cimento pelos fabricantes para retardar o tempo de presa. Na literatura são relatados valores entre 38-40 minutos para a presa inicial e entre 135-

190 minutos para a presa final do Portland (ISLAM; CHNG; YAP, 2006; BORTOLUZZI, *et al.*, 2009a). Valores discrepantes podem ser encontrados na literatura provavelmente devido à utilização de diferentes marcas de Portland e, portanto presença de diferentes proporções de gesso na sua composição.

O óxido de bismuto afeta negativamente a presa dos cimentos à base de silicato de cálcio (CAMILLERI, 2010a; ANTONIJEVIC, *et al.*, 2013). A adição desse radiopacificador ao Portland aumenta o tempo de presa significativamente (ISLAM; CHNG; YAP, 2006; DUARTE, *et al.*, 2012a; ANTONIJEVIC, *et al.*, 2013; GRAZZIOTIN-SOARES, *et al.*, 2013). A alteração no tempo de presa do Portland com a adição de óxido de bismuto pode estar relacionada com a interação desse radiopacificador na hidratação do cimento. O mesmo não é verificado com outros radiopacificadores como o óxido de zircônio (ANTONIJEVIC, *et al.*, 2013). O tempo de presa reduzido é importante para permitir a colocação de um material restaurador na mesma sessão, reduzindo o número de sessões clínicas. Além disso, reduz a possível perda do material para o meio (wash-out) e contaminação (ANTONIJEVIC, *et al.*, 2013).

2.2.3 Consistência e características de manipulação

O MTA apresenta uma típica característica de manipulação. A consistência arenosa e a baixa fluidez tornam a manipulação e inserção do material difícil. Tal característica está relacionada ao tamanho das partículas, que apresentam dimensões variáveis, sendo algumas com até 50 μm (CAMILLERI, 2007). Além disso, o rápido ressecamento do material contribui para dificultar a manipulação (BER; HATTON; STEWART, 2007; VIVAN, *et al.*, 2010).

A água destilada é o veículo empregado na manipulação do MTA. Durante o processo de hidratação, o silicato de cálcio sofre hidrólise produzindo hidróxido de cálcio e um hidrato de silicato de cálcio. Ao final da hidratação ocorre a formação de um gel de silicato de cálcio ($\text{C}_3\text{S}_2\text{H}_3$) (CAMILLERI, 2007). A água destilada também é empregada como veículo para medicações intra-canal, como a pasta de hidróxido de cálcio, sendo que a sua utilização na pasta de hidróxido de cálcio, favorece a liberação rápida de íons cálcio (Ca^{2+}) e hidroxila (OH^-), ocasionando em uma diminuição do tempo em que o pH permanece elevado. Além disso, esse veículo

promove um alto grau de solubilidade da pasta quando em contato direto com os tecidos e fluidos tissulares (FAVA; SAUNDERS, 1999).

Com a intenção de melhorar as características de manipulação do MTA, alguns autores avaliaram diferentes veículos, incluindo metilcelulose (BER; HATTON; STEWART, 2007), gluconato de lactato de cálcio (HSIEH, *et al.*, 2009), cloreto de cálcio e lubrificante à base de água (KOGAN, *et al.*, 2006; ALANEZI, *et al.*, 2011). Outra substância que tem sido recentemente avaliada como veículo para o MTA é o propilenoglicol. Esta substância é um composto orgânico, um álcool, com fórmula $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$ (PHARMACOPEIA, 1989). Consiste em um líquido incolor, inodoro, com sabor levemente adocicado, viscoso e miscível em água. O propilenoglicol é utilizado como solvente, conservante e umectante em preparações farmacêuticas, tanto de medicamentos sistêmicos quanto tópicos. É considerado o veículo ideal para preparações tópicas em medicamentos dermatológicos (HANNUKSELA; SALO, 1986). Além disso, também é empregado como carreador e solvente em corantes, emulsificantes, antioxidantes e enzimas em alimentos, tendo sido aprovado pela FDA (Food and Drug Administration) para esta finalidade. Em relação à segurança dessa substância, estudos mostram baixa toxicidade, não havendo efeito genotóxico ou carcinogênico (SEIDENFELD M. A., 1932).

Na Odontologia, o propilenoglicol é utilizado como veículo para o hidróxido de cálcio (PACIOS, *et al.*, 2003) e como aditivo em cimentos obturadores (CHANG, *et al.*, 2010). Diversos estudos demonstraram atividade antimicrobiana do propilenoglicol sobre bactérias comumente encontradas em infecções endodônticas (VAGHELA, *et al.*, 2011). O propilenoglicol pode, também, melhorar significativamente a penetração dos materiais na dentina em comparação com a água destilada (CRUZ, *et al.*, 2002)

A associação do propilenoglicol como veículo para o MTA tem sido estudada. HOLLAND, *et al.*, (2007) verificaram uma melhoria nas características de manipulação e inserção do MTA quando o propilenoglicol foi utilizado como veículo. Além disso, não verificaram diferença estatística na resposta do tecido periapical de cães quando comparado ao emprego do MTA manipulado com água destilada. Posteriormente, BRITO-JUNIOR, *et al.*, (2010) avaliaram o selamento de perfurações de furca com MTA cinza manipulado com propilenoglicol, utilizando o

método de infiltração bacteriana, verificando que o uso do propilenoglicol como veículo para o MTA aumentou o selamento. Em 2012b, *et al.* avaliaram se a adição de diferentes proporções de propilenoglicol (20-80%, em volume) associado à água destilada resultava em alteração nas propriedades físicas e químicas do MTA. O escoamento foi significativamente maior quando o MTA foi manipulado com 20% de propilenoglicol associado à 80% de água destilada, em volume. Por outro lado, o MTA manipulado apenas com água apresentou significativamente menor escoamento. Não houve alteração significativa no pH e na liberação de íons cálcio com a adição do propilenoglicol ao MTA nos períodos mais tardios. Houve alteração no tempo de presa, sendo que o aumento da proporção de propilenoglicol retardou o tempo de presa e com 100% de propilenoglicol não houve a presa do cimento. Os autores recomendaram uma proporção de 80% de água destilada para 20% de propilenoglicol, em volume. Recentemente, SALEM MILANI, *et al.*, (2013) avaliaram o efeito do uso do propilenoglicol como veículo na adesividade do MTA às paredes dentinárias. Os autores verificaram que o MTA manipulado apenas com água apresentou uma adesividade significativamente menor em comparação à utilização do propilenoglicol nas proporções de 20% e 100% na manipulação do MTA. Os autores reforçam a proporção de 80% de água destilada e 20% de propilenoglicol como a ideal.

2.2.4 Solubilidade

A solubilidade é uma propriedade física importante a ser analisada nos cimentos à base de silicato de cálcio, considerando que estes permanecem em contato direto com os tecidos por um longo período. Materiais que apresentam uma elevada solubilidade podem levar a um selamento inadequado, e presença de espaços vazios na obturação.

Para avaliar a solubilidade dos materiais, diferentes metodologias podem ser aplicadas. As normas ISO 4049/2009, ISO 6876/2001 e especificações nº 57/2000 da ANSI/ADA são normas bastante empregadas no estudo da solubilidade dos cimentos. A norma ISO 4049 inclui procedimentos para avaliar tanto a absorção de água quanto a solubilidade. Tais normas estão baseadas na confecção de amostras que são imersas em água, sendo que a diferença de massa inicial e final após

imersão é considerada a solubilidade dos cimentos. Estas normas estabelecem que os cimentos não devem apresentar uma solubilidade, ou seja, perda de peso, maior que 3% em relação ao peso inicial. Recentemente, o método volumétrico foi desenvolvido para a mensuração da solubilidade. CAVENAGO, *et al.*, (2013) propuseram a utilização da microtomografia computadorizada (micro-CT) para a análise da perda volumétrica e, assim, calcular a solubilidade do material.

A solubilidade do cimento MTA apresenta resultados controversos na literatura. Alguns estudos relatam uma solubilidade elevada. Em estudo à longo prazo, FRIDLAND; ROSADO (2003) reportam valores elevados, sendo que em uma projeção matemática infinita, o MTA solubilizaria 22,06% se manipulado na proporção 0,28 água/pó e 31,095% na proporção de 0,33. VIVAN, *et al.*, (2010) relatam uma solubilidade de 3,47% para o MTA-Angelus, ultrapassando os valores requeridos pela norma ISO. Por outro lado, outros estudos mostram uma solubilidade baixa e mesmo absorção de água pelo MTA (TORABINEJAD, M., *et al.*, 1995a; BORTOLUZZI, *et al.*, 2009a). BORTOLUZZI, *et al.*, (2009a) verificaram que em período de análise de 24 horas houve absorção de água de 0,33%, enquanto em períodos mais prolongados, entre 7 e 28 dias, houve solubilização de até 1%.

A solubilidade em relação ao cimento Portland pode apresentar, também, variações. VIVAN, *et al.*, (2010) verificaram que a solubilidade do MTA foi maior que o cimento Portland contendo óxido de bismuto em sua composição. ISLAM; CHNG; YAP (2006) verificaram, também menor solubilidade para o Portland em comparação com o MTA. DANESH, *et al.*, (2006) verificou menor solubilidade para o MTA em comparação com 2 diferentes marcas de Portland. As diferenças podem ser devido às diferentes marcas de cimento Portland utilizadas nos estudos. Além disso, a proporção pó/líquido pode influenciar a solubilidade. A proporção de líquido utilizado durante a manipulação dos cimentos à base de silicato de cálcio pode alterar a solubilidade destes cimentos. A adição de maiores proporções de líquido durante a manipulação resulta em aumento na solubilidade, enquanto o aumento na quantidade de pó adicionado reduz a solubilidade do cimento (FRIDLAND; ROSADO, 2003; CAVENAGO, *et al.*, 2013). Como consequência da maior solubilidade, ocorre um aumento no pH e na liberação de íons cálcio (CAVENAGO, *et al.*, 2013), o que pode favorecer a bioatividade do material e induzir a mineralização. Porém, por outro lado, pode afetar a integridade e a adaptação, resultando em uma indesejável

infiltração bacteriana. Outra característica que é afetada pela alteração na proporção pó/líquido é a porosidade. Uma porosidade elevada resulta em aumento da solubilidade e degradação do material ao longo do tempo, afetando a sua longevidade (FRIDLAND; ROSADO, 2003; DUARTE, *et al.*, 2009).

2.2.5 pH e liberação de íons cálcio

Os cimentos à base de silicato de cálcio são conhecidos pelo seu elevado pH, resultado da reação de hidratação destes cimentos. No processo de hidratação do MTA, o silicato de cálcio sofre hidrólise produzindo hidróxido de cálcio e um hidrato de silicato de cálcio. A liberação de hidróxido de cálcio, na forma de íons Ca^{+2} e hidroxila OH^- , faz com que o cimento hidratado apresente um pH alcalino (DUARTE, *et al.*, 2003; SANTOS, *et al.*, 2005; CAMILLERI, 2007,2008c). O pH elevado é uma propriedade desejável pois está relacionado com a atividade antimicrobiana (TORABINEJAD, M., *et al.*, 1995c) e, também com o estímulo da formação de tecido mineralizado quando em contato com os tecidos (HOLLAND, *et al.*, 2001b). O pH alcalino exerce uma atividade antimicrobiana pois cria um ambiente desfavorável ao crescimento bacteriano, enquanto a formação de uma barreira mineralizada é estimulada devido à liberação de íons Ca^{+2} nos tecidos adjacentes (HOLLAND, *et al.*, 2002). Os íons Ca^{+2} liberados pelo cimento reagem com o fosfato presente nos fluídos, produzindo hidroxiapatita (SARKAR, *et al.*, 2005). Foi reportado que a fosfatase alcalina, enzima presente em tecidos mineralizados, apresenta uma atividade maior sobre as células pulpares humanas na presença de pH mais elevado (OKABE, *et al.*, 2006). Assim, a maior alcalinidade e maior liberação de íons cálcio favorecem o estímulo à deposição de tecido mineralizado e, consequentemente o reparo tecidual.

O pH e a liberação de íons cálcio dos cimentos à base de silicato de cálcio têm sido amplamente estudados. O cimento MTA pode apresentar uma variação no pH e na liberação de íons cálcio, sendo reportados na literatura valores de pH entre 8-12 (DUARTE, *et al.*, 2003; CAMILLERI, 2007; DE VASCONCELOS, *et al.*, 2009; VIVAN, *et al.*, 2010). Além disso, diferentes apresentações comerciais do MTA podem apresentar variações, sendo que foi verificado que o MTA-Angelus favoreceu um pH e liberação de cálcio ligeiramente mais elevados que o ProRoot MTA

(DUARTE, *et al.*, 2003).

O cimento Portland apresenta, também, um pH alcalino e uma elevada liberação de íons cálcio. Entretanto, em relação ao MTA, alguns estudos mostram que o cimento Portland apresenta um pH menor (ISLAM; CHNG; YAP, 2006), enquanto outros relatam um pH mais elevado para o cimento Portland com óxido de bismuto (BORTOLUZZI, *et al.*, 2009a; VIVAN, *et al.*, 2010). Por outro lado, a liberação de íons cálcio mostra-se mais elevada para o cimento Portland com óxido de bismuto (DE VASCONCELOS, *et al.*, 2009; VIVAN, *et al.*, 2010).

Um aspecto que ocorre com os cimentos à base de silicato de cálcio é a liberação de íons cálcio e o pH mais elevados nos períodos iniciais, logo após a sua manipulação (DUARTE, *et al.*, 2003; DE VASCONCELOS, *et al.*, 2009; VIVAN, *et al.*, 2010). Com o decorrer do tempo, ocorre um declínio tanto da liberação de cálcio quanto do pH, porém ainda permanece alcalino (VIVAN, *et al.*, 2010). Essa característica está relacionada à uma maior liberação dos íons cálcio e hidroxila logo após a manipulação até ocorrer a completa presa do cimento.

A proporção pó/líquido pode alterar o pH e a liberação de íons cálcio do MTA (CAVENAGO, *et al.*, 2013). A adição de maiores proporções de líquido na mistura resulta em aumento do pH e da liberação de cálcio. Este fenômeno pode estar relacionado com a maior solubilização do cimento (CAVENAGO, *et al.*, 2013).

2.2.6 Descoloração dentária

O manchamento das estruturas dentárias pode ser verificado antes e/ou após o tratamento endodôntico. Diferentes fatores etiológicos podem estar associados, podendo ser naturais ou iatrogênicos (DAVIS; WALTON; RIVERA, 2002). As causas naturais podem ser resultantes de distúrbios durante o desenvolvimento dentário, cáries, necrose pulpar, traumatismos e reabsorções (AHMED; ABBOTT, 2012). Por outro lado, os fatores iatrogênicos estão relacionados com procedimentos descuidados realizados durante o tratamento endodôntico. Dentre estes procedimentos, a incorreta limpeza da câmara pulpar é o fator mais diretamente relacionado ao escurecimento dentário. A completa remoção de tecidos pulparem remanescentes, medicações e cimentos da câmara pulpar é essencial para evitar o

escurecimento coronário (PARSONS; WALTON; RICKS-WILLIAMSON, 2001; AHMED; ABBOTT, 2012). Entretanto, alguns procedimentos como o selamento de perfurações, pulpotomia e capeamento pulpar requer, muitas vezes, a manutenção do cimento na porção coronária por um longo período (AEINEHCHI, *et al.*, 2003). Nos casos em que o capeamento é realizado em dentes anteriores, a estética está diretamente envolvida sendo essencial que os materiais não ocasionem escurecimento coronário. A utilização do MTA como material capeador pulpar está bem documentada na literatura (FORD, *et al.*, 1996; FARACO; HOLLAND, 2001; IWAMOTO, *et al.*, 2006). Os resultados demonstram que este material é capaz de induzir a formação de uma barreira de tecido mineralizado (PARIROKH, *et al.*, 2005), apresentando resultados mais satisfatórios que o hidróxido de cálcio (FARACO; HOLLAND, 2001).

Inicialmente, apenas o MTA cinza era disponível comercialmente, sendo que a sua coloração apresentava um grande potencial para o manchamento dentário, limitando o seu uso em áreas estéticas (BORTOLUZZI, *et al.*, 2007; AKBARI, *et al.*, 2012). Assim, posteriormente, o MTA branco foi desenvolvido com o objetivo de resolver este problema. O MTA branco apresenta uma redução na proporção de Al_2O_3 (trióxido de alumínio), MgO (óxido de magnésio) e FeO (óxido de ferro) em sua composição (AKBARI, *et al.*, 2012). A redução significativa na presença de ferro em sua composição pôde prevenir a formação de aluminoferrita, responsável pela coloração acinzentada característica do MTA cinza (DARVELL; WU, 2011).

Embora o MTA branco tenha sido desenvolvido com o objetivo de solucionar o problema do escurecimento dentário promovido pelo MTA cinza, estudos laboratoriais demonstraram haver escurecimento mesmo com o seu uso (BOUTSIUKIS; NOULA; LAMBRIANIDIS, 2008; AKBARI, *et al.*, 2012; LENHERR, *et al.*, 2012; FELMAN; PARASHOS, 2013; VALLES, *et al.*, 2013b). Este efeito foi verificado também clinicamente (BORTOLUZZI, *et al.*, 2007; JACOBOVITZ; DE PONTES LIMA, 2009; BELOBROV; PARASHOS, 2011). Dessa forma, o efeito produzido pelo manchamento coronário restringe a utilização do MTA para áreas em que a estética não é diretamente envolvida (AKBARI, *et al.*, 2012).

Diferentes hipóteses têm sido consideradas para explicar o escurecimento verificado para o MTA branco. Alguns autores sugerem que, embora a concentração

dos metais Al_2O_3 , MgO e FeO tenha sido reduzida em comparação com o MTA cinza, estes ainda estão presentes na composição do MTA branco, causando o escurecimento (AKBARI, *et al.*, 2012). Por outro lado, outros autores sugerem que o óxido de bismuto seja o responsável pela alteração de cor verificada para este material. A provável oxidação do óxido de bismuto, sob condições de irradiação por luz e ausência de oxigênio, resultaria na formação de bismuto metálico, que possui coloração negra (VALLES, *et al.*, 2013b). A hipótese da influência do bismuto na reação de escurecimento parece plausível. Estudos prévios demonstram que outros materiais, que também apresentam o óxido de bismuto na composição, como por exemplo o cimento AH 26, ocasionam o escurecimento dentário (VAN DER BURGT; PLASSCHAERT, 1985; DAVIS; WALTON; RIVERA, 2002). Entretanto, outras variáveis devem ser analisadas, como sugerem MARCIANO, *et al.*, (2013) que não verificaram alteração de cor em amostras de cimento com a adição de proporções de 0, 15, 20, 30 e 50% de óxido de bismuto ao Portland. Dentre estas variáveis estão a interação do cimento com componentes presentes na dentina ou mesmo com outras substâncias envolvidas no tratamento endodôntico. Uma destas substâncias é o hipoclorito de sódio. CAMILLERI (2014) verificou o escurecimento do MTA após o contato com hipoclorito de sódio, sendo que em outras soluções como água e peróxido de hidrogênio não houve alteração de cor. Outro fator verificado no estudo foi que, mais uma vez, o óxido de bismuto parece estar envolvido no escurecimento do MTA. O mesmo teste realizado em amostras de cimento Portland sem radiopacificador não apresentaram escurecimento, indicando uma relação entre o óxido de bismuto e o escurecimento.

2.2.7 Biocompatibilidade

Os cimentos à base de silicato de cálcio são conhecidos por apresentarem uma resposta tecidual satisfatória e uma bioatividade (HOLLAND, *et al.*, 2002; DREGER, *et al.*, 2012). Estes cimentos apresentam uma resposta biológica que favorece o reparo tecidual (HOLLAND, *et al.*, 2001b). Além disso, estes materiais liberam componentes capazes de estimular a deposição de tecido mineralizado (DREGER, *et al.*, 2012). Essas características favorecem a utilização desses cimentos para procedimentos em que o material está em contato direto com os tecidos e exerce um papel fundamental no reparo como, por exemplo, no selamento

de perfurações (HOLLAND, *et al.*, 2001c), preenchimento de cavidades retrógradas (VON ARX, *et al.*, 2012) e capeamentos pulpare (NOWICKA, *et al.*, 2013).

As propriedades biológicas dos cimentos à base de silicato de cálcio têm sido amplamente estudadas. O MTA tem sido investigado utilizando diferentes metodologias incluindo testes de citotoxicidade (SAIDON, *et al.*, 2003), implantação subcutânea (HOLLAND, *et al.*, 2001b) e contato direto com tecidos pulpare *in vivo* (FARACO; HOLLAND, 2001).

Em relação aos testes de implantação em subcutâneo de ratos, os resultados presentes na literatura mostram que o MTA inicialmente promove uma reação inflamatória mais intensa nos períodos mais próximos à sua implantação, reduzindo com o decorrer do tempo (MORETTON, *et al.*, 2000; GOMES-FILHO, *et al.*, 2009; SHAHI, *et al.*, 2010; CUNHA, *et al.*, 2011). Na reação inflamatória inicial, podem ser detectadas áreas com necrose tecidual. Com o passar do tempo, ocorre a mineralização com áreas de granulação birrefringentes à luz polarizada (HOLLAND, *et al.*, 2001b; HOLLAND, *et al.*, 2002; GOMES-FILHO, *et al.*, 2009). A indução da mineralização é uma propriedade importante principalmente em casos em que necessita-se de um selamento, como em perfurações e em cavidades retrógradas. O reparo ósseo pode ser verificado também com a implantação intra-óssea do MTA (TORABINEJAD, M., *et al.*, 1995b; SAIDON, *et al.*, 2003).

O cimento Portland apresenta a mesma composição do MTA, sem a presença de óxido de bismuto. Tanto o MTA quanto o cimento Portland se mostram biocompatíveis (SAIDON, *et al.*, 2003). Diferentes metodologias utilizadas para avaliar a resposta biológica demonstram que ambos apresentam citotoxicidade semelhante (SAIDON, *et al.*, 2003; DE DEUS, *et al.*, 2005), não são genotóxicos (RIBEIRO, *et al.*, 2006) e apresentam uma reação tecidual similar (HOLLAND, *et al.*, 2001b; SAIDON, *et al.*, 2003). Além disso, é possível verificar uma indução da mineralização para ambos quando utilizados para a proteção pulpar direta em dentes de cães (HOLLAND, *et al.*, 2001a; MENEZES, *et al.*, 2004). O mesmo foi verificado na implantação de tubos de dentina contendo os materiais no subcutâneo de ratos (HOLLAND, *et al.*, 2001b).

Uma preocupação em relação ao uso do cimento Portland na clínica é a liberação de arsênico. DUARTE, *et al.*, (2005) estudaram a liberação de arsênico de duas marcas comerciais de MTA (ProRoot e MTA-Angelus), duas marcas de cimento Portland cinza e uma de cimento Portland branco. Os níveis de arsênico liberados foram similares entre as diferentes marcas de MTA e cimento Portland, estando bem abaixo dos níveis considerados nocivos à saúde. Assim, em relação à concentração de arsênico os cimentos são seguros para o uso na prática clínica. BRAMANTE, *et al.*, (2008) verificaram também níveis de arsênico para o MTA-Angelus e o cimento Portland branco abaixo do limite tolerado de acordo com a norma ISO 9917-1.

A utilização do cimento Portland clinicamente foi reportada por DE-DEUS; COUTINHO-FILHO, (2007). Os autores verificaram reparo periapical substancial após o uso do cimento Portland branco para realização de tampão apical em dente com ápice incompleto. Após um período de 7 meses da intervenção foi possível verificar um completo reparo da região periapical. Além disso, após 1 ano o paciente apresentava ausência de sintomas clínicos e de sinais de rarefação óssea periapical. Os resultados do tratamento sugeriram que a utilização do Portland é viável em substituição ao MTA como tampão apical em dentes com ápice incompleto com necrose pulpar. Resultados satisfatórios semelhantes foram reportados por CONTI, *et al.*, (2009) ao utilizar o cimento Portland como material capeador pulpar direto após pulpotomia em dentes decíduos.

A associação de radiopacificadores ao Portland e a resposta tecidual também têm sido objeto de estudo. Certa preocupação tem sido manifestada em torno da toxicidade do óxido de bismuto. CAMILLERI, *et al.*, (2004) verificaram uma inibição do crescimento celular pelo óxido de bismuto. Entretanto, a adição de óxido de bismuto ao cimento Portland não interferiu na biocompatibilidade do material, mesmo em diferentes proporções (COUTINHO-FILHO, *et al.*, 2008; KIM, *et al.*, 2008; HWANG, *et al.*, 2009; ZEFERINO, *et al.*, 2010).

Outros radiopacificadores foram também avaliados em relação à toxicidade. GOMES CORNÉLIO, *et al.*, (2011) verificaram a citotoxicidade do cimento Portland puro e associado a diferentes agentes radiopacificadores, entre eles o óxido de bismuto, óxido de zircônio e tungstato de cálcio em dois tipos de linhagens celulares

(periodontais e osteogênicas). O cimento Portland puro não apresentou efeito citotóxico às células mesmo quando expostas à alta concentração deste cimento. Nenhuma das variações de cimento Portland com agentes radiopacificadores resultaram em danos celulares. Os cimentos promoveram morte celular apenas em altas concentrações. Recentemente, o óxido de zircônio micro e nanoparticulado associado ao cimento Portland na proporção de 30% de radiopacificador para 70% de cimento foi avaliado em relação à resposta inflamatória e comparado com o óxido de bismuto associado ao cimento Portland na proporção de 20% de radiopacificador para 80% de cimento (SILVA, *et al.*, 2014). Os autores verificaram que o óxido de zircônio micro e nanoparticulado apresentaram uma reação tecidual semelhante entre si e menor em relação ao óxido de bismuto, destacando o óxido de zircônio como uma boa alternativa.

2.3 Radiopacificadores alternativos

O radiopacificador óxido de bismuto está presente na composição do MTA-Angelus e ProRoot MTA. No entanto, diversos estudos têm mostrado que este radiopacificador pode aumentar a porosidade do MTA, consequentemente diminuindo a resistência à força de compressão (COOMARASWAMY; LUMLEY; HOFMANN, 2007), e alterar o processo de hidratação do cimento (CAMILLERI, 2007). O óxido de bismuto também tem sido apontado como o provável responsável pelo escurecimento dentário verificado para o MTA em contato com as estruturas dentárias (VALLES, *et al.*, 2013b). Outro aspecto, é que o óxido de bismuto apresenta toxicidade e pode afetar o crescimento e proliferação celular (MIN, *et al.*, 2007) e induzir a morte celular (CAMILLERI, *et al.*, 2004). Assim, alguns autores sugerem a substituição deste radiopacificador por outra substância que não altere as características do MTA, e permita uma radiopacidade adequada para ser distinguido das estruturas anatômicas.

Alguns dos radiopacificadores estudados para substituir o óxido de bismuto são o sulfato de bário (BORTOLUZZI, *et al.*, 2009b; DUARTE, *et al.*, 2009; CAMILLERI; GANDOLFI, 2010b), iodofórmio (BORTOLUZZI, *et al.*, 2009b; DUARTE, *et al.*, 2009), óxido de zinco (DUARTE, *et al.*, 2009), óxido de chumbo, subnitrito de

bismuto, bismuto carbonato (DUARTE, *et al.*, 2009), ouro em pó (CAMILLERI; GANDOLFI, 2010b), liga de prata/estanho (CAMILLERI; GANDOLFI, 2010b), óxido de zircônio (BORTOLUZZI, *et al.*, 2009b; CUTAJAR, *et al.*, 2011) e tungstato de cálcio (DUARTE, *et al.*, 2009).

Dentre os radiopacificadores sugeridos, o óxido de zircônio (ZrO_2) vem sendo extensivamente estudado. O óxido de zircônio foi inicialmente introduzido como um biomaterial para implante em cirurgias ortopédicas devido à sua dureza, alta densidade e resistência ao desgaste (CUTAJAR, *et al.*, 2011). Tais características estão relacionadas à natureza mineral dessa substância. O óxido de zircônio é utilizado na Odontologia em coroas cerâmicas, pinos intra-radiculares (ZALKIND; HOCHMAN, 1998) e como radiopacificador em materiais como o ionômero de vidro e, também em cimentos endodônticos como o AH Plus (Dentsply DeTrey, Konstanz, Alemanha), iRoot SP (Innovative BioCreamix Inc, Vancouver, Canadá) e cimentos experimentais (LEYHAUSEN, *et al.*, 1999; ZHANG; LI; PENG, 2010; VIAPIANA, *et al.*, 2013). A utilização desse radiopacificador em associação com cimentos à base de silicato de cálcio têm sido estudada em relação à microestrutura, radiopacidade, pH, liberação de íons, tempo de presa, solubilidade, porosidade, características de hidratação e citotoxicidade.

A análise do óxido de zircônio em microscopia eletrônica de varredura revela que as partículas de óxido de zircônio apresentam formato esférico entre 0,5-4,5 μm (CAMILLERI; CUTAJAR; MALLIA, 2011). A análise em energia dispersiva de raios-X mostrou que as partículas são compostas por íons Zr e O (CAMILLERI; CUTAJAR; MALLIA, 2011). O processo de hidratação do cimento Portland não é afetado pela presença do óxido de zircônio, atuando como uma substância inerte (CAMILLERI; CUTAJAR; MALLIA, 2011).

Estudos relacionados ao pH do cimento Portland com óxido de zircônio mostram que esta associação apresenta um pH elevado. CAMILLERI; CUTAJAR; MALLIA, (2011) reportam valores entre 11 e 12. DUARTE, *et al.*, (2012a) verificaram valores em torno de 8, sendo que no período inicial de 3 horas apresentaram valores mais elevados, diminuindo até valores entre 6 e 7 no período de 168 horas.

Em relação à análise da liberação de íons, os estudos mostram que a incorporação de óxido de zircônio ao cimento Portland apresenta uma alta liberação de cálcio, sendo comparável ao MTA (CAMILLERI; CUTAJAR; MALLIA, 2011; DUARTE, *et al.*, 2012a). A liberação íons zircônio é menor em relação à liberação de íons bismuto no MTA, mantendo uma alta liberação de íons cálcio. Outro aspecto da associação entre o cimento Portland e o óxido de zircônio é que este cimento reage com íons fósforo, formando fosfato de cálcio indicando ser um cimento bioativo (CAMILLERI; CUTAJAR; MALLIA, 2011).

Diferentes proporções de óxido de zircônio adicionado ao cimento Portland foram avaliadas em relação às propriedades físicas. Proporções entre 0-50% de óxido de zircônio adicionadas em peso foram estudadas em relação à diferentes propriedades como radiopacidade, tempo de presa, solubilidade e resistência à força compressiva (CAMILLERI; CUTAJAR; MALLIA, 2011; CUTAJAR, *et al.*, 2011), sendo que a proporção de 30% apresentou o melhor desempenho. Em relação à radiopacidade, a literatura aponta que uma proporção de 20% é suficiente para prover uma radiopacidade adequada. Proporções de 20%, em peso, apresentam uma radiopacidade que atende ao mínimo exigido pela norma ANSI/ADA, que é de 3 mm Al. DUARTE, *et al.*, (2009) reportam uma radiopacidade de 3,41 mm Al. Valores próximos foram encontrados por BORTOLUZZI, *et al.*, (2009b), de 3,87 mm Al.

Em relação às propriedades físicas, CUTAJAR, *et al.*, (2011) demonstraram que a adição de óxido de zircônio em diferentes proporções não afeta significativamente a resistência à força compressiva do cimento Portland. Em relação ao tempo de presa, proporções maiores que 20% de óxido de zircônio no cimento Portland resultam em um aumento significativo no tempo de presa. Por outro lado, o tempo de presa do cimento Portland contendo 20% de óxido de zircônio é similar ao ProRoot MTA. A adição de óxido de zircônio reduziu a porosidade e aumentou a solubilidade em relação ao cimento Portland sem radiopacificador. Ao contrário, DUARTE, *et al.*, (2012a) não verificaram alteração na solubilidade do cimento Portland com a adição de óxido de zircônio. ANTONIJEVIC, *et al.*, (2013) verificaram que a adição de 20% de óxido de zircônio ao Portland apresentou uma radiopacidade maior que 3 mm Al. Além disso, aumentou a resistência à força compressiva do Portland, enquanto o óxido de bismuto diminuiu significativamente. Tanto o óxido de zircônio quanto o óxido de bismuto aumentaram

significativamente a porosidade. Para o tempo de presa, o óxido de bismuto causou aumento no tempo, enquanto o óxido de zircônio não afetou tal propriedade.

A citotoxicidade do cimento Portland com óxido de zircônio foi analisada por diversos autores e não mostrou um efeito deletério (GOMES CORNÉLIO, *et al.*, 2011). A ausência de efeito carcinogênico foi também verificada. Lesões no DNA de células humanas também não foram constatadas, indicando ausência de genotoxicidade (BRAZ, *et al.*, 2008; RIBEIRO, *et al.*, 2009).

Outro agente radiopacificador sugerido para substituir o óxido de bismuto na composição do MTA é o tungstato de cálcio (CaWO_4). Esta substância é extraída do mineral chileíta. Consiste em um pó branco fino produzido por meio de uma mistura estequiométrica de óxido de cálcio, carbonato de cálcio e ácido tungstênico. Este radiopacificador, quando associado ao cimento Portland apresenta propriedades físicas e químicas comparáveis ao óxido de zircônio. O tungstato de cálcio apresenta uma radiopacidade que atende aos requisitos da norma ISO. DUARTE, *et al.*, (2012a) encontraram uma radiopacidade equivalente a 3,11 mm Al. Esta substância, assim como o óxido de zircônio, está também presente na composição do cimento AH Plus, conhecido por apresentar uma radiopacidade elevada (LEYHAUSEN, *et al.*, 1999; MARCIANO, *et al.*, 2011).

A adição do tungstato de cálcio no cimento Portland resulta em um pH inicial alcalino, em torno de 8, diminuindo com o decorrer do tempo, sendo que em períodos de 168 horas apresenta um pH abaixo de 7 (DUARTE, *et al.*, 2012a). Por outro lado, em relação à liberação de íons cálcio, esse radiopacificador apresenta maior liberação em comparação com o MTA e o cimento Portland contendo os radiopacificadores óxido de bismuto e óxido de zircônio. A presença de cálcio na composição deste radiopacificador contribui para a liberação desse íon (DUARTE, *et al.*, 2012a).

Em relação ao tempo de presa, a adição do tungstato de cálcio ao cimento Portland aumenta significativamente o tempo de presa em comparação com o cimento Portland sem radiopacificador. Entretanto, não foram verificadas diferenças estatísticas entre a associação do tungstato de cálcio e óxido de bismuto ao Portland (DUARTE, *et al.*, 2012a). Assim como verificado para o óxido de zircônio, o

tungstato de cálcio não afeta a solubilidade do cimento Portland (DUARTE, *et al.*, 2012a). Além disso, GOMES CORNÉLIO, *et al.*, (2011) não verificaram citotoxicidade para o tungstato de cálcio, sugerindo que esses agentes podem ser boas alternativas para serem empregados com o cimento Portland.

3 PROPOSIÇÃO

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo do estudo foi avaliar um cimento experimental à base de silicato de cálcio contendo diferentes proporções dos radiopacificadores óxido de zircônio e tungstato de cálcio em relação às propriedades físicas, químicas e biológicas:

- Caracterização química dos cimentos hidratados e não hidratados;
 - Radiopacidade;
 - Tempo de presa;
 - Espessura de filme;
 - Escoamento;
 - Solubilidade;
 - pH;
 - Liberação de íons cálcio;
 - Descoloração dentária;
 - Biocompatibilidade.
-

4 MATERIAL E MÉTODOS

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Preparo dos cimentos

Os materiais utilizados nos testes foram o MTA-Angelus branco (MTA, Angelus, Londrina, Paraná, Brasil), cimento à base de silicato de cálcio (Portland - PC, Irajazinho, Cimentos Rio Branco AS, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil), óxido de zircônio (OZ, Sigma-Aldrich Brasil Ltda, São Paulo, São Paulo, Brasil) e tungstato de cálcio (TC, Sigma-Aldrich Brasil Ltda, São Paulo, São Paulo, Brasil). Os materiais foram divididos em 6 (seis) grupos de acordo com a composição do pó e do líquido (Tabela 1).

Tabela 1 – Composição dos cimentos avaliados.

Grupo	Pó	Líquido
1.	100% MTA-Angelus branco (controle)	100% água destilada
2.	100% Portland branco	80% água destilada 20% propilenoglicol
3.	80% Portland branco 20% óxido de zircônio	80% água destilada 20% propilenoglicol
4.	50% Portland branco 50% óxido de zircônio	80% água destilada 20% propilenoglicol
5.	80% Portland branco 20% tungstato de cálcio	80% água destilada 20% propilenoglicol
6.	50% Portland branco 50% tungstato de cálcio	80% água destilada 20% propilenoglicol

Para o preparo de cada variável de pó dos cimentos experimentais, foi realizada a pesagem do cimento Portland e dos radiopacificadores, separadamente, em balança analítica eletrônica (Gehaka AND-GR-202, Tóquio, Japão), com precisão de até milésimos de grama, seguindo as proporções de cada grupo (20 e 50% de radiopacificadores). Para o preparo do líquido, o proporcionamento foi realizado em volume (80% de água destilada e 20% de propilenoglicol), com auxílio de uma pipeta. A manipulação dos cimentos experimentais foi feita seguindo a proporção de 0,3 mL de líquido para 1 grama de pó. O controle MTA-Angelus foi manipulado de acordo com as especificações do fabricante.

4.2 Caracterização dos materiais

A caracterização dos materiais foi realizada na Universidade de Malta, Msida - Malta. A análise foi realizada para os cimentos não hidratados (pó) e após a hidratação, em microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia de energia dispersiva (EDS) e difratometria de raios-X (XRD).

Microscopia e análise dos elementos

Para a caracterização dos cimentos na forma não hidratada (pó), inicialmente os pós foram inseridos em moldes e incluídos em resina epóxi (EpoxyFix, Struers GmbH, Ballerup, Dinamarca) (Figura 1A).

Para a análise dos cimentos na forma hidratada, foram utilizados anéis de 10 mm de diâmetro e 2 mm de espessura para a confecção de amostras cilíndricas. Os cimentos foram inseridos no interior dos anéis e mantidos em estufa a 37°C e 100% de umidade. Após 24 horas, as amostras foram removidas dos anéis e imersas, separadamente, em frascos contendo 10 mL de solução salina balanceada de Hanks (HBSS; H6648, Sigma–Aldrich, St. Louis, MO, EUA). As amostras foram mantidas em estufa a 37°C por 28 dias. Após o período, as amostras foram removidas da solução e imersas em álcool por 6 horas e colocadas em um dissecador à vácuo por 24 horas. As amostras foram, então, incluídas em resina epóxi (EpoxyFix, Struers).

As amostras em resina dos cimentos na forma não hidratada e hidratada foram removidas dos moldes e, em seguida, polidas utilizando uma série de discos de polimento (Tegramin 20, Struers GmbH, Ballerup, Dinamarca), com o objetivo de reduzir a abrasividade da superfície (Figura 1B). As amostras polidas foram adaptadas em stubs de alumínio, revestidas por carbono e analisadas em microscopia eletrônica de varredura (MEV; Zeiss MERLIN Field Emission SEM, Carl Zeiss NTS GmbH, Oberkochen, Alemanha). Foram capturadas imagens dos diferentes componentes microestruturais em diferentes magnificações e o modo EDS foi realizado para identificar os elementos químicos presentes.

Difratometria de raios-X (XRD)

Os pós dos cimentos não hidratados foram inseridos em um suporte de amostras e compactados (Figura 2A). Amostras cilíndricas dos cimentos hidratados foram estocadas em solução salina balanceada de Hanks (HBSS; H6648, Sigma–Aldrich, St. Louis, MO, EUA) por 28 dias. Após o período as amostras foram desidratadas em dissecador à vácuo e fragmentadas em gral e pistilo até se obter um pó fino. A análise de fase foi realizada utilizando um difratômetro de raios-X (XRD, Rigaku, Tokyo, Japan) operando com radiação Cu K α à 40 mA, 45 kV, rotação do detector entre 15-45°, largura de amostragem de 0,05° e velocidade de escaneamento de 1°/min a 15 revs/min, utilizando o método de Bragg Brentano (Figura 2B). A identificação de fase foi realizada em software utilizando a base de dados ICDD (International Centre for Diffraction Data, Newtown Square, PA, EUA).

Análise descritiva

Os dados da caracterização dos materiais na forma não hidratada e hidratada, bem como os elementos químicos presentes, foram descritos.

Figura 1 – (A) Inclusão dos cimentos em resina epóxi para análise em microscopia eletrônica de varredura e espectroscopia de energia dispersiva. (B) Polimento das amostras. (C) Amostra polida preparada para análise microscópica.

Figura 2 – (A) Microscópio eletrônico de varredura, juntamente com modo de EDS acoplado. (B) Difratorômetro de raios-X (XRD). Equipamentos pertencentes à Universidade de Malta, Msida – Malta.

4.3 Radiopacidade

Para o teste da radiopacidade, foram utilizados anéis metálicos com 10 mm de diâmetro e 1 mm de espessura (Figura 3A). Foram confeccionados três corpos de prova para cada material. Os cimentos recém espatulados foram inseridos nos anéis sobre uma placa de vidro revestida com filme plástico. Outra placa foi colocada sobre os anéis comprimindo-os para planificar as superfícies dos corpos de prova. O conjunto foi mantido em estufa a 37°C e 100% de umidade. Após a presa dos cimentos, as placas foram removidas e as espessuras dos corpos de prova conferidas com paquímetro. Os corpos de prova foram lixados com lixa d'água de granulação 600 para planificação da superfície (Figura 3B), sendo em seguida lavados com água destilada para remoção de resíduos. Os espécimes foram dispostos sobre filme oclusal insight (Kodak Insight Speed E, Eastman Kodak Company, Rochester, EUA), sendo esta disposição anotada. Juntamente com os corpos de prova, uma escala de alumínio (penetrômetro de alumínio) foi disposta sobre o filme para permitir a análise da densidade radiográfica. Essa escala era composta por 8 passos de alumínio, com comprimento total de 16 mm e variações de espessura de 2 mm (Figura 3C). Os filmes foram sensibilizados utilizando-se aparelho de raios X (Spectro 70X Eletronic, Dabi Atlante, Ribeirão Preto, Brasil), com 70 kV, 10 mA, tempo de exposição de 0,2 segundos e distância foco/filme de 40 cm (Figura 3D, E).

As radiografias foram processadas manualmente em solução reveladora e fixadora (Kodak do Brasil, São José dos Campos, São Paulo, Brasil), pelo método tempo/temperatura, em câmara escura portátil. As radiografias processadas foram digitalizadas com auxílio de câmera digital (Nikon D40, Tóquio, Japão). As imagens foram, então, analisadas no programa Digora 1.51 (Soredex, Tuusula, Finlândia) para determinação da densidade radiográfica. As leituras foram feitas por um operador que não tinha conhecimento da disposição dos materiais no filme. A densidade radiográfica da escala de alumínio foi determinada para cada radiografia, calibrando-se assim as leituras. Foram feitas leituras da densidade radiográfica em 3 pontos de cada corpo de prova, sendo os valores convertidos em milímetros de alumínio (mm Al) por meio de uma fórmula e escala referente a valores da escala de alumínio calibrada para cada filme, de acordo com DUARTE, *et al.*, (2009):

$$\text{DRM} - \text{DRPAA} \times 2 \quad + \text{passo de mmAl abaixo do valor} = \text{radiopacidade em mmAl} \\ \text{DRPAS} - \text{DRPAA}$$

DRM – Densidade radiográfica do material

DRPAA – Densidade radiográfica do passo de alumínio abaixo

DRPAS – Densidade radiográfica do passo de alumínio superior

Análise estatística

Os resultados foram submetidos ao teste de normalidade de D'Agostino & Pearson. Para a análise estatística da radiopacidade, foram utilizados os testes paramétricos de ANOVA e Tukey, com nível de significância de 5%.

Figura 3 – Teste de radiopacidade. (A) Anel metálico utilizado no teste. (B) Anel preenchido com cimento lixado manualmente com lixa d’água. (C) Escala de alumínio. (D, E) Amostras de cimento posicionadas em filme oclusal juntamente com a escala de alumínio, radiografadas à uma distância de 30 cm.

4.4 Tempo de presa

Para a determinação do tempo de presa dos cimentos, o preparo das amostras foi realizado seguindo as especificações nº 57 da ANSI/ADA, enquanto a determinação do tempo de presa foi feita seguindo a norma ASTM C266/2008. Os cimentos espatulados foram imediatamente vertidos em anéis metálicos de 10 mm de diâmetro interno e 2 mm de espessura. Foram utilizados 3 corpos de prova para cada cimento. Os corpos de prova foram mantidos em estufa a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ de temperatura e $95\% \pm 5\%$ de umidade durante a realização do teste. Após 180 segundos do início da espatulação, os espécimes foram submetidos à marcação com pressão vertical utilizando-se agulhas de Gilmore (Figura 4A). Para a determinação do tempo de presa inicial foi utilizada a agulha de 113,4g, posteriormente, a agulha de 453,6g para a análise da presa final (Figura 4B, C). Foram anotados os tempos, em minutos, decorridos desde o início da espatulação até o momento em que não foi possível a visualização de marcação de cada agulha na superfície das amostras, representando a presa inicial e final dos cimentos.

Análise estatística

Os resultados foram submetidos ao teste de normalidade de D'Agostino & Pearson. Para a análise estatística do tempo de presa inicial e final, foram utilizados os testes paramétricos de ANOVA e Tukey, com nível de significância de 5%.

Figura 4 – (A) Agulhas de Gilmore utilizadas no teste de tempo de presa. O tempo de presa inicial mensurado com agulha de Gilmore com peso menor (B), enquanto o tempo de presa final mensurado com agulha de Gilmore com peso maior (C).

4.5 Espessura de filme

A análise da espessura de filme foi feita seguindo a norma nº 57 da ANSI/ADA. Foram utilizadas 2 placas de vidro com espessura de aproximadamente 5 mm cada. A espessura das duas placas sobrepostas foi conferida com auxílio de paquímetro digital (Mitutoyo MTI Corporation). Um volume total de 0,5 mL de cimento foi espatulado e colocado no centro de uma das placas de vidro, com auxílio de seringa plástica de 5 mL e, outra placa de vidro foi posicionada centralmente sobre a anterior (Figura 5A, B). Após 3 minutos do início da espatulação, um peso correspondente a 150 N foi adaptado verticalmente sobre o conjunto de placas (Figura 5C, D). Após 7 minutos, o peso foi removido e a espessura das duas placas com o cimento interposto foi mensurada com paquímetro digital (Mitutoyo MTI Corporation) (Figura 5E). A espessura de filme foi estabelecida como a diferença de espessura entre as duas placas com e sem o cimento interposto. O teste foi repetido 3 vezes para cada cimento.

Análise estatística

Os resultados foram submetidos ao teste de normalidade de D'Agostino & Pearson. Para a análise estatística da espessura de filme, foram utilizados os testes paramétricos de ANOVA e Tukey, com nível de significância de 5%.

Figura 5 – Teste de espessura de filme. (A) Porção determinada de cimento colocada no centro de uma placa de vidro. (B) Adaptação de uma segunda placa de vidro sobre a primeira. (C, D) Colocação de um peso de 150 N sobre as placas. (E) Mensuração da espessura das duas placas com o cimento interposto, com auxílio de paquímetro digital, para o cálculo da espessura de filme.

4.6 Consistência (escoamento)

O teste de escoamento foi realizado de acordo com a especificação nº 57 da ANSI/ADA. Um volume total de 0,5 mL de cimento foi espatulado e colocado no centro de uma placa de vidro, com o auxílio de uma seringa plástica de 5 mL. Após 3 minutos do início da espatulação, outra placa de vidro de massa 20 ± 2 g foi adaptada sobre a placa contendo o cimento e sobre ambas um peso correspondente a 100 g (Figura 6A-D). Após 10 minutos do início da espatulação, o peso foi removido e o diâmetro maior e menor do cimento interposto entre as placas foram mensurados com auxílio de um paquímetro digital (Mitutoyo MTI Corporation, Tokyo, Japan) (Figura 6E). A média dos dois diâmetros foi considerada como o escoamento do cimento. Foram feitas 3 repetições para cada variável de cimento.

Análise estatística

Os resultados foram submetidos ao teste de normalidade de D'Agostino & Pearson. Para a análise estatística da consistência (escoamento), foram utilizados os testes paramétricos de ANOVA e Tukey, com nível de significância de 5%.

Figura 6 – Teste de escoamento. (A) Um volume de 0,5 mL de cimento foi utilizado para a realização do teste. (B) Porção determinada de cimento colocada no centro de uma placa de vidro. (C) Adaptação de uma segunda placa de vidro sobre a primeira. (D) Peso adaptado de 100g adaptado sobre as placas. (E) Cimento interposto para a mensuração do diâmetro menor e maior da película de cimento formada entre as placas.

4.7 Solubilidade

O teste de solubilidade foi conduzido seguindo a norma nº 57 da ANSI/ADA. Para a determinação da solubilidade, foram confeccionados corpos de prova com anéis de teflon com 20 mm de diâmetro e 1,5 mm de altura (Figura 7A). Foram confeccionados 3 corpos de prova para cada cimento. Os cimentos espatulados foram imediatamente inseridos nos anéis. Para o correto preenchimento, os anéis foram colocados sobre uma placa de vidro recoberta por papel celofane e, depois de preenchidos, outra placa também recoberta com o papel celofane foi colocada sobre os anéis. O conjunto foi mantido em estufa a 37°C durante a presa do material. Após a presa dos materiais, as amostras tiveram sua espessura checada com auxílio de paquímetro digital (Mitutoyo Corp, Tóquio, Japão). As amostras com falhas foram excluídas e refeitas. Em seguida, os corpos de prova foram pesados em balança analítica eletrônica (Gehaka AND-GR-202, Tóquio, Japão), com precisão de até milésimos de grama (Figura 7B). Em um orifício presente na lateral dos anéis foi inserido um fio de nylon. Os espécimes foram mantidos em frascos tampados, contendo 50 mL de água ultra-pura, por um período de 24 horas, tendo-se o cuidado de manter durante todo o experimento os espécimes suspensos, sem tocar as paredes do recipiente (Figura 7C). Após o período experimental, os espécimes foram removidos dos frascos, lavados com água destilada, secos em papel filtro e levados a um desumidificador por 24 horas e, então, novamente pesados. O valor da solubilidade foi determinado por meio do cálculo da quantidade de cimento, em peso, que foi perdida durante o período de imersão, isto é, pela diferença de peso do corpo de prova antes e após a imersão em água.

Análise estatística

Os resultados foram submetidos ao teste de normalidade de D'Agostino & Pearson. Para a análise estatística da solubilidade, foram utilizados os testes paramétricos de ANOVA e Tukey, com nível de significância de 5%.

Figura 7 – Teste de solubilidade. (A) Anel de teflon preenchido com cimento. (B) Balança de precisão utilizada para pesagem das amostras. (C) Espécime imerso em água ultra-pura para análise da solubilidade do material.

4.8 Determinação do pH e da liberação de íons cálcio

Para a determinação do pH das variáveis de cimento foram utilizados 60 dentes de acrílico. Os dentes tiveram sua porção apical seccionada a 2 mm do ápice. Foram confeccionadas cavidades retrógradas com broca esférica de aço com 3 mm de profundidade (Figura 8A, B). Em seguida, as cavidades foram preenchidas com os cimentos com o auxílio de calcadores do tipo Paiva. Foram confeccionados 10 espécimes para cada cimento. Após o preenchimento, os espécimes foram imediatamente imersos em frascos de vidro contendo 10 mL de água ultra-pura. Os frascos foram vedados e levados à estufa a 37°C onde permaneceram durante o período experimental. Para evitar qualquer interferência nos resultados, toda a vidraria empregada no teste foi previamente tratada com ácido nítrico 0,1 mol e posteriormente lavada com água ultra-pura. As avaliações foram realizadas após os períodos de 3, 24, 72 e 168 horas de imersão. Após cada período, os espécimes foram retirados dos frascos e imersos em novos frascos contendo o mesmo volume (10 mL) de água ultra-pura. A determinação do pH foi realizada por meio de um

pHmetro previamente calibrado com soluções de pH conhecidos (4, 7 e 14). Para a aferição, inicialmente foi realizada a remoção do espécime do frasco e, então, o vidro foi levado a um agitador por 5 segundos. Após agitação, o líquido foi colocado em contato com o eletrodo do pHmetro (Figura 8C). A aferição foi realizada em sala com temperatura controlada de 25°C.

A leitura da liberação de íons cálcio foi efetuada nos mesmos períodos de leitura do pH, utilizando um espectrofotômetro de absorção atômica equipado com uma lâmpada de cátodo oco específica para o cálcio (Figura 8D). Para prevenir possíveis interferências de metais alcalinos, foi preparada uma solução de lantânio, diluindo-se 9,8 g de cloreto de lantânio em 250 mL de solução ácida. Uma solução estoque de cálcio foi preparada diluindo-se 2,4972 g de carbonato de cálcio em 50 mL de água ultra-pura. A essa solução foi adicionada, gota a gota, 10 mL de ácido clorídrico concentrado. Posteriormente foi diluído em 1000 mL de água MiliQ. Após o preparo, 1 mL desta solução correspondeu a 1 mg de cálcio. Com esta solução, foram preparadas as soluções padrão de cálcio, sendo elas: 20 mg/L, 10 mg/L, 5 mg/L, 2,5 mg/L, 1,25 mg/L. Na leitura, os 8 mL dos padrões ou da água das amostras foram associadas a 2 mL da solução de cloreto de lantânio. Para o branco, 8 mL de água MiliQ foram associados a mesma quantidade (2 mL) de solução de cloreto de lantânio. Com os padrões, o branco e as amostras preparadas, foi efetuada a leitura no espectrofotômetro de absorção atômica. Para levar o aparelho a zero de absorbância, foi empregada a solução de ácido nítrico. Os cálculos da liberação de íons cálcio foram efetuados por meio da equação da reta da curva padrão.

Análise estatística

Os resultados foram submetidos ao teste de normalidade de D'Agostino & Pearson. A análise estatística dos testes de pH e liberação de íons cálcio foi realizada utilizando os testes não paramétricos de Kruskal-Wallis e Dunn, com nível de significância de 5%, para a comparação entre os materiais em um mesmo período. Para a comparação entre um mesmo material em relação ao tempo foram utilizados os testes não paramétricos de Friedman e Dunn, com nível de significância de 5%.

Figura 8 – Testes de pH e liberação de íons cálcio. (A, B) Dente de acrílico com a porção apical seccionada, sendo confeccionada uma cavidades retrógradas com 3 mm de profundidade. (C,D) pHmetro e espectrofotômetro de absorção atômica para análise do pH e liberação de íons cálcio, respectivamente.

4.9 Análise da descoloração dentária

Preparo das amostras

Para a análise da alteração de cor dos cimentos foram utilizados 18 dentes bovinos (n=3). O preparo das amostras foi realizado utilizando uma modificação da metodologia proposta por LENHERR, *et al.*, (2012). Os dentes foram limpos e seccionados transversalmente com um disco diamantado (Isomet, Buehler, Lake Bluff, Illinois, EUA) para remover as raízes. Em seguida, as coroas foram seccionadas de modo a obter blocos de 10 × 10 mm (Figura 9A). A espessura de cada bloco foi standardizada em $3,5 \pm 0,1$ mm, checado com um espessímetro (Golgran, São Caetano do Sul, SP, Brasil). Uma cavidade com diâmetro correspondente a 5,0 mm e 1,5 mm de profundidade foi feita com broca diamantada 4054 (Medical Burs Sorensen, São Paulo, SP, Brasil) no centro da porção lingual de cada espécime (Figura 9B-D). Os espécimes foram imersos em água destilada por 24 horas e, em seguida secos com papel filtro. As cavidades foram preenchidas com os cimentos e as amostras imersas em solução salina balanceada de Hanks por 28 dias (HBSS; H6648, Sigma–Aldrich, St. Louis, MO, EUA).

Figura 9 – Teste de alteração de cor. (A) Amostra de dente bovino seccionado em bloco de 10x10 mm. (B, C) Cavidade de 5 mm de diâmetro e 1,5 mm de profundidade confeccionada na porção lingual de amostra, utilizando uma broca diamantada 4054. (D) A espessura de dentina e esmalte no centro das cavidades foi checada com o auxílio de um espessímetro.

Análise da alteração de cor em espectrofotômetro

A análise da cor foi realizada imediatamente após o preparo e após 28 dias de imersão em solução salina balanceada de Hanks (HBSS; H6648, Sigma–Aldrich, St. Louis, MO, EUA). Para a mensuração foi utilizado um espectrofotômetro (Vita Easyshade, VITA Zahnfabrik, Bad Sackingen, Alemanha). Os valores de CIE (INTERNATIONAL COMMISSION ON ILLUMINATION, 1978), L, a e b foram anotados e a alteração de cor (ΔE), em relação ao intervalo entre 24 horas (0) e 28 dias (1), foi calculado utilizando a seguinte fórmula:

$$\Delta E = [(L_1 - L_0)^2 + (a_1 - a_0)^2 + (b_1 - b_0)^2]^{1/2}$$

Em que “L” representa os valores de luminosidade da cor, “a” corresponde à mensuração ao longo do eixo vermelho-verde e “b” é a mensuração ao longo do eixo amarelo-azul.

Análise estatística

Os resultados foram submetidos ao teste de normalidade de D'Agostino & Pearson. Os valores do Delta (ΔE) foram comparados entre os grupos empregando os testes de ANOVA para a comparação global e Tukey para os confrontos individuais, adotando um nível de significância de 5%.

Análise da interação química entre componente presente na dentina e os radiopacificadores

O principal componente orgânico da dentina (colágeno) foi testado em contato com os radiopacificadores presentes no MTA e nos cimentos experimentais para verificar a alteração de cor. As amostras foram preparadas dissolvendo 1 g de colágeno (Sigma-Aldrich Brasil Ltda, São Paulo, São Paulo, Brasil) em frascos contendo 1 mL de água destilada. Em seguida, 1 g dos radiopacificadores óxido de bismuto, óxido de zircônio e tungstato de cálcio foram adicionados aos frascos. As amostras foram mantidas em estufa a 37°C por 72 horas. Após o período, as amostras foram fotografadas e a cor dos componentes comparada.

Análise em estereomicroscópio de amostras representativas seccionadas

Amostras representativas de dentes bovinos preenchidos com os materiais foram selecionadas e seccionadas no centro utilizando um disco diamantado (Isomet, Buehler, Lake Bluff, Illinois, EUA). Foram feitas imagens da interface entre cimento e dentina utilizando um estereomicroscópio (Stemi 2000C, Carl Zeiss, Jena, Alemanha) e o software Axiovision (Carl Zeiss, Jena, Alemanha). A alteração de cor dos materiais foi analisada visualmente.

Análise das amostras seccionadas em microscopia eletrônica de varredura e mapeamento dos elementos em EDS

Após a imersão em solução salina balanceada de Hanks (HBSS; H6648, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) por 28 dias, os espécimes foram removidos da

solução, imersos em álcool, secos em dissecador à vácuo e incluídos em resina epóxi (EpoxyFix, Struers, Ballerup, Dinamarca). As amostras foram, então, seccionadas longitudinalmente e polidas com uma sequência de discos diamantados e solução abrasiva (Tegramin 20, Struers, Ballerup, Dinamarca).

Os espécimes foram montados em stubs de alumínio, revestidas por carbono e analisadas em microscopia eletrônica de varredura (MEV; Zeiss MERLIN Field Emission SEM, Carl Zeiss NTS GmbH, Oberkochen, Alemanha). Foram capturadas micrografias da interface entre dentina e cimento, em diferentes magnificações e realizado um mapeamento dos elementos químicos cálcio, silício, fósforo, e os radiopacificadores (bismuto, tungstênio e zircônio), em EDS.

Análise descritiva

Os dados da análise da interação química entre os radiopacificadores e o colágeno, estereomicroscopia das amostras seccionadas e análise em MEV e EDS foram descritas.

4.10 Biocompatibilidade

Para análise da biocompatibilidade foi utilizado o teste de implantação de tubos de polietileno preenchidos com os cimentos em tecido subcutâneo de ratos. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Animais da Faculdade de Odontologia de Bauru, Processo nº 020/2011 (Anexo A). Foram utilizados 72 ratos machos (*Rattus norvegicus*, *albinus*, Wistar) com peso de aproximadamente 300 g. Os animais foram obtidos junto ao Biotério da Faculdade de Odontologia de Bauru – Universidade de São Paulo. Os animais foram mantidos em gaiolas plásticas coletivas higienizadas durante todo o período experimental, com aproximadamente 5 (cinco) animais por gaiola, mantidos em temperatura ambiente e alimentados com ração sólida comercial balanceada e água *ad libitum*. Os animais foram divididos em 6 grupos para cada cimento a ser implantado, sendo 12 animais para cada grupo. Os animais foram subdivididos em períodos de 15, 30 e 60 dias, sendo 4 animais para cada período por grupo (Tabela 2).

Tabela 2 – Distribuição dos animais em relação aos grupos e períodos experimentais.

Grupo	Material	Nº total de animais	Nº de animais 15 dias	Nº de animais 30 dias	Nº de animais 60 dias
1.	MTA-Angelus branco	12	4	4	4
2.	Portland branco	12	4	4	4
3.	Portland branco + 20% de óxido de zircônio	12	4	4	4
4.	Portland branco + 50% de óxido de zircônio	12	4	4	4
5.	Portland branco + 20% de tungstato de cálcio	12	4	4	4
6.	Portland branco + 50% de tungstato de cálcio	12	4	4	4

Para a implantação dos cimentos no tecido subcutâneo foram utilizados 144 tubos de polietileno com 1,5 mm de diâmetro interno, 2,0 mm de diâmetro total e 10,0 mm de comprimento (Vesimed, Londrina, Paraná, Brasil). Os tubos foram previamente esterilizados com óxido de etileno. Os cimentos foram manipulados durante o procedimento cirúrgico e inseridos no interior dos tubos antes da implantação no tecido. Cada animal recebeu dois implantes contendo o mesmo material.

Para a realização dos procedimentos cirúrgicos, os animais foram anestesiados com a associação da solução anestésica de cloridrato de Ketamina (Dopalen, Ceva Saúde Animal Ltda, Paulínia, São Paulo, Brasil) e a solução sedativa e relaxante muscular de cloridrato de xilasina (Anasedan, Ceva Saúde Animal Ltda, Paulínia, São Paulo, Brasil), injetadas por via intramuscular na face posterior da coxa, na dosagem de 0,05 mL/100 g de peso animal para cada substância citada (Figura 10A). Após a anestesia, foi realizada a tricotomia da região dorsal dos animais e anti-sepsia com álcool iodado a 1% (Figura 10B, C). Em

seguida, foi realizada uma incisão longitudinal na região mediana do dorso de cada animal, com uma lâmina de bisturi nº 15 (Figura 12A). O tecido cutâneo foi pinçado e uma pequena divulsão realizada com tesoura de ponta romba. Em seguida, cada tubo de polietileno, preenchido com o material em teste, foi colocado dentro da ponta de um trocar, adaptado para esta finalidade (Figura 11A-C). Cuidadosamente os implantes foram depositados distantes da incisão, para evitar a sua expulsão durante a mobilidade do animal (Figura 12B). As bordas das incisões foram suturadas com fio de seda 4.0 (Figura 12C). Os ratos foram identificados com marcações nas orelhas, utilizando perfurador de dique de borracha Ainsworth (Golgran Indústria e Comércio de Instrumental Odontológico, São Paulo, SP, Brasil).

Figura 10 – Etapas cirúrgicas realizadas no teste de biocompatibilidade. (A) Anestesia na região posterior da coxa do animal. (B, C) Após tricotomia da região dorsal, foi realizada a antisepsia.

Figura 11 – (A) Preenchimento de tubo de polietileno com cimento com auxílio de calcador. (B) Tubo de polietileno preenchido com cimento. (C) Os tubos de polietileno foram levados ao tecido subcutâneo com auxílio de trocar.

Figura 12 – Procedimentos cirúrgicos. (A) Incisão. (B) Inserção do tubo preenchido com cimento no tecido subcutâneo com auxílio de trocarte. (C) Sutura.

Após os períodos experimentais de 15, 30 e 60 dias, os animais foram mortos em câmara de gás carbônico (CO_2) e, em seguida, depilados na região dorsal (Figura 13A). Os tubos foram localizados por palpação, e a área do implante incisada e dissecada, abrangendo suficiente tecido normal circunjacente (Figura 13B). Os segmentos de tecido contendo os implantes foram imersos, para fixação, em solução de formol a 10% tamponado, em frascos unitários, com identificação do animal, material e período experimental. Os tecidos permaneceram por um período de 7 dias na solução de formol. Posteriormente, foram realizadas lavagens das amostras em água corrente por 24 horas. Em seguida, o tecido adjacente em excesso foi eliminado com auxílio de navalhas para micrótomo, deixando a amostra com um formato retangular e tecido circunjacente ao implante, suficiente para a realização da avaliação microscópica. As peças foram então imersas em álcool para desidratação. Após um período de 7 dias as peças foram incluídas em Histosec (parafina e resina sintética) e identificadas. Em seguida, os blocos foram submetidos à microtomia semi-seriada em micrótomo RM2265 (Leica, Wetzlar, Alemanha), executando cortes de 5 μm de espessura no sentido longitudinal da estrutura tecidual tubular (Figura 13C). Os cortes foram corados com Hematoxilina e Eosina.

Figura 13 – (A) Câmara de gás carbônico utilizada no sacrifício dos animais. (B) Após a morte dos animais, o tecido foi divulsionado para localização dos tubos. (C) Micrótomo para seccionamento das amostras.

A análise da reação do tecido subcutâneo foi feita por meio de exame microscópico do tecido neoformado nas extremidades do tubo implantado, em contato com os cimentos (Figura 14A-D). Essa análise foi feita de maneira descritiva e morfométrica com o auxílio de um fotomicroscópio óptico (Aristoplan Leitz, Alemanha) com objetiva de aumento 40× e 100×. A análise descritiva foi realizada em aumento de 40×, considerando os fenômenos microscópicos vinculados à reação tecidual frente ao material testado. Para a análise quantitativa, foi feita aquisição das imagens dos campos microscópicos por meio de Software Leica Application Suite 4.1 (Leica, Wetzlar, Alemanha) em aumento de 100×. A contagem das células foi realizada utilizando o Software Image J 1.47v (National Institutes of Health, Estados Unidos) (Figura 15). Foram contabilizadas as células inflamatórias presentes em 6 diferentes campos microscópicos por espécime. A análise foi realizada por um mesmo avaliador treinado para a identificação dos tipos celulares.

Figura 14 – (A) Corte histológico correspondente à área de neoformação tecidual ao redor do tubo de polietileno contendo o cimento implantado. (B) Extremidade do tubo em com área para análise em destaque. (C) Área destacada em (B) em aumento de 40×. A mesma área é visualizada em aumento de 100× em (D). Em (C) e (D) é possível observar a presença marcante de uma célula gigante multinucleada e diversos macrófagos.

Figura 15 – Imagem representativa da análise quantitativa. As células inflamatórias foram demarcadas e contabilizadas com auxílio do software Image J 1.47v.

Análise estatística

Os resultados foram submetidos ao teste de normalidade de D'Agostino & Pearson. A análise estatística foi realizada utilizando os testes paramétricos de ANOVA e Tukey na comparação entre os materiais em cada período analisado e na comparação entre um mesmo material em relação ao tempo. O nível de significância adotado foi de 5%.

5 RESULTADOS

5 RESULTADOS

5.1 Caracterização dos materiais

Cimentos não hidratados

As micrografias em microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia de energia dispersiva (EDS) e difratometria de raios-X (XRD) dos cimentos não hidratados e radiopacificadores estão representadas na Figura 16 e 17. O MTA-Angelus estava composto por partículas ricas em cálcio e silício, com traços de alumínio. Partículas alongadas compostas por óxido de bismuto foram identificadas juntamente com as partículas do cimento. O cimento Portland era composto apenas por partículas de cimento, com dimensões variáveis, sendo maiores que as partículas do MTA-Angelus. O óxido de zircônio apresentava partículas grandes com pequenas partículas aderidas à sua superfície. O tungstato de cálcio exibiu partículas globulares, uniformes com dimensão de aproximadamente 10 μm , em contraposição com o óxido de zircônio que apresentou partículas com aproximadamente 30 μm . Os radiopacificadores exibiram, também, outros elementos detectados no EDS.

A análise em XRD mostrou que o MTA-Angelus exibiu picos para o silicato tricálcio (ICDD: 04-012-3692) e óxido de bismuto (ICDD: 01-070-8244). O cimento Portland apresentou composição básica de silicato tricálcio (ICDD: 01-086-0422) e silicato dicálcio (ICDD: 01-077-0420). Os radiopacificadores exibiram picos para óxido de zircônio e tungstato de cálcio (ICDD: 04-013-4343 e ICDD: 01-075-9478, respectivamente). Outras fases cristalinas não foram detectadas.

Figura 16 – Micrografias dos materiais não hidratados e respectivas análises químicas em EDS.

Figura 17 – Análise em XRD dos cimentos não hidratados.

Caracterização dos cimentos hidratados

As imagens do escaneamento em microscopia eletrônica de varredura (MEV) e difratometria de raios-X (XRD) dos cimentos hidratados estão representados na Figura 18 e 19, respectivamente. O MTA-Angelus apresentou-se composto principalmente por produtos da hidratação com partículas de óxido de bismuto interpostas na matriz do cimento. O cimento Portland exibiu nítidos halos de hidratação ao redor das partículas de cimento e produtos da hidratação na matriz do cimento. A hidratação do silicato tricálcio foi evidente na difratometria de raios-X (Figura 18). Os picos de silicato tricálcio foram menores para todos os cimentos testados em comparação com os picos do silicato tricálcio no material não hidratado (Figura 19). A fase cristalina do silicato tricálcio reage para formar uma fase amorfa de hidrato de silicato de cálcio. Os picos de cimento Portland mostrando a presença de hidróxido de cálcio, resultado da hidratação dos cimentos, foram evidentes para o MTA-Angelus e todos os cimentos à base de silicato de cálcio testados. O MTA-Angelus apresentou a menor intensidade. Os cimentos contendo variáveis

quantidades de radiopacificadores exibiram, também, produto da reação de hidratação. Quanto maior a proporção de radiopacificador, mais aparente estes componentes se apresentaram na matriz do cimento. Os cimentos contendo radiopacificadores apresentaram picos de Portland menores em comparação com o cimento Portland sem radiopacificadores (Figura 19). A proporção de 50% de radiopacificador resultou na redução na intensidade do pico de Portland devido à redução da quantidade de cimento na mistura.

Figura 18 – Micrografias dos cimentos após 28 dias de hidratação em microscopia eletrônica de varredura.

Figura 19 – Análise em XRD dos cimentos após 28 dias de hidratação.

5.2 Radiopacidade

A média, o desvio padrão e as diferenças estatísticas da radiopacidade dos cimentos avaliados, em milímetros de alumínio (mm Al) estão representados na Figura 20. O cimento CP/50% OZ apresentou a maior radiopacidade ($6,27 \pm 2,95$ mm Al), sendo que não houve diferença estatisticamente significativa apenas em relação ao MTA-Angelus e CP/50% TC ($p > 0,05$). Os cimentos contendo 20% de radiopacificadores, óxido de zircônio ou tungstato de cálcio apresentaram valores de radiopacidade abaixo do mínimo recomendado pela norma ANSI/ADA, que é de 3,0 mm Al. Com o aumento da proporção de radiopacificadores para 50% do total, houve consequentemente um aumento da radiopacidade. Na comparação entre os cimentos com 20% e 50% do mesmo radiopacificador, observou-se uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

Figura 20 – Representação gráfica da média e desvio padrão da radiopacidade dos cimentos avaliados em milímetros de alumínio (mm Al). As diferentes letras nas colunas representam as diferenças estatísticas entre os materiais ($p < 0,05$). A linha pontilhada corresponde ao valor mínimo exigido pela norma nº 57 da ANSI/ADA, correspondente à 3 mm Al.

5.3 Tempo de presa

Os resultados do tempo de presa inicial e final dos cimentos avaliados, em minutos, estão representados nas Figuras 21 e 22, respectivamente. Em relação ao tempo de presa inicial, o cimento CP/50% TC apresentou a maior média ($266,7 \pm 2,51$ min). O MTA-Angelus ($35,7 \pm 0,57$ min) apresentou os menores valores, com diferença significativa em relação aos demais cimentos ($p < 0,05$). Todas as demais comparações apresentaram diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

Em relação ao tempo de presa final, o cimento CP/50% TC também apresentou a maior média ($421,7 \pm 4,16$ min), sendo estatisticamente significativa em relação aos demais cimentos avaliados ($p < 0,05$). O cimento MTA-Angelus apresentou estatisticamente menor média em relação aos demais cimentos ($68,3 \pm 1,52$ min) ($p < 0,05$). Todas as demais comparações apresentaram diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

Figura 21 – Representação gráfica da média e desvio padrão do tempo de presa inicial dos cimentos avaliados em minutos (min). As diferentes letras nas colunas representam as diferenças estatísticas entre os materiais ($p < 0,05$).

Figura 22 – Representação gráfica da média e desvio padrão do tempo de presa final dos cimentos avaliados em minutos (min). As diferentes letras nas colunas representam as diferenças estatísticas entre os materiais ($p < 0,05$).

5.4 Espessura de filme

A média, o desvio padrão e as diferenças estatísticas da espessura de filme dos cimentos avaliados, em milímetros, estão representados na Figura 23. O cimento Portland apresentou os maiores valores de espessura de filme ($142,3 \pm 27,79$ mm), com diferença estatisticamente significativa em relação aos demais cimentos ($p < 0,05$). Por outro lado os cimentos CP/20% OZ, CP/50% OZ e CP/50% TC apresentaram os valores mais baixos para a espessura de filme, com diferença estatística para os demais cimentos ($p < 0,05$). Os cimentos MTA-Angelus e CP/20% TC apresentaram valores intermediários, sem diferença significativa entre si ($p > 0,05$).

Figura 23 – Representação gráfica da média e desvio padrão da espessura de filme dos cimentos avaliados em milímetros (mm). As diferentes letras nas colunas representam as diferenças estatísticas entre os materiais ($p < 0,05$).

5.5 Consistência (escoamento)

A média, o desvio padrão e as diferenças estatísticas da análise da consistência dos cimentos avaliados, em milímetros, estão representados na Figura 24. O cimento MTA-Angelus apresentou o menor escoamento ($13,60 \pm 0,13$ mm),

seguido pelo cimento Portland ($14 \pm 0,49$ mm). Os cimentos experimentais apresentaram maior escoamento, sendo que o CP/50% TC apresentou os maiores valores ($30,4 \pm 3,17$), com diferença estatisticamente significativa em relação aos demais cimentos ($p < 0,05$).

Figura 24 – Representação gráfica da média e desvio padrão do escoamento dos cimentos avaliados em milímetros (mm). As diferentes letras nas colunas representam as diferenças estatísticas entre os materiais ($p < 0,05$).

5.6 Solubilidade

Os valores e diferenças estatísticas da solubilidade dos cimentos avaliados, em porcentagem, estão representados na Figura 25. Os cimentos apresentaram absorção de água após 24 horas. A maior absorção foi verificada para o MTA-Angelus, com diferença estatisticamente significativa em relação ao CP e ao CP/50%TC ($p < 0,05$).

Figura 25 – Representação gráfica da média e desvio padrão da solubilidade dos cimentos avaliados em porcentagem (%). As diferentes letras nas colunas representam as diferenças estatísticas entre os materiais ($p < 0,05$).

5.7 pH e liberação de íons cálcio

Os resultados dos testes de análise do pH estão representados na Tabela 3 e na Figura 26. O pico do pH ocorreu no período de 3 horas. Neste período, o CP/50% TC apresentou o maior pH (12,19), com diferença estatística para os demais cimentos, exceto CP/50% OZ, que também apresentou um pH elevado (11,75) ($p > 0,05$). No período de 24 horas, o MTA-Angelus mostrou o maior pH (10,44), não apresentando diferença estatística apenas em relação ao CP (9,54) ($p > 0,05$). Nos períodos de 72 e 168 horas, os cimentos apresentaram valores de pH próximos.

Tabela 3 - Média e desvio padrão do pH para os cimentos testados. As diferentes letras em cada coluna representam as diferenças estatísticas entre os cimentos em cada período ($p < 0,05$).

Material	3h	24h	72h	168h
MTA-Angelus	10,95 ^{ac} $\pm$ 0,48	10,44 ^a $\pm$ 0,24	8,95 ^a $\pm$ 0,11	9,15 ^a $\pm$ 0,20
CP	10,18 ^a $\pm$ 0,27	9,54 ^{ab} $\pm$ 0,16	8,77 ^a $\pm$ 0,19	9,06 ^a $\pm$ 0,09
CP/20% OZ	10,49 ^a $\pm$ 0,63	9,52 ^b $\pm$ 0,69	8,89 ^a $\pm$ 0,23	9,40 ^{ab} $\pm$ 0,44
CP/50% OZ	11,75 ^{bc} $\pm$ 0,29	9,43 ^b $\pm$ 0,11	8,75 ^a $\pm$ 0,08	9,84 ^b $\pm$ 0,13
CP/20% TC	11,20 ^a $\pm$ 0,53	9,41 ^b $\pm$ 0,28	8,78 ^a $\pm$ 0,24	9,88 ^b $\pm$ 0,19
CP/50% TC	12,19 ^b $\pm$ 0,30	9,29 ^b $\pm$ 0,08	8,84 ^a $\pm$ 0,12	9,81 ^b $\pm$ 0,08

Figura 26 – Representação gráfica da média do pH dos cimentos avaliados no decorrer dos períodos experimentais.

Na análise da alteração do pH em relação aos períodos para cada cimento testado, todos apresentaram diminuição do pH no decorrer dos períodos iniciais (3-72 horas). Essa redução no pH foi significativa para todos os materiais ($p < 0,05$). Todos os cimentos experimentais apresentaram um ligeiro aumento no pH no período final de 168 horas.

Os resultados dos testes de análise da liberação de íons cálcio em mg/L estão representados na Tabela 4 e na Figura 27. A maior liberação de íons cálcio ocorreu para todos os materiais no período de 3 horas. Nos períodos de 3, 24 e 72 horas, o MTA-Angelus apresentou a menor liberação de íons cálcio. Nos períodos de 3 e 24 horas, o cimento CP/20% TC apresentou a maior liberação de íons cálcio. No período de 72 horas, os cimentos apresentaram uma liberação de cálcio aproximada, não havendo diferença estatística ($p > 0,05$). No período de 168 horas, a liberação de cálcio para todos os cimentos variou de 5 a 6, sendo que houve diferença estatística apenas entre o MTA-Angelus e CP, MTA-Angelus e CP/20% OZ e entre CP e CP/50% TC ($p < 0,05$).

Tabela 4 - Média e desvio padrão da liberação de íons cálcio em mg/L para os cimentos testados. As diferentes letras em cada coluna representam as diferenças estatísticas entre os cimentos em cada período ($p < 0,05$).

Material	3h	24h	72h	168h
MTA-Angelus	7,19 ^a ± 1,60	5,00 ^a ± 1,28	4,33 ^a ± 0,86	6,70 ^a ± 1,02
CP	34,16 ^{bc} ± 16,19	8,83 ^b ± 5,01	4,44 ^a ± 0,80	5,38 ^b ± 2,18
CP/20% OZ	35,04 ^{bc} ± 19,68	8,78 ^{ab} ± 7,67	4,47 ^a ± 0,66	5,12 ^{bc} ± 0,48
CP/50% OZ	13,46 ^{ac} ± 5,87	5,98 ^{ab} ± 1,74	5,85 ^a ± 3,99	5,79 ^{ab} ± 1,05
CP/20% TC	48,37 ^b ± 32,19	9,85 ^{ab} ± 7,32	5,75 ^a ± 1,78	6,03 ^{ab} ± 1,63
CP/50% TC	25,33 ^{bc} ± 13,11	6,62 ^{ab} ± 1,90	5,27 ^a ± 1,16	6,47 ^{ac} ± 0,97

Na análise da liberação de íons cálcio em relação aos períodos para cada cimento testado, todos apresentaram diminuição significativa da liberação de cálcio do período de 3 horas para 24 horas ($p < 0,05$). Nos demais períodos houve uma estabilização ou ligeira redução, sem diferença estatística entre os períodos de 24 a 168 horas ($p > 0,05$). Um ligeiro aumento foi verificado para o MTA-Angelus, sendo significativo entre os períodos de 72 e 168 horas ($p < 0,05$).

Figura 27 – Representação gráfica da média da liberação de íons cálcio dos cimentos avaliados no decorrer dos períodos experimentais.

5.8 Descoloração dentária

5.8.1 Análise da cor dentária após contato com os cimentos

A média, o desvio padrão e as diferenças estatísticas da alteração de cor (ΔE) estão representados na Tabela 5. A análise dos valores de ΔE mostraram que todos os materiais apresentaram alteração de cor após os períodos avaliados. O cimento MTA-Angelus apresentou a maior alteração de cor, com diferença estatística em relação aos demais cimentos, exceto o CP ($p > 0,05$).

Tabela 5 - Média e desvio padrão da alteração de cor (ΔE) para os cimentos testados. As diferentes letras na coluna representam as diferenças estatísticas entre os cimentos ($p < 0,05$).

Grupo	ΔE
MTA-Angelus	$11.80^A \pm 1.57$
CP	$9.55^{AC} \pm 2.03$
CP/20% OZ	$0.94^B \pm 0.72$
CP/50% OZ	$1.22^B \pm 0.50$
CP/20% TC	$4.29^{CD} \pm 0.63$
CP/50% TC	$1.75^B \pm 0.49$

5.8.2 Análise da cor dos componentes presentes na dentina em contato com os radiopacificadores

Após contato entre o colágeno e os radiopacificadores foi possível notar que houve uma alteração de cor evidente na mistura entre o óxido de bismuto e o colágeno. As demais combinações não apresentaram alteração de cor (Figura 28).

Figura 28 – Análise da interação entre os radiopacificadores e o colágeno. É possível notar um precipitado de coloração negra com a interação entre o óxido de bismuto o colágeno. O mesmo não foi observado com a interação entre os demais radiopacificadores e o colágeno.

5.8.3 Análise em estereomicroscopia de amostras representativas seccionadas

A análise dos dentes preenchidos com os cimentos revelou um escurecimento visualmente notável pela superfície vestibular da amostra preenchida com o MTA-Angelus (Figura 29A). O seccionamento da amostra e análise em estereomicroscópio mostrou que houve um escurecimento acentuado para o MTA-Angelus, com maior concentração na interface entre o cimento e a dentina (Figura 29B). Para os cimentos CP e os contendo óxido de zircônio e tungstato de cálcio, o escurecimento não foi verificado (Figura 29C-F).

Figura 29 – Amostras representativas dos dentes bovinos preenchidos com MTA-Angelus, CP, CP/20% OZ e CP/20% TC analisadas em estereomicroscópio. Em (A), é possível verificar o manchamento dentário do dente selado com MTA-Angelus. O seccionamento da amostra revelou um escurecimento acentuado e concentrado próximo à interface entre o cimento e a dentina (B). Os demais materiais avaliados não apresentaram manchamento dentário (C-H).

5.8.4 Microscopia eletrônica de varredura e mapeamento em EDS

Os escaneamentos em microscopia eletrônica de varredura e o mapeamento dos elementos em EDS dos dentes bovinos preenchidos com os cimentos testados estão representados na Figura 30. O MTA-Angelus exibiu uma zona em que o cimento estava ausente na região em contato com a dentina. O cimento na interface não apresentou a microestrutura típica verificada nas áreas distantes à interface. Esta área apresentou ausência de cálcio.

Todos os radiopacificadores (bismuto, zircônio e tungstênio) migraram para a estrutura dentária, com o zircônio sendo mais denso na dentina em comparação com o tungstato de cálcio e bismuto. Por outro lado, o tungstênio apresentou a menor migração. A migração dos radiopacificadores foi evidente tanto no mapeamento mostrando Bi/W/Zr (bismuto/tungstênio/zircônio) com Ca (cálcio) quanto no mapeamento Bi/W/Zr (bismuto/tungstênio/zircônio) com P (fósforo). Houve, também, a migração do silício para a dentina no cimento Portland e os cimentos contendo radiopacificadores. A migração de silício foi mínima para o MTA. A baixa migração de silício é mostrada no mapeamento Si/P (silício/fósforo).

Figura 30 – Micrografias em MEV da interface cimento/dentina e mapeamento dos elementos químicos.

5.9 Biocompatibilidade

5.9.1 Análise descritiva

A microscopia dos espécimes dos respectivos grupos e períodos estudados, mostrou a neo-formação de tecido conjuntivo, envolvendo o tubo implantado. A análise dos fenômenos microscópicos de interesse foi desenvolvida no segmento tecidual correspondente às extremidades dos tubos implantados.

5.9.1.1 Período de 15 dias

MTA-Angelus

Nos espécimes deste grupo observou-se, nas extremidades dos tubos implantados, a presença de um tecido conjuntivo neo-formado com ativa proliferação fibro-angioblástica. Em seu perimeio, verificou-se a predominância de células macrofágicas mononucleares (Figura 31A). Ocorreu, em alguns espécimes, a presença de pequenas estruturas de coloração negra, sugestivas de material implantado extravasado.

Cimento Portland

Nas amostras deste grupo, verificou-se, nas extremidades dos tubos implantados, a formação de um tecido conjuntivo caracterizado pela proliferação fibro-angioblástica. Observou-se a presença de células macrofágicas mononucleares e grânulos de material extravasado, permeando as células fibroblásticas (Figura 31B). Verificou-se, ainda, a presença de células gigantes multinucleadas, próximas à superfície em contato com o material em alguns espécimes.

Cimento Portland com 20% de óxido de zircônio

No período de 15 dias, os espécimes deste grupo apresentaram, nas extremidades dos tubos implantados, a formação de um tecido conjuntivo

predominantemente fibro-angioblástico. A presença de células macrofágicas, permeando o tecido conjuntivo foi evidente. Verificou-se, também, a presença de pontos de coloração negra, sugestivos de material implantado extravasado para os tecidos (Figura 31C).

Cimento Portland com 50% de óxido de zircônio

Nos espécimes deste grupo observou-se, nas extremidades dos tubos implantados, a presença de um tecido conjuntivo neo-formado com proliferação fibro-angioblástica. Em seu permeio, verificou-se a predominância de células macrofágicas mononucleares. Verificou-se a presença de células gigantes multinucleadas esparsas, localizadas principalmente na superfície em contato com o material implantado. Observou-se, ainda, a presença de pequenas estruturas de coloração negra, sugestivas de material implantado extravasado para o interior dos tecidos (Figura 31D).

Cimento Portland com 20% de tungstato de cálcio

Nos espécimes deste grupo, verificou-se, nas extremidades dos tubos implantados, a formação de um tecido conjuntivo caracterizado pela proliferação fibro-angioblástica. Observou-se a presença de células macrofágicas mononucleares, permeando as células fibroblásticas (Figura 31E).

Cimento Portland com 50% de tungstato de cálcio

Nos espécimes deste grupo observou-se, no período de 15 dias, a presença de um tecido conjuntivo neo-formado com proliferação fibro-angioblástica. Em seu permeio, verificou-se a predominância de células macrofágicas mononucleares. Ocorreu, ainda, a presença de estruturas de coloração negra, compatíveis com o material implantado extravasado (Figura 31F).

Figura 31 – Imagens representativas de cortes histológicos dos grupos no período de 15 dias. Aumento de 40×. Em (A) MTA-Angelus. Proliferação fibro-angioblástica (asterisco). Vaso sanguíneo (seta vermelha) e macrófago (seta preta). Em (B), cimento Portland com infiltrado inflamatório crônico macrófágico (seta preta) com proliferação fibro-angioblástica (asterisco) e presença de material extravasado no interior do tecido (seta azul). Em (C), CP/20% OZ com proliferação fibro-angioblástica (asterisco) e grânulos de material extravasado (seta azul). Em (D), CP/50% OZ com infiltrado inflamatório crônico macrófágico com a presença de célula gigante multinucleada (seta preta), com material fagocitado em seu interior (seta azul). Em (E) CP/20% TC com infiltrado predominantemente macrófágico (seta preta). Em (F) CP/50% TC. Proliferação fibro-angioblástica com um vaso sanguíneo em destaque (seta vermelha) e material extravasado (seta azul).

5.9.1.2 Período de 30 dias

MTA-Angelus

Os espécimes deste grupo apresentaram, nas extremidades dos tubos implantados, a presença de um tecido neo-formado caracterizado por uma proliferação fibro-angioblástica, com aspecto mais denso em relação ao período de 15 dias. Observou-se, na superfície em contato com o material implantado, maior densidade de fibroцитos, tendo de permeanо células macrofágicas. Neste período observou-se, ainda, a presença de alguns pontos de coloração negra compatíveis com o material implantado (Figura 32A).

Cimento Portland

Os espécimes deste grupo apresentaram, no período de 30 dias, uma neoformação tecidual caracterizada por uma proliferação fibro-angioblástica, com maior densidade de fibroцитos em comparação com o período de 15 dias. Observou-se a presença de alguns pontos de material extravasado, caracterizado pela coloração negra. A presença de células macrofágicas foi, também detectada, permeando o tecido fibro-angioblástico neo-formado (Figura 32B).

Cimento Portland com 20% de óxido de zircônio

Os espécimes deste grupo apresentaram, nas extremidades dos tubos implantados, a presença de um tecido neo-formado caracterizado por uma proliferação fibro-angioblástica, com aspecto mais denso e organizado em comparação com o período de 15 dias. Observou-se em permeanо ao tecido conjuntivo a presença de células macrofágicas. Observou-se, ainda, a presença de alguns pontos de coloração negra compatíveis com o material implantado extravasado (Figura 32C).

Cimento Portland com 50% de óxido de zircônio

No período de 30 dias, os espécimes apresentaram uma ativa neoformação tecidual caracterizada por uma proliferação fibro-angioblástica de maior densidade de fibrocitos em relação ao período anterior. Observou-se a presença de alguns pontos de material extravasado, caracterizado pela coloração negra (Figura 32D). A presença de células macrofágicas foi, também detectada, permeando o tecido fibro-angioblástico neo-formado.

Cimento Portland com 20% de tungstato de cálcio

Os espécimes deste grupo apresentaram a presença de um tecido neo-formado caracterizado por uma proliferação fibro-angioblástica, com aspecto mais denso e organizado em comparação com o período de 15 dias (Figura 32E). Observou-se em permeio ao tecido conjuntivo a presença de células macrofágicas. Verificou-se, em alguns espécimes, a presença de alguns pontos de coloração negra compatíveis com o material implantado extravasado.

Cimento Portland com 50% de tungstato de cálcio

No período de 30 dias, os espécimes deste grupo apresentaram uma neoformação tecidual caracterizada por uma proliferação fibro-angioblástica, com maior densidade de fibrocitos em comparação com o período de 15 dias. Observou-se a presença de alguns pontos de material extravasado, caracterizado pela coloração negra. A presença de células macrofágicas foi, também verificada, permeando o tecido conjuntivo neo-formado (Figura 32F).

Figura 32 – Imagens representativas de cortes histológicos dos grupos no período de 30 dias. Aumento de 40×. Em (A) MTA-Angelus. Proliferação fibro-angioblástica (asterisco) e presença de material extravasado (seta azul). Em (B), cimento Portland com infiltrado inflamatório crônico macrofágico (seta preta) e proliferação fibro-angioblástica (asterisco). Em (C), CP/20% OZ com proliferação fibro-angioblástica (asterisco) e presença de grânulos de material extravasado (seta azul). Em (D), CP/50% OZ com proliferação fibro-angioblástica (asterisco) e material extravasado (seta azul). Em (E) CP/20% TC proliferação fibro-angioblástica (asterisco). Em (F) CP/50% TC. Infiltrado inflamatório macrofágico (seta preta) com a presença de material extravasado (seta azul).

5.9.1.3 Período de 60 dias

MTA-Angelus

No período de 60 dias, os espécimes analisados apresentaram, nas extremidades dos tubos implantados, um tecido conjuntivo neo-formado com aspecto capsular, denso com predominância de fibroцитos e fibras colágenas. Neste período, observou-se em menor intensidade a presença de células macrofágicas em relação aos períodos anteriores. Além disso, observou-se em apenas alguns espécimes a presença esparsa de pequenos pontos de coloração negra correspondente ao material extravasado (Figura 33A).

Cimento Portland

Os espécimes deste grupo, no período de 60 dias, apresentaram um tecido conjuntivo neo-formado caracterizado por uma proliferação fibro-angioblástica com predominância de fibroцитos e fibras colágenas. Observou-se, com menor intensidade que nos períodos anteriores a presença de células macrofágicas e, em alguns espécimes, grânulos de material extravasado (Figura 33B).

Cimento Portland com 20% de óxido de zircônio

No período de 60 dias, os espécimes deste grupo apresentaram a formação de um tecido conjuntivo com aspecto capsular, com predominância de fibroцитos e fibras colágenas. Observou-se a presença de células macrofágicas permeando o tecido conjuntivo. Além disso, observou-se a presença de pontos de coloração negra correspondente ao material extravasado (Figura 33C).

Cimento Portland com 50% de óxido de zircônio

No período de 60 dias, os espécimes deste grupo apresentaram uma neoformação tecidual caracterizada por uma proliferação fibro-angioblástica, com maior densidade de fibroцитos em comparação aos períodos anteriores. Observou-se

a presença de alguns pontos de material extravasado, caracterizado pela coloração negra (Figura 33D). A presença de células macrofágicas foi, também verificada, permeando o tecido conjuntivo neo-formado.

Cimento Portland com 20% de tungstato de cálcio

Os espécimes deste grupo apresentaram, nas extremidades dos tubos implantados, a presença de um tecido neo-formado caracterizado por uma proliferação fibro-angioblástica, com aspecto mais denso e organizado em comparação com os períodos anteriores (Figura 33E). Observou-se em permeio ao tecido conjuntivo a presença de células macrofágicas.

Cimento Portland com 50% de tungstato de cálcio

Os espécimes deste grupo apresentaram, no período de 60 dias, um tecido conjuntivo neo-formado caracterizado por uma proliferação fibro-angioblástica com predominância de fibroцитos e fibras colágenas. Observou-se, com menor intensidade que nos períodos anteriores a presença de células macrofágicas permeando o tecido conjuntivo neo-formado. Verificou-se, também, a presença de alguns pontos de coloração negra compatíveis com o material implantado extravasado (Figura 33F).

Figura 33 – Imagens representativas de cortes histológicos dos grupos aos 60 dias de análise. Aumento de 40×. Em (A) MTA-Angelus. Proliferação fibro-angioblástica (asterisco) e presença de material extravasado (seta azul). Em (B), cimento Portland com proliferação fibro-angioblástica (asterisco) e material extravasado (seta azul). Em (C), CP/20% OZ com proliferação fibro-angioblástica (asterisco) e presença de grânulos de material extravasado (seta azul). Em (D), CP/50% OZ com proliferação fibro-angioblástica (asterisco) e material extravasado (seta azul). Em (E) CP/20% TC proliferação fibro-angioblástica (asterisco). Em (F) CP/50% TC. Infiltrado predominantemente fibro-angioblástico (asterisco) com a presença de material extravasado no interior do tecido (seta azul).

5.9.2 Análise quantitativa

A média, o desvio padrão e as diferenças estatísticas do infiltrado inflamatório que ocorreram nos períodos de 15, 30 e 60 dias em relação aos diferentes cimentos estudados estão representados na Tabela 6 e nas Figuras 34, 35 e 36.

Tabela 6 - Média e desvio padrão do infiltrado inflamatório nos períodos de 15, 30 e 60 dias. As diferentes letras minúsculas nas colunas representam as diferenças estatísticas entre os cimentos em um mesmo período ($p < 0,05$). As diferentes letras maiúsculas nas linhas representam as diferenças estatísticas de um mesmo cimento em relação ao tempo ($p < 0,05$).

Material	15 dias	30 dias	60 dias
MTA-Angelus	14,56 ^{acA} $\pm$ 8,11	17,11 ^{aA} $\pm$ 6,62	18,89 ^{aA} $\pm$ 4,56
CP	20,06 ^{bcA} $\pm$ 6,15	16,11 ^{aA} $\pm$ 5,41	17,33 ^{aA} $\pm$ 5,44
CP/20% OZ	24,44 ^{ba} $\pm$ 9,31	12,78 ^{aB} $\pm$ 4,93	18,06 ^{aB} $\pm$ 4,34
CP/50% OZ	17,22 ^{abA} $\pm$ 4,54	15,06 ^{aA} $\pm$ 6,81	18,72 ^{aA} $\pm$ 5,14
CP/20% TC	17,33 ^{abA} $\pm$ 8,84	13,28 ^{aA} $\pm$ 3,34	14,17 ^{aA} $\pm$ 6,76
CP/50% TC	12,00 ^{aA} $\pm$ 6,62	17,33 ^{aB} $\pm$ 3,16	15,50 ^{aAB} $\pm$ 3,86

Na análise do infiltrado inflamatório no período de 15 dias, o cimento CP/20% OZ apresentou o maior valor médio, sendo estatisticamente significante em relação aos cimentos CP/50% TC e MTA-Angelus, que apresentaram as menores médias, respectivamente ($p < 0,05$). O cimento Portland (CP) apresentou, também, um valor elevado de células inflamatórias, sendo significativamente maior em relação ao CP/50% TC ($p < 0,05$). Nos períodos de 30 e 60 dias, os materiais apresentaram valores médios mais aproximados, não havendo diferença estatisticamente significante entre eles ($p > 0,05$).

Na análise da reação inflamatória verificada para os cimentos em relação ao tempo, não houve alteração estatisticamente significante para os cimentos MTA-Angelus, CP, CP/50% OZ e CP/20% TC ($p > 0,05$). O cimento CP/20% OZ apresentou uma diminuição significativa no infiltrado inflamatório do período inicial de 15 dias para os demais períodos avaliados ($p < 0,05$). Por outro lado, um aumento significativo foi verificado para o cimento CP/50% TC entre os períodos de 15 e 30 dias ($p < 0,05$), com uma diminuição para o período de 60 dias, sem diferença para o período anterior ($p > 0,05$).

Figura 34 – Representação gráfica da média e desvio padrão do infiltrado inflamatório verificado para os cimentos estudados no período de 15 dias. As diferentes letras acima das colunas representam as diferenças estatísticas entre os materiais ($p < 0,05$).

Figura 35 – Representação gráfica da média e desvio padrão do infiltrado inflamatório verificado para os cimentos estudados no período de 30 dias. As diferentes letras acima das colunas representam as diferenças estatísticas entre os materiais ($p < 0,05$).

Figura 36 – Representação gráfica da média e desvio padrão do infiltrado inflamatório verificado para os cimentos estudados no período de 60 dias. As diferentes letras acima das colunas representam as diferenças estatísticas entre os materiais ($p < 0,05$).

6 Discussão

6 DISCUSSÃO

O estudo teve como objetivo avaliar as propriedades físicas (radiopacidade, tempo de presa, solubilidade, escoamento, espessura de filme e descoloração dentária), químicas (caracterização química do cimento hidratado e não hidratado, pH e liberação de íons cálcio) e biológicas (resposta inflamatória à implantação em tecido subcutâneo) de cimentos experimentais à base de Portland contendo diferentes radiopacificadores (óxido de zircônio ou tungstato de cálcio).

O MTA é um cimento à base de silicato de cálcio, composto principalmente por cimento Portland com a adição de óxido de bismuto como agente radiopacificador (CAMILLERI, *et al.*, 2005; ISLAM; CHNG; YAP, 2006). O MTA apresenta propriedades biológicas que favorecem o reparo tecidual, sendo por esse motivo, utilizado em diferentes procedimentos como apicificações, capeamentos pulpare, selamento de perfurações e em cirurgias apicais (LEE; MONSEF; TORABINEJAD, 1993; CHONG; PITT FORD; HUDSON, 2003; HILTON; FERRACANE; MANCL, 2013). Este cimento apresenta propriedades bioativas que incluem o reparo tecidual e a mineralização, induzidos pela liberação de íons cálcio (HOLLAND, *et al.*, 2001a; DUARTE, *et al.*, 2003; MAROTO, *et al.*, 2005; DREGER, *et al.*, 2012). Estas propriedades são desejáveis principalmente devido ao contato direto entre o material e os tecidos pulpare ou periodontais. Embora o MTA apresente tais características satisfatórias, alguns aspectos podem limitar a sua utilização, dentre estes o custo elevado, a consistência arenosa e a possibilidade de manchamento das estruturas dentárias (BELOBROV; PARASHOS, 2011; DUARTE, *et al.*, 2012b).

O cimento Portland, principal matéria-prima do MTA, é comumente utilizado na construção civil. Tanto o cimento Portland quanto o MTA apresentam propriedades físicas, químicas e biológicas semelhantes, exceto para a radiopacidade que é proporcionada no MTA pela presença do óxido de bismuto (CAMILLERI, *et al.*, 2005; ISLAM; CHNG; YAP, 2006). Embora a matéria-prima e o custo de produção do MTA sejam baratos, este cimento apresenta um valor comercial elevado. A patente e posterior comercialização por apenas duas empresas,

a Tulsa e a Angelus, teve como consequência a elevação do preço de mercado do MTA. O alto custo é uma característica que dificulta e, até mesmo, impede a utilização deste material em determinadas localidades em que os recursos financeiros são limitados. Assim, a semelhança nas propriedades físicas, químicas e biológicas entre o Portland e o MTA valida a proposição de novos materiais contendo o cimento Portland em sua composição (ESTRELA, *et al.*, 2000; SAIDON, *et al.*, 2003; ISLAM; CHNG; YAP, 2006; RIBEIRO, *et al.*, 2006).

No presente estudo, radiopacificadores alternativos foram avaliados em associação ao cimento Portland devido às desvantagens associadas ao óxido de bismuto. A presença do radiopacificador óxido de bismuto na composição do MTA interfere no processo de hidratação (CAMILLERI, 2007) e altera as propriedades mecânicas do cimento (COOMARASWAMY; LUMLEY; HOFMANN, 2007). Além disso, a interação entre o óxido de bismuto e o hipoclorito de sódio, utilizado como irrigante durante o tratamento endodôntico, resulta na formação de um precipitado de coloração negra passível de alterar a cor das estruturas dentárias (CAMILLERI, 2014). O radiopacificador óxido de zircônio tem sido avaliado como uma alternativa por mostrar uma radiopacidade adequada (DUARTE, *et al.*, 2009; CAMILLERI; SORRENTINO; DAMIDOT, 2013), não interferir na reação de hidratação do cimento Portland, na deposição de hidroxiapatita e na liberação de íons cálcio (CAMILLERI; CUTAJAR; MALLIA, 2011; BORGES, *et al.*, 2012; VITTI, *et al.*, 2013). O tungstato de cálcio tem sido também avaliado como uma alternativa sendo que apresenta, quando associado ao Portland, propriedades físicas e químicas caracterizadas pela baixa solubilidade, elevado pH e liberação de íons cálcio (DUARTE, *et al.*, 2009; DUARTE, *et al.*, 2012a).

Os cimentos experimentais foram manipulados utilizando uma associação de propilenoglicol e água destilada com o objetivo de melhorar as características de manipulação dos cimentos. Os cimentos à base de silicato de cálcio apresentam uma típica característica de manipulação, representada por uma baixa fluidez resultante de sua consistência arenosa. Tal característica está relacionada ao processo de hidratação do cimento (CAMILLERI, 2007). Durante o processo de hidratação, enquanto a água é absorvida, o material se torna ressecado e menos fluído. Com o objetivo de melhorar as propriedades de manipulação, alguns aditivos tem sido estudados, dentre eles o propilenoglicol (KOGAN, *et al.*, 2006; BER;

HATTON; STEWART, 2007; HSIEH, *et al.*, 2009; ALANEZI, *et al.*, 2011). O propilenoglicol é frequentemente utilizado na Odontologia como um veículo para o hidróxido de cálcio e, recentemente, tem sido testado, também, como um veículo para a manipulação do MTA (HOLLAND, *et al.*, 2007; BRITO-JUNIOR, *et al.*, 2010; DUARTE, *et al.*, 2012b; SALEM MILANI, *et al.*, 2013). Em relação à resposta tecidual periapical, o uso do propilenoglicol juntamente com o MTA não apresenta diferença estatística para o MTA manipulado apenas com água destilada (HOLLAND, *et al.*, 2007). Além disso, ocorre uma melhora no selamento e uma maior facilidade de manipulação e inserção com a adição do propilenoglicol (BRITO-JUNIOR, *et al.*, 2010). A proporção selecionada no estudo foi baseada no trabalho de DUARTE, *et al.*, (2012b) que demonstra que um volume de 80% de água destilada e 20% de propilenoglicol resulta em um aumento no tempo de presa, melhora no escoamento, aumento no pH e na liberação de íons cálcio e aumento na resistência adesiva à dentina (SALEM MILANI, *et al.*, 2013). No estudo, o líquido contendo 80% de água destilada e 20% de propilenoglicol foi utilizado na manipulação dos cimentos experimentais, enquanto o controle MTA-Angelus foi manipulado de acordo com as especificações do fabricante, ou seja, com 100% de água destilada.

Os cimentos avaliados foram caracterizados quimicamente em relação aos diferentes componentes presentes na forma não hidratada (Portland, óxido de zircônio e tungstato de cálcio), e em relação ao processo de hidratação. Para a análise, foram utilizados microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia de energia dispersiva (EDS) e difratometria de raios-X (XRD). Esta metodologia está bem documentada na literatura e tem sido utilizada para a caracterização química de outros cimentos à base de silicato de cálcio (CAMILLERI, 2007,2008c; CAMILLERI; CUTAJAR; MALLIA, 2011). A microscopia eletrônica de varredura permite avaliar a dimensão e forma das partículas e mapear a estrutura da matriz dos cimentos. Para a análise da composição química, o EDS fornece os elementos químicos presentes nos materiais, enquanto o XRD identifica as fases cristalinas. A combinação do EDS e XRD é importante para permitir a identificação dos componentes presentes nos materiais e prevenir erros de interpretação (CAMILLERI, *et al.*, 2005). Os resultados obtidos no estudo mostraram que o processo de hidratação dos cimentos foi semelhante ao reportado previamente na literatura para outros cimentos à base de silicato de cálcio (CAMILLERI, 2007; CAMILLERI; SORRENTINO; DAMIDOT, 2013).

Os cimentos apresentaram partículas contendo halos de reação ao redor e produtos resultantes do processo de hidratação na matriz do cimento. Baseado em resultados previamente reportados, o propilenoglicol parece não ter alterado o processo de hidratação do cimento Portland (CAMILLERI; CUTAJAR; MALLIA, 2011; CAMILLERI; SORRENTINO; DAMIDOT, 2013). Os cimentos contendo os radiopacificadores óxido de zircônio e tungstato de cálcio, apresentaram partículas dos mesmos na matriz dos cimentos. O aumento na proporção de radiopacificadores, resultou em redução na quantidade de cimento na mistura, sendo que esta alteração foi identificada na análise em XRD. O aumento na proporção de radiopacificadores resultou na alteração da matriz do cimento devido à presença de uma maior quantidade de partículas não reagidas, representadas pelos radiopacificadores. Resultados semelhantes foram previamente reportados e demonstram que as partículas de óxido de zircônio atuam de maneira inerte na matriz do cimento por não participarem da reação de hidratação (CAMILLERI; CUTAJAR; MALLIA, 2011). O mesmo pode ser observado no estudo para o tungstato de cálcio que também permaneceu na forma não reagida após o processo de hidratação do cimento.

A análise das propriedades físicas dos materiais foi realizada seguindo as especificações nº 57/2000 da ANSI/ADA. O tempo de presa foi determinado de acordo com a norma C266/2008 da ASTM, com as amostras sendo confeccionadas de acordo com a norma nº 57/2000 da ANSI/ADA, pois permite a utilização de uma quantidade menor de material (DUARTE, *et al.*, 2012a; CAVENAGO, *et al.*, 2013). Segundo a ANSI/ADA, os cimentos devem apresentar uma radiopacidade acima de 3 mm Al, escoamento maior que 20 mm, espessura de filme menor que 50 μ m e solubilidade menor que 3%. Em relação ao tempo de presa, é estabelecido que os cimentos não devem exceder 10% do especificado pelo fabricante, considerando que, para cimentos experimentais, não é possível adotar esta instrução, sendo necessária a comparação com materiais com uma composição aproximada já disponíveis no mercado (DUARTE, *et al.*, 2012a). No estudo, a comparação foi realizada em relação ao grupo controle MTA-Angelus.

Em relação aos resultados da radiopacidade, os cimentos experimentais contendo 20% de óxido de zircônio e 20% de tungstato de cálcio apresentaram uma radiopacidade inferior ao mínimo recomendado pela norma ANSI/ADA (3 mm Al). O cimento com 20% de óxido de zircônio apresentou valores mais próximos à norma

que o cimento com 20% de tungstato de cálcio. Verificando os resultados dos cimentos com 50% de radiopacificadores, o cimento com 50% de óxido de zircônio apresentou também maior radiopacidade que o cimento com 50% de tungstato de cálcio. Este fato pode ser explicado pelo método de proporcionamento em peso, que foi utilizado no estudo. O proporcionamento em peso resulta em um volume menor da substância com maior peso molecular. Assim, a substância com maior peso molecular necessita de um volume menor para atingir o mesmo peso que uma substância de peso molecular menor. Tal fenômeno ocorre com o óxido de bismuto presente no MTA (DUARTE, *et al.*, 2009). O peso molecular do óxido de bismuto é elevado o que requer um volume menor para atingir um peso correspondente a 20% do que em relação à substâncias com peso molecular menor. Embora as proporções de 50% de óxido de zircônio e tungstato de cálcio tenham se adequado à norma, mais estudos físicos serão necessários para verificar a viabilidade da adição de uma quantidade elevada de radiopacificador na composição do cimento uma vez que concentrações elevadas de radiopacificadores podem resultar em prejuízo às propriedades de resistência do cimento como foi previamente demonstrado (COOMARASWAMY; LUMLEY; HOFMANN, 2007).

As propriedades de escoamento e espessura de filme são geralmente utilizadas para analisar cimentos obturadores de canais radiculares. No estudo, tais propriedades foram avaliadas para verificar a diferença entre o controle MTA-Angelus manipulado com água destilada e os cimentos experimentais manipulados com associação de água destilada e propilenoglicol. Os resultados demonstraram que os cimentos experimentais apresentaram um escoamento maior e uma menor espessura de filme em comparação com o MTA-Angelus e o cimento Portland sem radiopacificadores. Embora tenha ocorrido uma melhoria em tais propriedades em relação ao MTA-Angelus e o cimento Portland, os cimentos experimentais com 20% de radiopacificadores não estiveram de acordo com as recomendações da norma nº 57 da ANSI/ADA. Porém, os valores são recomendados pela norma para cimentos obturadores, em que uma elevada fluidez e uma baixa espessura de filme são essenciais para uma distribuição adequada do cimento no sistema de canais radiculares (MARCIANO, *et al.*, 2011). Os cimentos experimentais com 50% de radiopacificadores apresentaram escoamento acima de 20 mm, porém a espessura de filme foi bem acima de 50 μ m. A elevada espessura de filme pode estar

relacionada ao tamanho das partículas do cimento Portland e dos radiopacificadores. VIAPIANA, *et al.*, (2013) verificaram maiores valores de escoamento utilizando óxido de zircônio micro e nano particulado.

O aumento na proporção dos radiopacificadores óxido de zircônio e tungstato de cálcio resultou em aumento do tempo de presa em comparação com o cimento Portland e o MTA-Angelus. Os cimentos com 50% de radiopacificadores apresentaram um tempo de presa final prolongado. Os cimentos à base de silicato de cálcio são considerados cimentos hidráulicos, ou seja, que reagem com a água levando à sua presa. O óxido de zircônio e, possivelmente o tungstato de cálcio, não participam do processo de hidratação do cimento (CAMILLERI; CUTAJAR; MALLIA, 2011). A disponibilidade de menores quantidades de cimento de silicato de cálcio, resultante da adição de maiores quantidades de radiopacificadores, resulta em um aumento no tempo necessário para a presa do material. Ao contrário, nos cimentos em que há uma menor quantidade de radiopacificador, a proporção de cimento silicato de cálcio será maior para reagir com o líquido, resultando em uma presa mais rápida (SILVA, *et al.*, 2014). Além disso, a adição de propilenoglicol ao líquido pode ter interferido na presa dos cimentos à base de silicato de cálcio, como previamente demonstrado (DUARTE, *et al.*, 2012b). O mesmo processo que ocorre com o aumento na proporção de radiopacificadores, ocorre com a adição do propilenoglicol. O aumento de propilenoglicol, diminui o volume de água disponível para reagir com o silicato de cálcio. Foi verificado que a manipulação do MTA com 100% de propilenoglicol não permitiu a presa do cimento Portland, sendo recomendada a proporção de 80% de água destilada para 20% de propilenoglicol (DUARTE, *et al.*, 2012b).

O teste de solubilidade utilizado foi baseado no peso inicial e final das amostras após 24 horas de imersão em água. Segundo a norma ANSI/ADA, a perda de peso não pode exceder 3% do peso inicial. A solubilidade elevada pode aumentar a possibilidade de infiltração bacteriana e consequentemente levar à falha no tratamento endodôntico (WU; WESSELINK; BOERSMA, 1995). Os resultados demonstraram que a solubilidade dos cimentos não foi alterada pela adição de óxido de zircônio ou tungstato de cálcio e pela associação do propilenoglicol com a água destilada. Os cimentos experimentais apresentaram aumento no peso final em relação ao inicial, sugerindo uma absorção de água, similar ao previamente relatado

na literatura (BORTOLUZZI, *et al.*, 2009a).

Os cimentos à base de silicato de cálcio são conhecidos por apresentarem valores de pH e liberação de íons cálcio elevados (DUARTE, *et al.*, 2003; SANTOS, *et al.*, 2005; TANOMARU-FILHO, *et al.*, 2009). Segundo HOLLAND, *et al.*, (1999), tais cimentos são ricos em óxido de cálcio, que em contato com os fluídos tissulares ou água se convertem em hidróxido de cálcio. A dissociação do hidróxido de cálcio resulta em pH elevado e a detecção de altos níveis de cálcio. A liberação de hidróxido de cálcio na forma de íons Ca^{+2} e hidroxila OH^- , resulta em pH alcalino (SANTOS, *et al.*, 2005; CAMILLERI, 2007,2008c). Os altos níveis de pH são, geralmente, verificados nos períodos iniciais, antes da completa presa dos cimentos, sendo o mesmo verificado no estudo, corroborando com outros estudos (DUARTE, *et al.*, 2003; DE VASCONCELOS, *et al.*, 2009; VIVAN, *et al.*, 2010; SILVA, *et al.*, 2014). O nível do pH diminuiu com o tempo, porém se manteve alcalino. Em relação ao MTA-Angelus, os cimentos apresentaram um pH próximo. Porém, em relação à liberação de íons cálcio, os maiores valores foram identificados para os cimentos experimentais nos períodos iniciais, principalmente no contendo tungstato de cálcio. A espectrofotometria de absorção atômica com lâmpada cátodo detecta o cálcio na forma ionizada ou não. A maior presença de cálcio nos grupos experimentais, principalmente no contendo tungstato de cálcio pode ser atribuída à presença de cálcio não ionizado na forma de tungstato de cálcio.

A descoloração dentária é uma consequência indesejável de algumas reações químicas verificadas para determinados materiais quando em contato com as estruturas dentárias (JACOBOWITZ; DE PONTES LIMA, 2009; BELOBROV; PARASHOS, 2011; LENHERR, *et al.*, 2012). Em tratamentos que envolvem áreas com comprometimento estético, a estabilidade de cor dos cimentos é fundamental. A descoloração dentária após a aplicação do MTA em contato com a superfície dentinária tem sido reportada (JACOBOWITZ; DE PONTES LIMA, 2009; BELOBROV; PARASHOS, 2011; FELMAN; PARASHOS, 2013). Os fatores associados com o seu escurecimento tem sido avaliados e algumas hipóteses sugeridas. A maioria das teorias sugerem que a presença do óxido de bismuto estaria associada com a alteração de cor do MTA (CAMILLERI, 2014; VALLES, *et al.*, 2013b). No estudo, foram utilizados dentes bovinos para a avaliação da alteração da cor dentária após o contato com os cimentos. Além disso, a interação entre os

radiopacificadores óxido de bismuto, óxido de zircônio e tungstato de cálcio com o colágeno, principal componente orgânico da dentina, foi avaliada. Dentes bovinos foram selecionados para a análise da descoloração dentária como reportado em estudos prévios (PIRES-DE-SOUZA FDE, et al., 2011; LENHERR, et al., 2012; ABLAL; ADEYEMI; JARAD, 2013). A utilização de dentes humanos em pesquisas laboratoriais é restrita devido às limitações éticas (CAMARGO, M.A.; MARQUES; DE CARA, 2008). Além disso, existe uma dificuldade de se obter um número suficiente de amostras. Os dentes humanos extraídos geralmente possuem restaurações ou cáries que interferem na análise de cor. Por outro lado, dentes bovinos são mais facilmente obtidos e possuem uma ampla superfície plana para uma adequada mensuração de cor, permitindo uma melhor standardização das amostras. A dentina dos dentes humanos e bovinos é similar em número de túbulos por mm^2 e diâmetro dos túbulos (SCHILKE, et al., 2000), embora uma variabilidade no número de túbulos tenha sido reportada (CAMARGO, C.H., et al., 2007). Os dentes bovinos tem sido utilizados como substitutos para os dentes humanos em testes de adesão devido à similaridade da matriz orgânica do colágeno, sendo que ambos são compostos por colágeno tipo I (NAKAMICHI; IWAKU; FUSAYAMA, 1983).

A análise em espectrofotômetro foi selecionada para o estudo da cor dos cimentos. Estudos prévios utilizaram uma metodologia semelhante para avaliar a alteração de cor de cimentos à base de silicato de cálcio (LENHERR, et al., 2012; CAMILLERI, 2014; VALLES, et al., 2013b). Os valores de L, a e b, estabelecidos pela CIE (INTERNATIONAL COMMISSION ON ILLUMINATION, 1978) permitem detectar alterações nas propriedades de refletância dos materiais e indicar a alteração de cor (CAMILLERI, 2014). No estudo, a análise em espectrofotometria indicou alteração de cor para todos os cimentos, com valores mais elevados detectados para o MTA-Angelus. Embora todos os cimentos tenham apresentado alteração de cor por meio da espectrofotometria, apenas o MTA-Angelus apresentou alteração de cor visualmente detectável por meio da estereomicroscopia, com a formação de áreas acinzentadas próximas à interface entre o cimento e a dentina. Tal resultado corrobora com os previamente reportados na literatura (BOUSIOUKIS; NOULA; LAMBRIANIDIS, 2008; JACOBOVITZ; DE PONTES LIMA, 2009; BELOBROV; PARASHOS, 2011). As imagens de estereomicroscopia complementaram os dados da espectrofotometria, sugerindo que a análise visual

permite detectar parâmetros não identificados na análise quantitativa, sendo importante para complementar a investigação.

As micrografias em microscopia eletrônica de varredura da interface entre o material e a dentina mostraram alterações nas características microestruturais dos materiais em contato com a dentina. Estas alterações foram mais evidentes para o MTA-Angelus. Nas áreas próximas à dentina, houve ausência de cálcio e o cimento não apresentou as características típicas apresentadas no interior da massa do material. O mapeamento dos elementos revelou, também, a migração das partículas dos cimentos (silício) para o interior dos túbulos dentinários. Fenômeno semelhante foi reportado previamente (HAN; OKIJI, 2011). Todos os cimentos apresentaram migração em diferentes graus, indicando a penetração dos cimentos nos túbulos dentinários. As partículas de bismuto, zircônio e tungstênio, presentes nos radiopacificadores, foram também identificadas na dentina. A presença de bismuto na dentina é um indicativo de que a descoloração dentária irá ocorrer quando diferentes componentes interagem com a dentina. Como verificado no estudo, o óxido de bismuto interage com o colágeno resultando em um precipitado negro. Por outro lado, embora as partículas dos radiopacificadores óxido de zircônio e tungstato de cálcio tenham também migrado para a dentina, este fenômeno não implicou em alteração de cor, como verificado para o MTA-Angelus. A interação entre tais radiopacificadores e o colágeno também não resultou em alteração de cor. A descoloração tem sido atribuída a uma desestabilização do óxido de bismuto quando em contato com um agente oxidante com a formação de carbonato de bismuto por meio da reação entre o bismuto e o dióxido de carbono, presente na atmosfera. Na presença de luz, o carbonato de bismuto torna-se negro (VALLES, *et al.*, 2013b). No estudo, os resultados indicam que o colágeno presente na dentina é o fator desestabilizante do óxido de bismuto levando à alteração de cor da substância de amarelo para preto. Estes resultados podem ser associados com o relato prévio de que a aplicação de agentes adesivos dentinários antes da aplicação do MTA previne a descoloração dentária (AKBARI, *et al.*, 2012). Dessa forma, previne-se a interação entre o bismuto presente no MTA e o colágeno e a consequente alteração de cor.

Os cimentos experimentais foram avaliados também em relação à resposta inflamatória tecidual. Para a avaliação da resposta biológica, podem ser empregados diversos tipos de testes como os testes iniciais de citotoxicidade em cultura de

células e genotoxicidade, os testes secundários que são representados pelos testes de implantação subcutânea e óssea e, por último, os testes de aplicação como capeamento pulpar e implante dental (ESTRELA, 2005). Os testes de citotoxicidade em cultura de células são considerados iniciais, pois determinam de maneira preliminar o comportamento dos materiais em teste. Neste tipo de estudo, células isoladas em meio de cultura são avaliadas em relação à morte celular quando expostas a determinado material. Diversos estudos avaliaram a citotoxicidade dos cimentos MTA e Portland (SAIDON, *et al.*, 2003; DE DEUS, *et al.*, 2005; HWANG, *et al.*, 2009). O teste de análise da genotoxicidade tem como objetivo verificar se ocorre alteração no DNA celular, tendo sido também utilizado para a análise de cimentos retrobturadores (RIBEIRO, *et al.*, 2006; RIBEIRO, *et al.*, 2009).

Os estudos experimentais utilizando animais de laboratório são considerados secundários (tipo II), pois é possível verificar a resposta tecidual frente a determinado material. Nesses estudos, obtêm-se uma interação mais complexa entre os diferentes componentes celulares presentes no tecido e o material implantado. Grande parte dos estudos que avaliaram a biocompatibilidade dos cimentos endodônticos por meio do teste de implantação subcutânea, utilizaram o rato de laboratório como modelo experimental (HOLLAND, *et al.*, 2001b; COUTINHO-FILHO, *et al.*, 2008; SHAHI, *et al.*, 2010). Segundo RODRIGUEZ SOSA (2004), o rato possui um metabolismo acelerado, permitindo a obtenção de resultados num menor período de tempo em comparação com outros animais. Outra vantagem da utilização do rato de laboratório é que sua reprodução é controlada permitindo a eliminação de fatores individuais como deficiência imune, doenças genéticas, além da facilidade de manejo e obtenção do número de amostras necessárias (KRINKE, 2000).

A implantação dos cimentos no tecido subcutâneo de ratos permitiu analisar a reação inflamatória tecidual frente aos materiais. No período inicial de 15 dias, apenas o CP/20% OZ apresentou um infiltrado inflamatório significativamente maior que o MTA-Angelus. Nos períodos de 30 e 60 dias, a resposta inflamatória foi semelhante para os cimentos experimentais e o MTA-Angelus. Em relação aos períodos, o CP/20% OZ apresentou uma diminuição significativa do infiltrado inflamatório observado no período de 15 dias em comparação com os períodos de 30 e 60 dias. Os demais cimentos não apresentaram alteração significativa de 15

para 60 dias. Embora não tenha ocorrido uma diferença estatisticamente significativa em relação à quantificação das células inflamatórias, na análise descritiva foi possível observar um aumento na densidade de fibras colágenas para todos os espécimes avaliados. Além disso, no período de 60 dias, o tecido em contato com os cimentos avaliados apresentou um aspecto capsular para todos os diferentes grupos. Estes fatores indicam que houve um processo de reparo tecidual semelhante para todos os cimentos testados. Outro aspecto observado na análise descritiva foi a presença de material extravasado. Os espécimes de todos os grupos apresentaram, mesmo após um período de 60 dias, a presença de material extravasado permeando o tecido em contato com as extremidades dos tubos. Este fenômeno indica que estes materiais, embora tenham sido fagocitados pelos macrófagos em alguns casos, permaneceram no local como previamente demonstrado (HOLLAND, *et al.*, 2007).

O aumento na proporção de óxido de zircônio e tungstato de cálcio não interferiu na intensidade da resposta inflamatória dos cimentos. Os resultados corroboram com os relatos presentes na literatura. SILVA, *et al.* (2014) verificaram que o óxido de zircônio micro e nanoparticulado induziram uma resposta inflamatória mais discreta que o óxido de bismuto, quando associados ao cimento Portland, reforçando a ideia da presença inerte do óxido de zircônio. O tungstato de cálcio não foi avaliado ainda em associação ao Portland em relação às propriedades biológicas. Porém, a presença deste radiopacificador em cimentos obturadores como o AH Plus, que apresenta uma resposta inflamatória satisfatória (LEONARDO, *et al.*, 1999; LEONARDO, *et al.*, 2008), sugere que esta substância poderia atuar também de maneira inerte quando associado ao Portland. Os resultados do estudo mostram que o tungstato de cálcio se comportou de forma a não causar uma resposta inflamatória intensa, mesmo com a adição de 50% ao cimento Portland. Assim, os resultados indicam que esta substância, bem como o óxido de zircônio, pode ser utilizada em associação ao cimento Portland em relação à resposta inflamatória. Ajustes no proporcionamento radiopacificador/cimento são necessários para se obter um material com uma formulação adequada para um ótimo desempenho clínico.

7 CONCLUSÕES

7 CONCLUSÕES

A utilização do óxido de zircônio e tungstato de cálcio em combinação com o cimento Portland e 20% de propilenoglicol no líquido na manipulação resultou no desenvolvimento de materiais que exibiram:

- a) uma radiopacidade adequada quando do emprego da proporção de 50% de radiopacificadores;
 - b) tempo de presa mais prolongado em comparação com o MTA-Angelus;
 - c) espessura de filme menor e escoamento mais elevado que o MTA-Angelus;
 - d) solubilidade adequada e comparável ao MTA-Angelus;
 - e) elevado pH;
 - f) liberação de íons cálcio superior ao MTA-Angelus nos períodos iniciais e semelhante a este aos 7 dias;
 - g) ausência de descoloração dentária;
 - h) resposta inflamatória semelhante ao MTA-Angelus.
-

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

Ablal MA, Adeyemi AA, Jarad FD. The whitening effect of chlorine dioxide--an in vitro study. *J Dent*. 2013;41 Suppl 5:e76-81.

Aeinehchi M, Eslami B, Ghanbariha M, Saffar AS. Mineral trioxide aggregate (MTA) and calcium hydroxide as pulp-capping agents in human teeth: a preliminary report. *Int Endod J*. 2003;36(3):225-31.

Ahmed HM, Abbott PV. Discolouration potential of endodontic procedures and materials: a review. *Int Endod J*. 2012;45(10):883-97.

Akbari M, Rouhani A, Samiee S, Jafarzadeh H. Effect of dentin bonding agent on the prevention of tooth discoloration produced by mineral trioxide aggregate. *Int J Dent*. 2012;2012:563203.

AlAnezi AZ, Zhu Q, Wang YH, Safavi KE, Jiang J. Effect of selected accelerants on setting time and biocompatibility of mineral trioxide aggregate (MTA). *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2011;111(1):122-7.

Antonijevic D, Medigovic I, Zrilic M, Jokic B, Vukovic Z, Todorovic L. The influence of different radiopacifying agents on the radiopacity, compressive strength, setting time, and porosity of Portland cement. *Clin Oral Investig*. In Press. 2013.

Belobrov I, Parashos P. Treatment of tooth discoloration after the use of white mineral trioxide aggregate. *J Endod*. 2011;37(7):1017-20.

Ber BS, Hatton JF, Stewart GP. Chemical modification of proroot mta to improve handling characteristics and decrease setting time. *J Endod*. 2007;33(10):1231-4.

Borges RP, Sousa-Neto MD, Versiani MA, Rached-Junior FA, De-Deus G, Miranda CE, et al. Changes in the surface of four calcium silicate-containing endodontic materials and an epoxy resin-based sealer after a solubility test. *Int Endod J*. 2012;45(5):419-28.

Bortoluzzi EA, Araujo GS, Guerreiro Tanomaru JM, Tanomaru-Filho M. Marginal gingiva discoloration by gray MTA: a case report. *J Endod*. 2007;33(3):325-7.

Bortoluzzi EA, Broon NJ, Bramante CM, Felipe WT, Tanomaru Filho M, Esberard RM. The influence of calcium chloride on the setting time, solubility, disintegration, and pH of mineral trioxide aggregate and white Portland cement with a radiopacifier. *J Endod*. 2009a;35(4):550-4.

Bortoluzzi EA, Guerreiro-Tanomaru JM, Tanomaru-Filho M, Duarte MA. Radiographic effect of different radiopacifiers on a potential retrograde filling material. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009b;108(4):628-32.

Boutsioukis C, Noula G, Lambrianidis T. Ex vivo study of the efficiency of two techniques for the removal of mineral trioxide aggregate used as a root canal filling material. *J Endod.* 2008;34(10):1239-42.

Bramante C, Demarchi AC, de Moraes IG, Bernadineli N, Garcia RB, Spangberg LS, et al. Presence of arsenic in different types of MTA and white and gray Portland cement. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008;106(6):909-13.

Braz MG, Marcondes JP, Matsumoto MA, Duarte MA, Salvadori DM, Ribeiro DA. Genotoxicity in primary human peripheral lymphocytes after exposure to radiopacifiers in vitro. *J Mater Sci Mater Med.* 2008;19(2):601-5.

Brito-Junior M, Viana FA, Pereira RD, Nobre SA, Soares JA, Camilo CC, et al. Sealing ability of MTA-Angelus with propyleneglycol in furcal perforations. *Acta Odontol Latinoam.* 2010;23(2):124-8.

Bueno CE, Zeferino EG, Manhaes LR, Jr., Rocha DG, Cunha RS, De Martin AS. Study of the bismuth oxide concentration required to provide Portland cement with adequate radiopacity for endodontic use. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009;107(1):e65-9.

Camargo CH, Siviero M, Camargo SE, de Oliveira SH, Carvalho CA, Valera MC. Topographical, diametral, and quantitative analysis of dentin tubules in the root canals of human and bovine teeth. *J Endod.* 2007;33(4):422-6.

Camargo MA, Marques MM, de Cara AA. Morphological analysis of human and bovine dentine by scanning electron microscope investigation. *Arch Oral Biol.* 2008;53(2):105-8.

Camilleri J, Montesin FE, Papaioannou S, McDonald F, Pitt Ford TR. Biocompatibility of two commercial forms of mineral trioxide aggregate. *Int Endod J.* 2004;37(10):699-704.

Camilleri J, Montesin FE, Brady K, Sweeney R, Curtis RV, Ford TR. The constitution of mineral trioxide aggregate. *Dent Mater.* 2005;21(4):297-303.

Camilleri J. Hydration mechanisms of mineral trioxide aggregate. *Int Endod J.* 2007;40(6):462-70.

Camilleri J. The chemical composition of mineral trioxide aggregate. *J Conserv Dent*. 2008a;11(4):141-3.

Camilleri J. The physical properties of accelerated Portland cement for endodontic use. *Int Endod J*. 2008b;41(2):151-7.

Camilleri J. Characterization of hydration products of mineral trioxide aggregate. *Int Endod J*. 2008c;41(5):408-17.

Camilleri J. Evaluation of the physical properties of an endodontic Portland cement incorporating alternative radiopacifiers used as root-end filling material. *Int Endod J*. 2010a;43(3):231-40.

Camilleri J, Gandolfi MG. Evaluation of the radiopacity of calcium silicate cements containing different radiopacifiers. *Int Endod J*. 2010b;43(1):21-30.

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(8):845-54.

Camilleri J, Sorrentino F, Damidot D. Investigation of the hydration and bioactivity of radiopacified tricalcium silicate cement, Biodentine and MTA Angelus. *Dent Mater*. 2013;29(5):580-93.

Camilleri J. Color stability of white MTA in contact with hypochlorite solution. *J Endod*. 2014;40(3):436-40.

Cavenago BC, Pereira TC, Duarte MA, Ordinola-Zapata R, Marciano MA, Bramante CM, et al. Influence of powder-to-water ratio on radiopacity, setting time, pH, calcium ion release and a micro-CT volumetric solubility of white mineral trioxide aggregate. *Int Endod J*. 2013;47(2):120-6.

Chang MC, Lin LD, Chen YJ, Tsai YL, Cheng YA, Kuo CS, et al. Comparative cytotoxicity of five root canal sealers on cultured human periodontal ligament fibroblasts. *Int Endod J*. 2010;43(3):251-7.

Chng HK, Islam I, Yap AU, Tong YW, Koh ET. Properties of a new root-end filling material. *J Endod*. 2005;31(9):665-8.

Chong BS, Pitt Ford TR, Hudson MB. A prospective clinical study of Mineral Trioxide Aggregate and IRM when used as root-end filling materials in endodontic surgery. *Int Endod J*. 2003;36(8):520-6.

Conti TR, Sakai VT, Fornetti AP, Moretti AB, Oliveira TM, Lourenco Neto N, et al. Pulpotomies with Portland cement in human primary molars. *J Appl Oral Sci.* 2009;17(1):66-9.

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(3):295-8.

Coutinho-Filho T, De-Deus G, Klein L, Manera G, Peixoto C, Gurgel-Filho ED. Radiopacity and histological assessment of Portland cement plus bismuth oxide. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008;106(6):e69-77.

Cruz EV, Kota K, Huque J, Iwaku M, Hoshino E. Penetration of propylene glycol into dentine. *Int Endod J.* 2002;35(4):330-6.

Cunha SA, Rached FJ, Jr., Alfredo E, Leon JE, Perez DE. Biocompatibility of sealers used in apical surgery: a histological study in rat subcutaneous tissue. *Braz Dent J.* 2011;22(4):299-305.

Cutajar A, Mallia B, Abela S, Camilleri J. Replacement of radiopacifier in mineral trioxide aggregate; characterization and determination of physical properties. *Dent Mater.* 2011;27(9):879-91.

Dammaschke T, Gerth HU, Zuchner H, Schafer E. Chemical and physical surface and bulk material characterization of white ProRoot MTA and two Portland cements. *Dent Mater.* 2005;21(8):731-8.

Danesh G, Dammaschke T, Gerth HU, Zandbiglari T, Schafer E. A comparative study of selected properties of ProRoot mineral trioxide aggregate and two Portland cements. *Int Endod J.* 2006;39(3):213-9.

Darvell BW, Wu RC. "MTA"-an Hydraulic Silicate Cement: review update and setting reaction. *Dent Mater.* 2011;27(5):407-22.

Davis MC, Walton RE, Rivera EM. Sealer distribution in coronal dentin. *J Endod.* 2002;28(6):464-6.

De Deus G, Ximenes R, Gurgel-Filho ED, Plotkowski MC, Coutinho-Filho T. Cytotoxicity of MTA and Portland cement on human ECV 304 endothelial cells. *Int Endod J.* 2005;38(9):604-9.

de Vasconcelos BC, Bernardes RA, Cruz SM, Duarte MA, Padilha Pde M, Bernardineli N, et al. Evaluation of pH and calcium ion release of new root-end filling materials. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009;108(1):135-9.

De-Deus G, Coutinho-Filho T. The use of white Portland cement as an apical plug in a tooth with a necrotic pulp and wide-open apex: a case report. *Int Endod J.* 2007;40(8):653-60.

Dreger LA, Felipe WT, Reyes-Carmona JF, Felipe GS, Bortoluzzi EA, Felipe MC. Mineral trioxide aggregate and Portland cement promote biomineralization in vivo. *J Endod.* 2012;38(3):324-9.

Duarte MA, Demarchi AC, Yamashita JC, Kuga MC, Fraga Sde C. pH and calcium ion release of 2 root-end filling materials. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2003;95(3):345-7.

Duarte MA, De Oliveira Demarchi AC, Yamashita JC, Kuga MC, De Campos Fraga S. Arsenic release provided by MTA and Portland cement. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2005;99(5):648-50.

Duarte MA, de Oliveira El Kadre GD, Vivan RR, Guerreiro Tanomaru JM, Tanomaru Filho M, de Moraes IG. Radiopacity of portland cement associated with different radiopacifying agents. *J Endod.* 2009;35(5):737-40.

Duarte MA, Minotti PG, Rodrigues CT, Zapata RO, Bramante CM, Tanomaru Filho M, et al. Effect of different radiopacifying agents on the physicochemical properties of white Portland cement and white mineral trioxide aggregate. *J Endod.* 2012a;38(3):394-7.

Duarte MA, Alves de Aguiar K, Zeferino MA, Vivan RR, Ordinola-Zapata R, Tanomaru-Filho M, et al. Evaluation of the propylene glycol association on some physical and chemical properties of mineral trioxide aggregate. *Int Endod J.* 2012b;45(6):565-70.

Estrela C, Bammann LL, Estrela CR, Silva RS, Pecora JD. Antimicrobial and chemical study of MTA, Portland cement, calcium hydroxide paste, Sealapex and Dycal. *Braz Dent J.* 2000;11(1):3-9.

Estrela C. *Metodologia Científica.* 2 ed. São Paulo: Artes Médicas; 2005.

Faraco IM, Jr., Holland R. Response of the pulp of dogs to capping with mineral trioxide aggregate or a calcium hydroxide cement. *Dent Traumatol.* 2001;17(4):163-6.

Farsi N, Alamoudi N, Balto K, Al Mushayt A. Clinical assessment of mineral trioxide aggregate (MTA) as direct pulp capping in young permanent teeth. *J Clin Pediatr Dent*. 2006;31(2):72-6.

Fava LR, Saunders WP. Calcium hydroxide pastes: classification and clinical indications. *Int Endod J*. 1999;32(4):257-82.

Felman D, Parashos P. Coronal tooth discoloration and white mineral trioxide aggregate. *J Endod*. 2013;39(4):484-7.

Ford TR, Torabinejad M, Abedi HR, Bakland LK, Kariyawasam SP. Using mineral trioxide aggregate as a pulp-capping material. *J Am Dent Assoc*. 1996;127(10):1491-4.

Fridland M, Rosado R. Mineral trioxide aggregate (MTA) solubility and porosity with different water-to-powder ratios. *J Endod*. 2003;29(12):814-7.

Funteas UR, Wallace JA, Fochtman EW. A comparative analysis of Mineral Trioxide Aggregate and Portland cement. *Aust Endod J*. 2003;29(1):43-4.

Gandolfi MG, Taddei P, Tinti A, Prati C. Apatite-forming ability (bioactivity) of ProRoot MTA. *Int Endod J*. 2010;43(10):917-29.

Gomes Cornélio AL, Salles LP, Campos da Paz M, Cirelli JA, Guerreiro-Tanomaru JM, Tanomaru Filho M. Cytotoxicity of Portland cement with different radiopacifying agents: a cell death study. *J Endod*. 2011;37(2):203-10.

Gomes-Filho JE, Rodrigues G, Watanabe S, Estrada Bernabe PF, Lodi CS, Gomes AC, et al. Evaluation of the tissue reaction to fast endodontic cement (CER) and Angelus MTA. *J Endod*. 2009;35(10):1377-80.

Grazziotin-Soares R, Nekoofar MH, Davies TE, Bafail A, Alhaddar E, Hubler R, et al. Effect of bismuth oxide on white mineral trioxide aggregate: chemical characterization and physical properties. *Int Endod J*. In Press. 2013.

Han L, Okiji T. Uptake of calcium and silicon released from calcium silicate-based endodontic materials into root canal dentine. *Int Endod J*. 2011;44(12):1081-7.

Hannuksela M, Salo H. The repeated open application test (ROAT). *Contact Dermatitis*. 1986;14(4):221-7.

Hilton TJ, Ferracane JL, Mancl L. Comparison of CaOH with MTA for direct pulp capping: a PBRN randomized clinical trial. *J Dent Res*. 2013;92(7 Suppl):16S-22S.

Holland R, de Souza V, Nery MJ, Otoboni Filho JA, Bernabe PF, Dezan Junior E. Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tubes filled with mineral trioxide aggregate or calcium hydroxide. *J Endod*. 1999;25(3):161-6.

Holland R, de Souza V, Murata SS, Nery MJ, Bernabe PF, Otoboni Filho JA, et al. Healing process of dog dental pulp after pulpotomy and pulp covering with mineral trioxide aggregate or Portland cement. *Braz Dent J*. 2001a;12(2):109-13.

Holland R, de Souza V, Nery MJ, Faraco Junior IM, Bernabe PF, Otoboni Filho JA, et al. Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tube filled with mineral trioxide aggregate, Portland cement or calcium hydroxide. *Braz Dent J*. 2001b;12(1):3-8.

Holland R, Filho JA, de Souza V, Nery MJ, Bernabe PF, Junior ED. Mineral trioxide aggregate repair of lateral root perforations. *J Endod*. 2001c;27(4):281-4.

Holland R, de Souza V, Nery MJ, Bernabe o F, Filho JA, Junior ED, et al. Calcium salts deposition in rat connective tissue after the implantation of calcium hydroxide-containing sealers. *J Endod*. 2002;28(3):173-6.

Holland R, Mazuqueli L, de Souza V, Murata SS, Dezan Junior E, Suzuki P. Influence of the type of vehicle and limit of obturation on apical and periapical tissue response in dogs' teeth after root canal filling with mineral trioxide aggregate. *J Endod*. 2007;33(6):693-7.

Hsieh SC, Teng NC, Lin YC, Lee PY, Ji DY, Chen CC, et al. A novel accelerator for improving the handling properties of dental filling materials. *J Endod*. 2009;35(9):1292-5.

Hwang YC, Lee SH, Hwang IN, Kang IC, Kim MS, Kim SH, et al. Chemical composition, radiopacity, and biocompatibility of Portland cement with bismuth oxide. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2009;107(3):e96-102.

International Commission on Illumination. Recommendations on uniform colour spaces, colour difference equations, psychometric colour terms. CIE Publication No.15 (E-1.3.1) 1971/(TO-1.3) (Suppl. 15). Bureau Central de la CIE, Paris, France. 1978.

Islam I, Chng HK, Yap AU. Comparison of the physical and mechanical properties of MTA and portland cement. *J Endod*. 2006;32(3):193-7.

Iwamoto CE, Adachi E, Pameijer CH, Barnes D, Romberg EE, Jefferies S. Clinical and histological evaluation of white ProRoot MTA in direct pulp capping. *Am J Dent*. 2006;19(2):85-90.

Jacobovitz M, de Pontes Lima RK. The use of calcium hydroxide and mineral trioxide aggregate on apexification of a replanted tooth: a case report. *Dent Traumatol*. 2009;25(3):e32-6.

Kim EC, Lee BC, Chang HS, Lee W, Hong CU, Min KS. Evaluation of the radiopacity and cytotoxicity of Portland cements containing bismuth oxide. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2008;105(1):e54-7.

Kogan P, He J, Glickman GN, Watanabe I. The effects of various additives on setting properties of MTA. *J Endod*. 2006;32(6):569-72.

Krinke GL. *The Laboratory rat*. London: Academic Press; 2000. p. 3-16.

Laghios CD, Benson BW, Gutmann JL, Cutler CW. Comparative radiopacity of tetracalcium phosphate and other root-end filling materials. *Int Endod J*. 2000;33(4):311-5.

Lee SJ, Monsef M, Torabinejad M. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforations. *J Endod*. 1993;19(11):541-4.

Lenherr P, Allgayer N, Weiger R, Filippi A, Attin T, Krastl G. Tooth discoloration induced by endodontic materials: a laboratory study. *Int Endod J*. 2012;45(10):942-9.

Leonardo MR, da Silva LA, Almeida WA, Utrilla LS. Tissue response to an epoxy resin-based root canal sealer. *Endod Dent Traumatol*. 1999;15(1):28-32.

Leonardo MR, Flores DS, de Paula ESW, de Toledo Leonardo R, da Silva LA. A comparison study of periapical repair in dogs' teeth using RoekoSeal and AH plus root canal sealers: a histopathological evaluation. *J Endod*. 2008;34(7):822-5.

Leyhausen G, Heil J, Reifferscheid G, Waldmann P, Geurtsen W. Genotoxicity and cytotoxicity of the epoxy resin-based root canal sealer AH plus. *J Endod*. 1999;25(2):109-13.

Marciano MA, Estrela C, Mondelli RF, Ordinola-Zapata R, Duarte MA. Analysis of the color alteration and radiopacity promoted by bismuth oxide in calcium silicate cement. *Braz Oral Res*. 2013;27(4):318-23.

Marciano MA, Guimaraes BM, Ordinola-Zapata R, Bramante CM, Cavenago BC, Garcia RB, et al. Physical properties and interfacial adaptation of three epoxy resin-based sealers. *J Endod*. 2011;37(10):1417-21.

Maroto M, Barberia E, Planells P, Garcia Godoy F. Dentin bridge formation after mineral trioxide aggregate (MTA) pulpotomies in primary teeth. *Am J Dent*. 2005;18(3):151-4.

Menezes R, Bramante CM, Letra A, Carvalho VG, Garcia RB. Histologic evaluation of pulpotomies in dog using two types of mineral trioxide aggregate and regular and white Portland cements as wound dressings. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2004;98(3):376-9.

Min KS, Chang HS, Bae JM, Park SH, Hong CU, Kim EC. The induction of heme oxygenase-1 modulates bismuth oxide-induced cytotoxicity in human dental pulp cells. *J Endod*. 2007;33(11):1342-6.

Moretton TR, Brown CE, Jr., Legan JJ, Kafrawy AH. Tissue reactions after subcutaneous and intraosseous implantation of mineral trioxide aggregate and ethoxybenzoic acid cement. *J Biomed Mater Res*. 2000;52(3):528-33.

Nakamichi I, Iwaku M, Fusayama T. Bovine teeth as possible substitutes in the adhesion test. *J Dent Res*. 1983;62(10):1076-81.

Nowicka A, Lipski M, Parafiniuk M, Sporniak-Tutak K, Lichota D, Kosierkiewicz A, et al. Response of human dental pulp capped with biodentine and mineral trioxide aggregate. *J Endod*. 2013;39(6):743-7.

Okabe T, Sakamoto M, Takeuchi H, Matsushima K. Effects of pH on mineralization ability of human dental pulp cells. *J Endod*. 2006;32(3):198-201.

Pacios MG, de la Casa ML, de los Angeles Bulacio M, Lopez ME. Calcium hydroxide's association with different vehicles: In vitro action on some dentinal components. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2003;96(1):96-101.

Parirokh M, Asgary S, Eghbal MJ, Stowe S, Eslami B, Eskandarizade A, et al. A comparative study of white and grey mineral trioxide aggregate as pulp capping agents in dog's teeth. *Dent Traumatol*. 2005;21(3):150-4.

Parirokh M, Torabinejad M. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review--Part I: chemical, physical, and antibacterial properties. *J Endod*. 2010;36(1):16-27.

Parsons JR, Walton RE, Ricks-Williamson L. In vitro longitudinal assessment of coronal discoloration from endodontic sealers. *J Endod*. 2001;27(11):699-702.

Pharmacopeia US. United States Pharmacopeia; 1989.

Piconi C, Maccauro G. Zirconia as a ceramic biomaterial. *Biomaterials*. 1999;20(1):1-25.

Pires-de-Souza Fde C, Garcia Lda F, Roselino Lde M, Naves LZ. Color stability of silorane-based composites submitted to accelerated artificial ageing--an in situ study. *J Dent*. 2011;39 Suppl 1:e18-24.

Ribeiro DA, Carlin V, Fracalossi AC, Oyama LM. Radiopacifiers do not induce genetic damage in murine fibroblasts: an in vitro study. *Int Endod J*. 2009;42(11):987-91.

Ribeiro DA, Sugui MM, Matsumoto MA, Duarte MA, Marques ME, Salvadori DM. Genotoxicity and cytotoxicity of mineral trioxide aggregate and regular and white Portland cements on Chinese hamster ovary (CHO) cells in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006;101(2):258-61.

Rodriguez Sosa SA. Reação histopatológica do tecido conjuntivo do dorso de ratos irradiado com laser de CO₂ ou de Er:YAG. Araraquara: (Disseração Mestrado) Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista; 2004. p. 98.

Saidon J, He J, Zhu Q, Safavi K, Spangberg LS. Cell and tissue reactions to mineral trioxide aggregate and Portland cement. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2003;95(4):483-9.

Salem Milani A, Froughreyhani M, Charchi Aghdam S, Pournaghiazar F, Asghari Jafarabadi M. Mixing with Propylene Glycol Enhances the Bond Strength of Mineral Trioxide Aggregate to Dentin. *J Endod*. 2013;39(11):1452-5.

Saliba E, Abbassi-Ghadi S, Vowles R, Camilleri J, Hooper S, Camilleri J. Evaluation of the strength and radiopacity of Portland cement with varying additions of bismuth oxide. *Int Endod J*. 2009;42(4):322-8.

Santos AD, Moraes JC, Araujo EB, Yukimitu K, Valerio Filho WV. Physico-chemical properties of MTA and a novel experimental cement. *Int Endod J*. 2005;38(7):443-7.

Sarkar NK, Caicedo R, Ritwik P, Moiseyeva R, Kawashima I. Physicochemical basis of the biologic properties of mineral trioxide aggregate. *J Endod*. 2005;31(2):97-100.

Schilke R, Lisson JA, Bauss O, Geurtsen W. Comparison of the number and diameter of dentinal tubules in human and bovine dentine by scanning electron microscopic investigation. *Arch Oral Biol*. 2000;45(5):355-61.

Seidenfeld M. A. HPJ. The general properties, actions and toxicity of propylene glycol. . *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1932;44:109-21.

Shahi S, Rahimi S, Yavari HR, Mokhtari H, Roshangar L, Abasi MM, et al. Effect of mineral trioxide aggregates and Portland cements on inflammatory cells. *J Endod*. 2010;36(5):899-903.

Silva GF, Bosso R, Ferino RV, Tanomaru-Filho M, Bernardi MI, Guerreiro-Tanomaru JM, et al. Microparticulated and nanoparticulated zirconium oxide added to calcium silicate cement: evaluation of physicochemical and biological properties. *J Biomed Mater Res A*. In Press. 2014.

Song JS, Mante FK, Romanow WJ, Kim S. Chemical analysis of powder and set forms of Portland cement, gray ProRoot MTA, white ProRoot MTA, and gray MTA-Angelus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006;102(6):809-15.

Tagger M, Katz A. Radiopacity of endodontic sealers: development of a new method for direct measurement. *J Endod*. 2003;29(11):751-5.

Tanomaru-Filho M, Chaves Faleiros FB, Sacaki JN, Duarte MA, Guerreiro-Tanomaru JM. Evaluation of pH and calcium ion release of root-end filling materials containing calcium hydroxide or mineral trioxide aggregate. *J Endod*. 2009;35(10):1418-21.

Torabinejad M, Hong CU, McDonald F, Pitt Ford TR. Physical and chemical properties of a new root-end filling material. *J Endod*. 1995a;21(7):349-53.

Torabinejad M, Hong CU, Pitt Ford TR, Kaiyawasam SP. Tissue reaction to implanted super-EBA and mineral trioxide aggregate in the mandible of guinea pigs: a preliminary report. *J Endod*. 1995b;21(11):569-71.

Torabinejad M, Hong CU, Pitt Ford TR, Kettering JD. Antibacterial effects of some root end filling materials. *J Endod*. 1995c;21(8):403-6.

Torabinejad M. Tooth filling material and use. Patent Number, 5,769,638; May. 1995.

Vaghela DJ, Kandaswamy D, Venkateshbabu N, Jamini N, Ganesh A. Disinfection of dentinal tubules with two different formulations of calcium hydroxide as compared to 2% chlorhexidine: As intracanal medicaments against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*: An in vitro study. *J Conserv Dent*. 2011;14(2):182-6.

Valles M, Mercade M, Duran-Sindreu F, Bourdelande JL, Roig M. Color stability of white mineral trioxide aggregate. *Clin Oral Investig*. 2013a;17(4):1155-9.

Valles M, Mercade M, Duran-Sindreu F, Bourdelande JL, Roig M. Influence of Light and Oxygen on the Color Stability of Five Calcium Silicate-based Materials. *J Endod*. 2013b;39(4):525-8.

van der Burgt TP, Plasschaert AJ. Tooth discoloration induced by dental materials. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1985;60(6):666-9.

Viapiana R, Flumignan DL, Guerreiro-Tanomaru JM, Camilleri J, Tanomaru-Filho M. Physicochemical and mechanical properties of zirconium oxide and niobium oxide modified Portland cement-based experimental endodontic sealers. *Int Endod J*. 2013.

Vitti RP, Prati C, Silva EJ, Sinhoreti MA, Zanchi CH, de Souza e Silva MG, et al. Physical properties of MTA Fillapex sealer. *J Endod*. 2013;39(7):915-8.

Vivan RR, Zapata RO, Zeferino MA, Bramante CM, Bernardineli N, Garcia RB, et al. Evaluation of the physical and chemical properties of two commercial and three experimental root-end filling materials. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2010;110(2):250-6.

von Arx T, Jensen SS, Hanni S, Friedman S. Five-year longitudinal assessment of the prognosis of apical microsurgery. *J Endod*. 2012;38(5):570-9.

Wu MK, Wesselink PR, Boersma J. A 1-year follow-up study on leakage of four root canal sealers at different thicknesses. *Int Endod J*. 1995;28(4):185-9.

Zalkind M, Hochman N. Direct core buildup using a preformed crown and prefabricated zirconium oxide post. *J Prosthet Dent*. 1998;80(6):730-2.

Zeferino EG, Bueno CE, Oyama LM, Ribeiro DA. Ex vivo assessment of genotoxicity and cytotoxicity in murine fibroblasts exposed to white MTA or white Portland cement with 15% bismuth oxide. *Int Endod J*. 2010;43(10):843-8.

Zhang W, Li Z, Peng B. Ex vivo cytotoxicity of a new calcium silicate-based canal filling material. *Int Endod J*. 2010;43(9):769-74.

ANEXO A – Carta de Aprovação no Comitê de Ética em Pesquisa em Animais da Faculdade de Odontologia de Bauru.

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru
Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 – Bauru-SP – CEP 17012-901 – C.P. 73
PABX (0XX14)3235-8000 – FAX (0XX14)3223-4679

Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais
Fone: (14)3235-8356
e-mail: mferrari@fob.usp.br

CEEPA-Proc. Nº 020/2011

Bauru, 22 de agosto de 2011.

Senhor Professor,

O projeto de pesquisa encaminhado a esta Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais, denominado **Propriedades físico-químicas e biológicas de cimento obturador experimental à base de Portland associado a diferentes radiopacificadores**, de autoria de Marina Angélica Marciano da Silva, sob sua orientação foi enviado ao relator para avaliação e considerado APROVADO em reunião desta Comissão realizada nesta data.

Solicitamos que ao final da pesquisa seja enviado, para avaliação desta Comissão, um Relatório com os resultados obtidos para análise ética e emissão de parecer final, o qual poderá ser utilizado para fins de publicação científica.

Atenciosamente,

Prof. Dr. Gustavo Pompermaier Garlet
Presidente da Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais

Prof. Dr. Marco Antonio Hungaro Duarte
Docente do Departamento de Dentística, Endodontia e Materiais Dentários