

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA  
MESTRADO EM ODONTOLOGIA  
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO CLÍNICA ODONTOLÓGICA/ENDODONTIA**

**Eloísa Assmann**

**AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO BIOLÓGICO DO CIMENTO  
ENDODÔNTICO MTA FILLAPEX EM TECIDO ÓSSEO DE RATOS**

**Porto Alegre**

**2013**

**AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO BIOLÓGICO DO CIMENTO  
ENDODÔNTICO MTA FILLAPEX EM TECIDO ÓSSEO DE RATOS**

**Eloísa Assmann**

**Dissertação de Mestrado apresentado  
ao Programa de Pós-Graduação em  
Odontologia, Nível Mestrado, da  
Universidade Federal do Rio Grande  
do Sul, como pré-requisito final para a  
obtenção do título de Mestre em  
Odontologia – Clínica Odontológica /  
Endodontia.**

**Linha de Pesquisa:** Biomateriais e  
Técnicas Terapêuticas em Odontologia.

**Orientador: Prof. Dra. Patrícia Maria Poli Kopper Mora**

**Porto Alegre  
2013**

CIP - Catalogação na Publicação

Assmann, Eloisa

Avaliação do comportamento biológico do cimento MTA  
Fillapex em tecido ósseo de ratos / Eloisa Assmann. --  
2013.

54 f.

Orientador: Patrícia Maria Poli Kopper Móra.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Odontologia,  
Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Porto  
Alegre, BR-RS, 2013.

1. Teste de Biocompatibilidade. 2. Tecido Ósseo.  
3. Endodontia. 4. Cimentos Dentários. I. Móra,  
Patrícia Maria Poli Kopper , orient. II. Título.

Dedico este trabalho aos meus pais, **Carlos e Elga**,  
pelo incentivo, dedicação, apoio e amor incondicional.

Vocês são meu exemplo de uma vida de amor,  
carinho, dedicação, lealdade e sucesso profissional.  
Vocês me ensinaram os valores mais importantes dessa vida,  
amor, família, lealdade, honestidade, carinho e respeito.

Esses valores influenciam minha conduta,  
meu caráter e minha vida.

Obrigada por tudo, amo vocês!

## AGRADECIMENTOS

---

Agradeço a **Deus**, por me dar forças para seguir em frente diante dos desafios dessa vida.

Ao meu grande amor **Gustavo**, meu companheiro em todos os momentos bons e ruins, que me dá apoio, força, carinho e muito amor. Você e nossa pequena cachorrinha **Felícia** tornam meus dias mais alegres. Obrigada por estar sempre ao meu lado. E aos seus familiares, que sempre nos apoiam.

À minha irmã **Maíra**, por sua amizade, sua parceria e por ter a certeza que poderemos contar sempre uma com a outra.

Aos meus amigos, que tornam minha vida mais completa e feliz, em especial àqueles que me acompanham de longa data, **Roberto, Marília, Raquel e Rafael, Andiará e Jorge**. É muito bom saber que posso contar com o apoio de vocês em todos os momentos.

Às primas, **Laura, Taline** e seu marido **Maicon**, que sempre estiveram por perto aqui em Porto Alegre me dando apoio.

A todos os meus **familiares**, que acompanham todas as fases da minha vida, tornando-a mais completa e feliz.

A todos aqueles que estiveram ao meu lado durante a trajetória do mestrado, sem os quais este trabalho não seria possível.

À minha orientadora **Patrícia Maria Poli Kopper Mora**, pela confiança em mim depositada ao assumir a orientação, pelo seu auxílio, empenho, profissionalismo e compreensão.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro durante o mestrado.

Às minhas colegas do mestrado, as “ENDOGIRLS” **Alessandra Tolfo Ledur Vaucher, Aline Martins Justo, Carolina Bender Hoppe e Ludmila Moraes**, por terem sido muito mais do que colegas. Vocês foram amigas, confidentes, companheiras, parceiras. Vocês são pessoas especiais e iluminadas que eu quero levar para a minha vida.

Aos colegas de pós-graduação do doutorado, em especial à **Daiana Böttcher**, que muito me ajudou, tanto na parte prática, como teórica deste trabalho.

Às minhas companheiras de pesquisa, que muito ajudaram na parte prática deste trabalho, **Fabiana Soares Grecca, Carolina Bender Hoppe, Daiana Böttcher e Patrícia Maria Poli Kopper Móra**.

Aos professores de Endodontia, **Régis Burmeister dos Santos, João Ferlini Filho, Fabiana Soares Grecca, Francisco Montagner, Simone Bonato Luisi, Augusto Bodanezi, Marcus Vinicius Reis Só, Patrícia Maria Poli Kopper Móra**, por serem mestres, amigos, companheiros e fonte de inspiração profissional pelo seu amor à Endodontia.

À secretária da Endodontia, **Andréia**, por estar sempre pronta para nos ajudar, para oferecer palavras de conforto ou até mesmo um cafezinho.

Aos professores do programa de pós-graduação em Odontologia da UFRGS.

Aos colegas de mestrado das diversas áreas de concentração do programa.

Aos professores **José Antônio Poli de Figueiredo, Anna Christina Medeiros Fossatti, Roberta Kochenborger Scarparo e Augusto Bodanezi**, por aceitarem o convite para participar da banca examinadora deste trabalho e por serem excelentes mestres e profissionais.

Aos responsáveis e colaboradores da Unidade de experimentação animal do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (**UEA/HCPA**), em especial à veterinária **Fabiola Schons Meyer** e enfermeira **Marta**, pelos cuidados despendidos com os animais utilizados nessa pesquisa e pelos ensinamentos com a manipulação. E à técnica do laboratório de patologia, **Flávia**, pelo auxílio na confecção das lâminas.

À Patologista **Ana Luiza Carvalho**, por estar sempre disposta a me ajudar e me orientar na avaliação das lâminas deste trabalho.

Agradeço a todos que fizeram parte desta caminhada e que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

## AGRADECIMENTO ESPECIAL

---

À minha avó **Serena Aninha Assmann**, que nos deixou há alguns dias, por ter sido uma grande vó, amiga e companheira. Por estar ao meu lado em todos os momentos da minha vida, vibrando e torcendo pelas minhas conquistas, sempre com muito amor e orgulho. Por ter sido uma guerreira, por ter se dedicado a cuidar tão bem de todos que ela amava. Por receber seus netos com muito carinho em sua casa, acompanhada sempre de muitas coisas boas, doces e salgados, com o único objetivo de reunir e integrar a família. Por ter me ensinado a apreciar um bom chimarrão desde pequena, não apenas pelo chimarrão, mas pelos momentos de união, conversas e reflexão que ele proporciona.

Obrigada por tudo, você foi muito importante na minha vida. Guardarei boas lembranças com muito carinho e amor.

Descanse em paz.

“Quando os ventos de mudança sopram,  
umas pessoas levantam barreiras,  
outras constroem moinhos de vento.”

(Érico Veríssimo)



## RESUMO

---

**Introdução:** A biocompatibilidade é uma propriedade importante e necessária a um cimento endodôntico. O objetivo do presente estudo foi fazer uma análise microscópica das reações do tecido ósseo do fêmur de ratos da linhagem Wistar frente ao cimento MTA Fillapex, comparando-as ao cimento AH Plus e ao grupo controle (cavidade vazia), nos períodos de 7, 30 e 90 dias. **Materiais e Métodos:** Foram utilizados 18 animais, divididos em 3 grupos, de acordo com o período experimental (n=6). Três cavidades foram preparadas no fêmur da pata traseira direita de cada animal, sendo que uma foi preenchida com AH Plus, a outra com MTA Fillapex e a última permaneceu vazia (controle negativo). Decorridos os períodos experimentais, os ratos foram mortos e as patas removidas, dissecadas e preparadas para análise histológica. Os cortes foram analisados em microscópio óptico. O infiltrado inflamatório e as zonas de calcificação foram avaliados de forma dicotômica (presente ou ausente). A formação de barreira óssea foi classificada como ausente, parcial ou completa. Testes estatísticos não-paramétricos foram utilizados para a comparação dos dados ( $p < 0,05$ ). **Resultados:** As comparações entre os períodos experimentais mostraram que aos 7 dias todos os grupos apresentaram menor formação de barreira óssea e que o MTA Fillapex apresentou mais áreas de calcificação em relação aos demais períodos. Nos grupos do AH Plus e do MTA Fillapex, o infiltrado inflamatório reduziu significativamente aos 90 dias. As comparações entre os grupos mostraram mais áreas de calcificação no grupo do AH Plus aos 30 e 90 dias. O grupo controle apresentou menos infiltrado inflamatório aos 30 dias. Não houve diferença significativa entre os grupos na formação de barreira óssea. **Conclusões:** O cimento endodôntico MTA Fillapex apresentou comportamento biológico satisfatório em contato direto com tecido ósseo de rato. As características do reparo foram semelhantes às do cimento AH Plus, porém o MTA Fillapex não induziu a formação de áreas de calcificação na medula óssea.

**Palavras-Chave:** Teste de Biocompatibilidade, Tecido ósseo, Endodontia, Cimentos Dentários.

## ABSTRACT

---

**Introduction:** Biocompatibility is an important property required for an endodontic sealer. This study aimed to analyze bone tissue reactions to MTA Fillapex compared to an epoxy resin-based material in the femur of Wistar rats. **Methods:** Bone tissue reactions were evaluated in 18 animals after 7, 30 and 90 days (n=6 per period). Three surgical cavities were prepared on femur and filled with 0.1 mL of AH Plus, MTA Fillapex or no sealer (negative control). By the end of each experimental period, six animals were randomly euthanized, the femur was dissected and the surgical cavities separated. The samples were histologically processed and analyzed by light microscope. Inflammatory infiltrate and the calcification zones were evaluated dichotomously; hard tissue barrier was classified as absent, partial or full. **Results:** Comparison among periods showed that at 7 days all groups presented less hard tissue barrier and MTA Fillapex showed more calcification zones than in other periods. The inflammatory infiltrate significantly reduced at 90 days in AH Plus and MTA Fillapex groups. Comparisons among the groups presented more calcification zones for AH Plus than for the other groups at 30 and 90 days. Control group showed less inflammatory infiltrate at 30 days. There were no significant differences to hard tissue barrier among the groups. Data were analyzed by non-parametric tests. Significance level was preset in 0.05. **Conclusions:** MTA Fillapex presented satisfactory biological behaviour when in direct contact with rat bone tissue. The repair characteristics were similar to those produced by AH Plus, but MTA Fillapex doesn't induce mineralization in the bone marrow.

**Keywords:** Biocompatibility Testing, Bone, Endodontics, Dental Cements.

## SUMÁRIO

---

<b>1 APRESENTAÇÃO</b> .....	<b>10</b>
<b>2 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>11</b>
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	<b>23</b>
3.1 Objetivo Geral .....	23
3.2 Objetivos Específicos .....	23
<b>ARTIGO</b> .....	<b>24</b>
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>38</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>40</b>
<b>ANEXO 1 – Carta de aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais</b> .....	<b>46</b>
<b>ANEXO 2 – Figura 1 do artigo (ampliada e colorida)</b> .....	<b>47</b>
<b>ANEXO 3 – Figura 2 do artigo (ampliada e colorida)</b> .....	<b>48</b>
<b>ANEXO 4 – Figura 3a do artigo (ampliada)</b> .....	<b>49</b>
<b>ANEXO 5 –Figura 3b do artigo (ampliada)</b> .....	<b>50</b>
<b>ANEXO 6 – Figura 3c do artigo (ampliada)</b> .....	<b>51</b>
<b>ANEXO 7 – Figura 3d do artigo (ampliada)</b> .....	<b>52</b>
<b>ANEXO 8 –Figura 3e do artigo (ampliada)</b> .....	<b>53</b>
<b>ANEXO 9 – Figura 3f do artigo (ampliada)</b> .....	<b>54</b>

## 1 APRESENTAÇÃO

---

A presente dissertação teve como foco de estudo o comportamento biológico do cimento endodôntico MTA Fillapex em tecido ósseo de ratos Wistar.

Esta dissertação de mestrado está estruturada da seguinte maneira:

- Introdução, enfatizando os pontos principais deste estudo;
- Artigo: "EVALUATION OF RAT BONE TISSUE RESPONSE TO MTA FILLAPEX" a ser submetido para o periódico Journal of Endodontics;
- Considerações finais.

## 2 INTRODUÇÃO

---

A obturação do canal radicular é um procedimento de fundamental importância no tratamento endodôntico. Consiste no preenchimento da porção modelada do canal com materiais inertes ou antissépticos que promovam um selamento tridimensional e que estimulem ou, pelo menos, não interfiram no processo de reparo (SOARES; GOLDBERG, 2011). Nesta fase, visa-se à eliminação de espaços vazios, originalmente ocupados pela polpa dental, que podem servir de nichos para a proliferação de microrganismos que resistiram ao preparo do canal (infecção persistente) ou que, em momento posterior, possam ganhar acesso a esses espaços (infecção secundária) (SIQUEIRA JR *et al.*, 2011).

A obturação do sistema de canais é uma combinação de técnica e seleção de materiais obturadores (SIQUEIRA JR *et al.*, 2011). Atualmente encontra-se disponível no mercado uma grande variedade de produtos utilizados para esse fim, o que denota a inexistência de um material obturador ideal. As deficiências evidenciadas nos diversos produtos têm sido, em parte, superadas pelo emprego concomitante de materiais em estado sólido (cones de guta-percha) e em estado plástico (cimentos) (SOARES; GOLDBERG, 2011). O cimento tem a finalidade de ocupar os espaços entre a guta-percha e as paredes do canal radicular, assim como aqueles entre os próprios cones de guta-percha (SKINNER; HIMEL, 1987; SOARES; GOLDBERG, 2011).

Sabe-se que o objetivo final do tratamento endodôntico é propiciar condições para o reparo dos tecidos periapicais, invariavelmente agredidos, seja por patologias preexistentes, seja pelos próprios procedimentos operatórios (SOARES; GOLDBERG, 2011). Após a obturação, pode ocorrer a deposição de um tecido conjuntivo fibroso entre o material obturador e os tecidos periapicais. Em condições muito favoráveis, na região do forame apical, pode ocorrer um selamento biológico, havendo a deposição de cimento, isolando o material obturador dos tecidos periapicais. Em circunstâncias desfavoráveis, que dificultam a eliminação da infecção e outros fatores de agressão, como por exemplo, a presença de corpos

estranhos, o processo de reparo não se completa e um tecido conjuntivo frouxo cronicamente inflamado permanece na região (SOARES; GOLDBERG, 2011).

No tempo necessário à observação do pleno reparo, inclui-se aquele destinado à substituição do osso primário por secundário. De fato, como nos reparos ósseos de um modo geral, o tecido ósseo inicialmente formado possui fibras colágenas em disposição desordenada, grande quantidade de osteócitos e é menos calcificado, caracterizando-se como osso primário. Ao longo do tempo, com o dente retornando à atividade, os estímulos fisiológicos provocarão a substituição deste por um tecido ósseo secundário, do tipo lamelar, com colágeno orientado, menos células inclusas na matriz e mineralização plena (SOARES; GOLDBERG, 2011).

Todas as fases de um tratamento endodôntico devem ser encaradas com a mesma atenção e importância, por serem consideradas como atos operatórios interdependentes. Entretanto, mais recentemente, tem sido dada uma ênfase maior a uma resposta biológica pós-tratamento, representada pelo selamento apical por meio da deposição de tecido mineralizado, ou mesmo por tecido fibroso de reparação (LEONARDO, LEAL, 2008). A indução desse selamento apical biológico, porém, está condicionada à correta execução de todas as fases do tratamento endodôntico e fatores importantes, como a natureza do material obturador, uma vez que o mesmo ficará em contato direto com os tecidos apicais e periapicais (LEONARDO, LEAL, 2008).

De acordo com Grossman (1958), um cimento endodôntico idealmente deve ser de fácil manipulação e aplicação no canal, apresentar boa estabilidade dimensional, impermeabilidade e aderência, ter um bom escoamento, uma adequada radiopacidade, não alterar a cor do dente, possuir ação antibacteriana, não interferir com os cimentos para fixação de retentores intrarradiculares, ser passível de ser removido parcial ou totalmente e, além disso, deve apresentar biocompatibilidade.

Como salientado, além de propriedades físicas favoráveis que permitam o fácil uso do material obturador e a obtenção de um selamento adequado, é importante considerar o seu comportamento biológico, arguindo-se sobre a sua capacidade de estimular ou propiciar condições favoráveis ao reparo. O material obturador deve ser inerte ou capaz de induzir a mineralização apical, antecipando ou

induzindo o selamento biológico do forame radicular, considerado como a resposta ideal ao tratamento endodôntico (LEONARDO, LEAL, 2008; SOARES; GOLDBERG, 2011).

Definições de biocompatibilidade envolvem a resposta desejável esperada do tratamento, resultante das interações entre o material e os sistemas biológicos (WILLIAMS, 2008). No que tange a esta propriedade, até o presente, todos os cimentos endodônticos disponíveis causam um certo grau de agressão aos tecidos circundantes. Neste sentido, antes de ser empregado para a obturação dos canais radiculares, investigações criteriosas devem ser realizadas para averiguar se um determinado material apresenta comportamento biológico adequado ou não (SOARES; GOLDBERG, 2011; SIQUEIRA JR *et al.*, 2011; JOHNSON, KULILD, 2011).

Para investigar a biocompatibilidade dos materiais obturadores, diferentes metodologias, *in vitro* e *in vivo*, têm sido empregadas. Dentre elas, destacam-se os testes de implantação subcutânea e intraóssea (TORABINEJAD; PARIROKH, 2010). Os testes secundários de compatibilidade biológica, ou seja, testes *in vivo*, são importantes pois permitem, dentro de determinados limites, a projeção da reação dos tecidos diretamente envolvidos no tratamento endodôntico (SCARPARO; FACHIN; GRECCA, 2009).

Alguns cimentos endodônticos são irritantes aos tecidos remanescentes apicais e periapicais. Observa-se com frequência, adjacente a esses materiais, uma área com inflamação de magnitude variável, provocada pelos mesmos. Essa irritação, somando-se à inflamação já existente em decorrência do próprio processo patológico, bem como, em resposta à agressão ocasionada pelas etapas operatórias do tratamento, pode levar o tecido conjuntivo apical e periapical a perdas de extensões variáveis. Assim, a resposta inflamatória, quando persistente após a obturação, ao invés de cumprir o seu papel de defesa e auxiliar na reparação tecidual, poderá agir inibindo o processo de reparação devido aos seus componentes lesivos (LEONARDO, LEAL, 2008).

Em 1932, Orban já demonstrava as desvantagens dos materiais obturadores de canais radiculares irritantes. Holland *et al.* (1979), observaram que o tipo de material empregado para a obturação dos canais tem grande influência no processo

de reparo, pois a maioria deles proporciona a persistência de um infiltrado inflamatório do tipo crônico junto aos tecidos periapicais. Além disso, o extravasamento do material obturador pode causar sintomas agudos transitórios, seguidos por reparação normal, reparação retardada ou reação de corpo estranho, dependendo de sua toxicidade e resistência à desintegração.

Os cimentos à base de óxido de zinco e eugenol (como, por exemplo, Endofill, Fillcanal) são amplamente utilizados. Porém, apesar de possuírem boas propriedades físico-químicas, não apresentam um comportamento favorável no que se refere à biocompatibilidade. Sua ação sobre tecidos subcutâneos de ratos revelou a presença de processo inflamatório crônico, levando à injúria tecidual, atribuída à presença de eugenol livre que pode permanecer por períodos prolongados de tempo, atuando como depressor celular (SOARES; GOLDBERG, 2011). Scarparo, Grecca e Fachin (2009), comprovaram que estes cimentos possuem características agressivas aos tecidos vivos. No estudo de Figueiredo *et al.* (2001), o cimento Fillcanal foi mais agressivo aos tecidos do que o Sealer 26, AH 26 e N-Rickert. No trabalho de Batista *et al.* (2007), o Endofill foi o cimento mais irritante ao tecido subcutâneo de ratos em comparação com os cimentos Endomethasone, Sealer 26 e AH Plus. Este material ocasionou uma reação inflamatória, moderada a intensa, durante todo o período experimental (7, 14 e 30 dias).

O AH Plus (Dentsply De Trey GmbH, Konstanz, Germany) é um cimento resinoso, criado a partir de modificações na fórmula do cimento AH 26, e que tem sido amplamente estudado e utilizado. Possui baixa citotoxicidade (SCHWARZE; LEYHAUZEN; GEURSTEN, 2002; OZTAN *et al.*, 2003; AL-HIYASAT; TAYYAR; DARMANI, 2010) e tem apresentado boa capacidade de selamento quando comparado com outros materiais (HAIKEL *et al.*, 1999; DE ALMEIDA *et al.*, 2000; PEREIRA *et al.*, 2007; KOPPER *et al.*, 2006; KOPPER *et al.*, 2003; BIER *et al.*, 2003). Trata-se de um cimento à base de resina tipo epóxi-amina cuja forma de apresentação é pasta/pasta em dois tubos de 4 mL cada. É indicada a proporção de partes iguais da pasta A e da pasta B para o seu preparo. De acordo com o fabricante, o tempo de trabalho é de 4 horas a 23°C e o tempo de endurecimento de 8 horas a 37°C. Quanto à biocompatibilidade, estudos em tecido subcutâneo de ratos demonstraram que o AH Plus exibiu um infiltrado inflamatório semelhante ao grupo controle, havendo uma tendência de redução do processo inflamatório durante



os períodos experimentais (SCARPARO, GRECCA E FACHIN, 2009; TAVARES *et al.*, 2013). Por ser um cimento já bastante estudado e pesquisado, e por apresentar bons resultados, o AH Plus tem sido empregado nos estudos como parâmetro de comparação.

O cimento de Agregado de Trióxido Mineral (MTA) tem sido estudado e demonstra possuir muitas propriedades de um material selador ideal. É um pó que possui como principais componentes o silicato tricálcico, aluminato tricálcico, óxido tricálcico, óxido silicato e óxido de bismuto (TORABINEJAD *et al.*, 1995a). Sua capacidade de selamento em retrobturações e perfurações tem sido superior a de outros materiais, bem como sua resposta histológica (PITT FORD *et al.*, 1996; TORABINEJAD *et al.*, 1995a). Além disso, tem mostrado desempenho superior ao hidróxido de cálcio em capeamento pulpar direto (HILTON, FERRACANE, MANCL, 2013). Os resultados de estudos que investigaram as propriedades biológicas demonstram que o MTA fornece uma resposta tecidual favorável, caracterizada por ausência de inflamação severa, presença de cápsula fibrosa e indução de formação de tecido duro (BERNABÉ *et al.*, 2005; GOMES-FILHO *et al.*, 2009). Este cimento também impede a penetração bacteriana e infiltração por corantes melhor que o Super EBA, amálgama ou IRM, quando empregado como material retrobturador (TORABINEJAD; PARIROHK, 2010). Em uma revisão de literatura a respeito da biocompatibilidade do MTA, em contato com tecido ósseo, em comparação com outros materiais, foi constatado que a intensidade da resposta inflamatória foi relativamente suave (TORABINEJAD; PARIROHK, 2010). Em função das características favoráveis, como a excelente biocompatibilidade, bioatividade e osteocondutibilidade, há grande interesse em desenvolver cimentos endodônticos com MTA na sua composição.

Apesar do MTA apresentar propriedades favoráveis que justificam seu uso, há algumas limitações em relação às suas características físicas, o que dificulta a sua utilização como cimento obturador. Ele é um material de difícil manipulação, apresenta consistência granular (ISLAM; CHNG; YAP, 2006) e tempo de presa extenso (CHNG *et al.*, 2005; KOGAN *et al.*, 2006).

Buscando superar as referidas limitações do MTA, foi introduzido no mercado, em 2010, o cimento endodôntico MTA Fillapex (Ângelus Industria de Produtos

Odontológicos Ltda, Londrina, Brasil). Segundo o fabricante, ele apresenta, em sua composição, resina salicilato, resina diluente, resina natural, óxido de bismuto, sílica nanoparticulada, agregado de trióxido mineral e pigmentos. Seu tempo de trabalho é de 30 minutos e o tempo mínimo de presa é de 120 minutos.

Conforme anunciado pelo fabricante, o MTA Fillapex é um cimento endodôntico à base de MTA. Entretanto, estudos recentes evidenciam que este, apesar de conter MTA, é à base de resina de salicilato (VIVIAN *et al.*, 2013; ROSA *et al.*, 2013).

De acordo com o fabricante, as principais vantagens do MTA Fillapex são a presença do MTA na fórmula, permitindo a formação de um novo tecido; a biocompatibilidade; a alta radiopacidade; o excelente escoamento, penetrando no canal e preenchendo também canais laterais; expansão de presa, promovendo o selamento do canal radicular, evitando a penetração de fluidos tissulares e a recontaminação bacteriana; a liberação de íons cálcio, o que induz a rápida regeneração tecidual em locais com lesão óssea e atividade microbiana; o sistema pasta x pasta, permitindo uma facilidade de manipulação e inserção; tempo de trabalho adequado; e fácil remoção em casos de retratamento. Além disso, por possuir MTA em sua composição, o fabricante afirma que este cimento apresenta pH alcalino e libera íons cálcio (ANGELUS, 2013).

Com o objetivo de investigar as propriedades físicas, químicas e biológicas relacionadas pelo fabricante a respeito do MTA Fillapex, diversas pesquisas estão sendo desenvolvidas.

Quando o MTA Fillapex ainda estava em fase experimental, Bernardes *et al.* (2010), observaram que o AH Plus apresentou maior escoamento quando comparado aos cimentos Sealer 26 (cimento à base de resina epóxica com hidróxido de cálcio) e MTA Obtura (denominação atribuída ao MTA Fillapex antes de ser lançado no Mercado). Entretanto, em um estudo mais recente, Silva *et al.* (2013) verificaram que o MTA Fillapex apresentou escoamento de 31,09 mm, sendo superior ao observado para o AH Plus (25,80 mm). Cabe salientar que nos dois estudos citados, ambos os cimentos apresentaram valores aceitáveis de acordo com as recomendações da ISO 6786/2001, em que o mínimo exigido para os cimentos é de 20 mm.

Em relação à radiopacidade, o MTA Fillapex obteve os menores valores quando comparado ao AH Plus, Sealer 26 e Sealapex, sendo o AH Plus o mais radiopaco entre esses (BICHERI; VICTORINO, 2013). Concordando com estes achados, Silva *et al.* (2013) também verificaram menor radiopacidade para o MTA Fillapex em comparação ao AH Plus. Entretanto, apesar de menos radiopaco, os valores de radiopacidade apresentados pelo MTA Fillapex foram superiores ao mínimo exigido pela ANSI/ADA (1984).

Quanto às propriedades físicas, o MTA Fillapex apresentou os valores mais baixos de escoamento, tempo de trabalho e tempo de presa inicial e final, quando comparado ao AH Plus. A solubilidade e a absorção de água do AH Plus também foram significativamente maiores do que as do MTA Fillapex. Apesar dos resultados mais favoráveis do AH Plus, os autores relatam que o MTA Fillapex apresentou propriedades físicas adequadas para um cimento endodôntico (VITTI *et al.*, 2013). Quando a resistência ao deslocamento foi avaliada, o MTA Fillapex apresentou resultados aceitáveis e similares ao AH Plus (ASSMANN *et al.*, 2012).

Zhou *et al.* (2013) também investigaram as propriedades físicas do MTA Fillapex, comparadas com as dos cimentos Endosequence BC (biocerâmico), AH Plus, ThermaSeal, Guttaflow e Pulp Canal Sealer. O MTA Fillapex apresentou escoamento maior que o Endosequence BC. O MTA Fillapex e Endosequence BC apresentaram maior espessura de filme entre as amostras testadas. Em todos os períodos, o MTA Fillapex e o Endosequence BC apresentaram um pH alcalino. A viscosidade dos cimentos testados aumentou com a diminuição da velocidade de injeção. Foi concluído que os cimentos testados são pseudoplásticos, de acordo com suas viscosidades. Os cimentos MTA Fillapex e o Endosequence BC possuem escoamento e estabilidade dimensional comparáveis, mas maior espessura de filme e solubilidade do que os outros cimentos testados.

O uso de materiais com pH alcalino e liberação de íons cálcio favorece a mineralização dos tecidos duros e está relacionado a uma boa atividade antimicrobiana (ESTRELA *et al.*, 1995). Neste sentido, Kuga *et al.* (2011), realizaram um estudo para avaliar o pH e liberação de íons cálcio do MTA Fillapex, em comparação ao MTA cinza e branco, manipulados com água destilada. Na análise do pH, em 24 horas, os grupos testados apresentaram resultados similares. Porém,

aos 7 e 14 dias, o MTA Fillapex mostrou um pH significativamente mais baixo do que o MTA cinza e branco. O MTA Fillapex mostrou uma liberação de íons cálcio menor que o MTA cinza e branco em 24 horas, 7 e 14 dias. Já no estudo de Silva *et al.* (2013), o MTA Fillapex apresentou pH alcalino em todos os períodos experimentais (3, 24, 48, 72 e 168 horas), com o valor máximo de 9,68 em 3 horas, caindo para 7,76 em 168 horas. O AH Plus apresentou valores próximos ao neutro (pH=7).

Morgental *et al.* (2011), avaliaram o pH e a atividade antibacteriana do Endo CPM Sealer e MTA Fillapex, comparados ao MTA branco e Endofill. O MTA Fillapex e o Endofill tiveram um efeito contra *Enterococcus faecalis* antes de tomar presa, mas não mantiveram a atividade antibacteriana após 7 dias. Apesar do pH alcalino, MTA branco e Endo CPM Sealer não apresentaram atividade antibacteriana.

Faria-Júnior *et al.* (2013) avaliaram a atividade antibacteriana frente ao *Enterococcus faecalis*, pH e solubilidade dos cimentos endodônticos AH Plus, Sealer 26, Sealapex, Activ GP e MTA Fillapex. O Sealapex e o MTA Fillapex ocasionaram redução no número de bactérias nos biofilmes e apresentaram maior solubilidade. Os autores discutem o fato de que a alta solubilidade e o pH alcalino podem estar relacionados à atividade antibacteriana destes materiais.

Com relação à citotoxicidade do MTA Fillapex, Bin *et al.* (2012) compararam este cimento ao AH Plus e MTA branco. Neste estudo, o MTA Fillapex apresentou a citotoxicidade mais alta, enquanto o MTA branco foi considerado o menos citotóxico e genotóxico, em contato com cultura de células de fibroblastos de hamsters Chineses (V79).

Silva *et al.* (2013) também testaram a citotoxicidade do MTA Fillapex e verificaram que este cimento foi mais citotóxico que o AH Plus em todos os períodos quando testada a viabilidade de fibroblastos de camundongos (Balb/c 3T3), mantendo a citotoxicidade constante ao longo do tempo. O AH Plus foi moderadamente citotóxico inicialmente, levemente citotóxico depois de uma semana e se tornou não citotóxico após duas semanas. Estes resultados estão de acordo com os de Yoshino *et al.* (2013), no qual o MTA Fillapex foi o material que demonstrou o maior efeito citotóxico sobre fibroblastos de ligamento periodontal humano, seguido do MTA branco e do cimento de Portland.

No que tange à resposta biológica do MTA Fillapex, alguns estudos foram desenvolvidos recentemente. O estudo de Gomes-Filho *et al.* (2012), avaliaram a reação do tecido subcutâneo de ratos ao implante de tubos de polietileno preenchidos com MTA Fillapex comparados com a reação aos tubos preenchidos com Sealapex ou Angelus MTA. Neste estudo, o MTA Fillapex causou uma resposta inflamatória moderada aos 7 dias, que foi reduzindo ao longo do tempo, semelhante ao MTA Angelus. Além disso, o Sealapex, MTA Angelus e o MTA Fillapex estimularam a formação de tecido mineralizado. Foi concluído que o MTA Fillapex é um material biocompatível.

A estimulação da mineralização ocasionada pelos cimentos acima citados, provavelmente ocorre devido à presença de CaO em suas formulações. Esta substância reage com os fluidos teciduais, formando  $\text{Ca(OH)}_2$ . A difusão dos íons hidroxila provenientes do canal radicular, obturado com um destes cimentos, aumenta o pH na superfície radicular adjacente aos tecidos periodontais, interferindo com a atividade osteoclástica e promovendo alcalinização do meio, o que favorece o reparo. Os íons cálcio participam na ativação da adenosina-trifosfatase cálcio dependente e reagem com gás carbônico para formar cristais de carbonato de cálcio, que servem como um núcleo para calcificação e favorecem a mineralização (GOMES-FILHO *et al.*, 2008).

Gomes-Filho *et al.* (2013) realizaram um estudo com o objetivo de avaliar o reparo de lesões periapicais em caninos de cães depois de um tratamento endodôntico em sessão única e obturação com MTA Fillapex, Sealapex ou Endo-CPM-Sealer. Os resultados obtidos foram insatisfatórios, independentemente do cimento empregado. Tais achados demonstraram que os cimentos utilizados não foram capazes de combater a infecção endodôntica remanescente após a conclusão do preparo do canal, pois os tecidos periapicais não foram completamente reparados. Cabe salientar que nos dentes obturados com MTA Fillapex e Sealapex a reação inflamatória na região periapical, em íntimo contato com os materiais, foi menos intensa, demonstrando melhor biocompatibilidade. O estudo demonstrou que mesmo com o uso de materiais biocompatíveis que estimulam a mineralização, o reparo não ocorre sem a desinfecção do sistema de canais radiculares.

Marques *et al.* (2013) realizaram um trabalho com o objetivo de avaliar a

resposta de tecido subcutâneo de ratos ao MTA Fillapex, ao cimento endodôntico experimental à base de cimento de Portland com adição de propilenoglicol e à pasta com óxido de zinco e eugenol com iodofórmio. Aos 7 dias, a resposta inflamatória foi mais intensa no grupo da pasta de óxido de zinco e eugenol com iodofórmio. Neste período, o grupo do MTA Fillapex apresentou algumas células gigantes, macrófagos e linfócitos. Aos 15 dias, no grupo do MTA Fillapex foi observada a presença de fibroblastos e fibras colágenas, indicando processo de cicatrização do tecido. O cimento de Portland apresentou resultados semelhantes ao MTA Fillapex. O grupo do cimento de óxido de zinco e eugenol com iodofórmio evidenciou comportamento biológico menos favorável, com infiltrado inflamatório intenso, mesmo após 15 dias. Foi possível concluir que MTA Fillapex e cimento de Portland são mais biocompatíveis.

Em outro trabalho recente, também foi avaliada a resposta do MTA Fillapex ao tecido subcutâneo de ratos. Neste, o MTA Fillapex foi comparado com o cimento Endofill e AH Plus. Em relação à biocompatibilidade, apesar do MTA Fillapex apresentar agregado de trióxido mineral na sua composição, ele não apresentou vantagens quando comparado ao AH Plus e Endofill. O AH Plus apresentou os melhores resultados, semelhante ao grupo controle (TAVARES *et al.*, 2013).

A implantação intraóssea dos cimentos endodônticos tem demonstrado ser um modelo apropriado para avaliar sua biocompatibilidade (TASSERY *et al.*, 1999; BERNARDINELI; BODANEZI; BRANDÃO GARCIA, 2006). A análise das células na área de contato do cimento é utilizada como parâmetro para determinar a reação do material implantado. Segundo Moretton *et al.* (2000), a inflamação relacionada aos implantes intraósseos foi menos severa que a subcutânea.

Tassery *et al.* (1999), realizaram um estudo com o objetivo de comparar dois locais de implantação óssea, a mandíbula e o fêmur do coelho, para testar a biocompatibilidade intraóssea *in vivo* de um cimento de ionômero de vidro híbrido (Vitremmer) e um cimento de óxido de zinco e eugenol (Super-EBA), usados em obturação retrógrada. Segundo os pesquisadores, o procedimento cirúrgico no fêmur é mais fácil de ser realizado do que na mandíbula.

Bernardineli, Bodanezi e Brandão Garcia (2006), investigaram o comportamento e o tipo de reparo ósseo com a implantação de MTA ou pasta zinco-

enólica com adição de agentes radiopacificadores com ou sem hidróxido de cálcio, no fêmur e na tíbia de ratos. Tanto o MTA quanto o grupo controle apresentaram graus de inflamação leves e constantes nos períodos experimentais de 30, 60 e 90 dias, comprovando a excelente compatibilidade biológica do MTA. Os grupos com pasta zinco-enólica não apresentaram trabéculas ósseas neoformadas em contato com os materiais.

O estudo de Cintra *et al.* (2006) comparou as propriedades biológicas do MBPC, de um cimento de resina epóxica com hidróxido de cálcio e do MTA, através da avaliação quantitativa e qualitativa da resposta inflamatória e potencial de formação óssea. Neste trabalho, foram implantados tubos de polietileno, contendo os cimentos experimentais, no alvéolo dos incisivos extraídos de ratos, ficando em íntimo contato com o osso alveolar. Em todos os grupos, após uma semana, a resposta inflamatória foi suave a moderada e se tornou suave após os 15 dias. Aos 30 dias, a resposta inflamatória foi suave e, ao mesmo tempo, o alvéolo foi cicatrizando com a formação de novo tecido ósseo. Porém, no grupo do MBPC o tecido mineralizado apresentou características diferentes ao observado no grupo do MTA. Foi possível concluir que MTA e MBPC apresentaram comportamento semelhante nos alvéolos, com diferenças relacionadas às características do tecido de mineralização.

Sousa *et al.* (2006) realizaram um estudo para avaliar a biocompatibilidade intraóssea dos cimentos AH Plus, EndoRez e Epiphany implantados em mandíbula de cobaias (porquinhos-da-índia). As análises foram feitas após 4 e 12 semanas. Após análise em ambos os períodos, a reação tecidual inflamatória ao EndoRez foi considerada severa. No grupo do AH Plus, a reação tecidual evoluiu de severa para moderada ao longo do tempo. No grupo do Epiphany, a reação inflamatória foi suave ou ausente, nos dois períodos analisados, com formação óssea. A partir dos resultados desta investigação foi possível constatar que o Epiphany foi o único material que apresentou biocompatibilidade quando em contato com o tecido ósseo nos períodos analisados.

Nos estudos acima descritos a respeito da resposta do tecido ósseo em contato com diferentes materiais, o implante destes no tecido em questão foi feito através de carreadores (tubos de polietileno, teflon, dentina ou silicone). Entretanto,

o contato direto do material com o tecido ósseo, simulando um extravasamento de cimento para os tecidos periapicais após a obturação, pode ser obtido a partir da injeção direta deste no tecido ósseo. Para comparar os dois métodos, injeção direta ou através de tubos, Figueiredo *et al.* (2001) avaliaram a resposta inflamatória do tecido conjuntivo submucoso da mucosa oral de coelhos frente à injeção direta dos cimentos endodônticos N-Rickert, AH-26, Fillcanal e Sealer 26 ou ao implante de tubos de polietileno contendo os mesmos materiais. Os autores não encontraram diferenças significativas entre os métodos, demonstrando que a forma de aplicação do material não interfere nos resultados.

No que tange à resposta tecidual ocasionada pelo MTA Fillapex, quando em contato direto com o tecido ósseo, até o presente momento não foram encontrados relatos na literatura.

Para que um novo cimento endodôntico seja considerado vantajoso em relação aos já estabelecidos no mercado, é necessário que seja realizado um conjunto de análises que permitam identificar suas características físicas e biológicas para que se possa comprovar sua eficácia clínica e justificar seu uso.

Sendo assim, antes de seu uso clínico, é importante estudar a biocompatibilidade destes materiais, uma vez que eles permanecem em contato direto com o tecido ósseo periapical através do forame apical e comunicações acessórias. Os cimentos endodônticos influenciam diretamente no processo de reparo. Neste sentido, cabe investigar o comportamento biológico do cimento MTA Fillapex no tecido ósseo.



### **3 OBJETIVOS**

---

#### **3.1 Objetivo Geral:**

Avaliar o comportamento biológico do tecido ósseo de ratos, em contato com dois cimentos endodônticos, MTA Fillapex e AH Plus, em três períodos experimentais, 7, 30 e 90 dias.

#### **3.2 Objetivos Específicos:**

- Avaliar a formação de barreira óssea nas cavidades confeccionadas no fêmur de ratos Wistar em contato com o cimento MTA Fillapex, AH Plus ou cavidades vazias por 7, 30 e 90 dias.
- Avaliar a resposta inflamatória ao cimento MTA Fillapex e AH Plus em contato com o fêmur de ratos Wistar em 7, 30 e 90 dias.
- Avaliar a presença de áreas de calcificação no interior da medula óssea do fêmur de ratos Wistar em contato com os cimentos MTA Fillapex e AH Plus nos períodos experimentais de 7, 30 e 90 dias.

## ARTIGO

---

A ser submetido ao periódico Journal of Endodontics, fator de impacto 2.880 (Qualis A1, CAPES).

### **EVALUATION OF RAT BONE TISSUE RESPONSE TO MTA FILLAPEX**

Eloísa Assmann - DDS, MSc student in Dentistry, Endodontic Division, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

Daiana Elisabeth Böttcher - DDS, MSc, PhD student in Dentistry, Endodontic Division, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

Carolina Bender Hoppe - DDS, MSc student in Dentistry, Endodontic Division, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

Fabiana Soares Grecca - DDS, MSc, PhD. Department of Conservative Dentistry, Endodontic Division, Dental School, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

Patrícia Maria Poli Kopper Mora - DDS, MSc, PhD. Department of Conservative Dentistry, Endodontic Division, Dental School, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

## **Abstract**

**INTRODUCTION:** This study aimed to analyze bone tissue reactions to MTA Fillapex compared to an epoxy resin-based material in femur of Wistar rats.

**METHODS:** Bone tissue reactions were evaluated in 18 animals after 7, 30 and 90 days (n=6 per period). Three surgical cavities were prepared on femur and filled with 0.1 mL of AH Plus, MTA Fillapex or no sealer (negative control). By the end of each experimental period, six animals were randomly euthanized, the femur was dissected and surgical cavities separated. The samples were histologically processed and analyzed by light microscope. The infiltrate inflammatory and the calcification zones were evaluated dichotomously and the hard tissue barrier was classified as absent, partial or full.

**RESULTS:** Comparison among periods showed that at 7 days all groups presented less hard tissue barrier and MTA Fillapex showed more calcification zones than in other periods. The inflammatory infiltrate significantly reduced at 90 days in AH Plus and MTA Fillapex groups. Comparisons among the groups presented more calcification zones for AH Plus than for the other groups at 30 and 90 days. Control group showed less inflammatory infiltrate at 30 days than in other periods. There were no significant differences to hard tissue barrier among the groups. Data were analysed by non-parametric tests. Significance level was preset in 0.05.

**CONCLUSIONS:** MTA Fillapex presented satisfactory biological behaviour when in direct contact with rat bone tissue. The repair characteristics were similar to those produced by AH Plus, but MTA Fillapex doesn't induce mineralization in the bone marrow.

**Keywords:** Biocompatibility Testing, Bone, Endodontics, Dental Cements.

## Introduction

Mineral trioxide aggregate (MTA) was introduced as a root-end filling material in the 1990s. Its biocompatibility and sealing ability have been demonstrated in numerous studies<sup>1-5</sup>. Because of the favorable properties, it was also indicated for use in direct pulp capping, pulpotomy, apexification, apexogenesis, and revascularization treatments<sup>2,6-9</sup>. However, the long setting time and poor handling characteristics still compromise the use of MTA as root canal filling material<sup>5,21</sup>.

In this regard, MTA Fillapex (Ângelus Industria de Produtos Odontológicos Ltda, Londrina, Brazil) was developed as an MTA-based endodontic sealer. The addition of some components, such as resins, radiopaque bismuth, nanoparticulated silica and pigments, were able to improve those unfavorable features. MTA-Fillapex physical properties<sup>10-23</sup> and biocompatibility<sup>24,25</sup> are already known. Nonetheless, the ability to induce mineralized tissue formation, improving bone healing, has not been assessed.

Thereby, the aim of the present study was to analyze bone tissue reactions to MTA Fillapex compared to an epoxy resin-based material (AH Plus; Dentsply DeTrey GmbH, Konstanz, Germany) in the femur of Wistar rats.

## Materials and Methods

The present study was approved by the Research and Ethics Committee of the School of Dentistry of the Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil (no. 21226). The bone tissue reactions to MTA Fillapex (Ângelus Industria de Produtos Odontológicos Ltda, Londrina, Brazil) and AH Plus (Dentsply DeTrey GmbH, Konstanz, Germany) were evaluated in 18 animals after 3 experimental periods (ie, 7, 30 and 90 days, n=6 per period).

Animals were anesthetized with 0.008 mL/100 g ketamine (Virbac do Brasil Industria e Comércio Ltda, São Paulo, Brazil) and 0.004 mL/100 g 2% xylazine

hydrochloride (Virbac do Brasil Industria e Comércio Ltda, São Paulo, Brazil)<sup>26-28</sup>. The right hind leg, near to the femur region, was used for intervention. Trichotomy was performed and disinfection with alcohol-iodine solution was carried out. A 5 cm-long incision was made on the skin, tissues were separated by layers and the periosteum was incised with a scalpel. Three 6 mm diameter cavities were prepared on the cortical surface of the femur, with approximately 12 mm apart from one to another, with a slow-rotation trephine number 6 bur, under constant irrigation with saline and aspiration. The bur was positioned perpendicularly to the fêmur and triggered until reaching the bone marrow. Surgical cavities were designated to AH Plus, MTA Fillapex and negative control (empty cavity) from proximal to distal.

Sealers were prepared according to the manufacturers' instructions, introduced into insulin syringes (Injex Indústria Cirúrgica Ltda, Ourinhos, Brazil) and 0.1 mL were immediately inserted into the respectively cavity. The wound was sutured in layers (Vicryl - Ethicon, Johnson&Johnson, São José dos Campos, SP, Brazil). After experimental procedures, 50 mg/kg of opioid analgesic (TRAMAL<sup>®</sup> 50 – PFIZER Indústria Farmacêutica, Guarulhos, Brazil) was injected intramuscularly (IM).

By the end of each experimental period, six animals were randomly euthanized by CO<sub>2</sub> inhalation. The operated leg was disarticulated and dissected to isolate the femur. Then, with a slow-rotation diamond disc, the bone was transversally sectioned to separate the region of surgical cavities. Each fragment was individually stored in 10% neutral buffered formalin during 48 hours. After decalcification with 10% nitric acid, the samples were set in paraffin blocks, and processed for histologic analysis. Sections with 5 µm thickness of were cut, transversely to the long axis of the femur, mounted on slides, and stained with hematoxylin – eosin. Slices were analyzed by light microscope (Model Lambda LQT 2, ATTO Instruments Co., Hong Kong, China), using 40, 100, 200 and 400x magnification. The inflammatory infiltrate and calcification zones were evaluated dichotomously (present or absent) and the hard tissue barrier was classified as absent, partial or full.

Fisher test was used to compare the dichotomous criterias over time in each group followed by Fisher post-hoc test. To compare the hard tissue barrier formation

over time in each group Kruskal-Wallis test followed by Mann-Whitney post-hoc test were performed. Moreover, Friedman test followed by Wilcoxon post-hoc test were used to compare the groups in each period, regarding the histologic evaluation criterias. Significance level was preset in 0.05.

## Results

Comparison among periods in each group showed that, at 7 days, all groups presented less deposition of hard tissue barrier than at 30 and 90 days ( $P < .05$ ). At 90 days all specimens presented full formation of hard tissue barrier. At 7 days, MTA Fillapex showed more calcification zones than at the other periods ( $P < .05$ ). The inflammatory infiltrate significantly reduced at 90 days in AH Plus and MTA Fillapex groups ( $P < .05$ ) (Figure 1).

Comparison among groups in each period showed no significant differences to hard tissue barrier ( $P > .05$ ). AH Plus showed more calcification zones than MTA Fillapex and control at 30 and 90 days ( $P < .05$ ). The control group presented less inflammatory infiltrate at 30 days than AH Plus and MTA Fillapex groups ( $P < .05$ ) (Figure 2). Figure 3 illustrates the histologic evaluation criterias.

## Discussion

A primary goal of endodontics is the maintenance or regeneration of the bony tissue supporting teeth in a healthy state. So, the effect of endodontic sealers on bone has clinical significance. The present investigation showed that the tested materials promoted osseous repair after 90 days.

Despite the attempt to standardize experimental models and evaluation parameters, there is still a great diversity of methodologies, which turns the comparison between the existent studies difficult, allowing contradictory conclusions. While evaluating new materials, it is recommended that initial tests should be carried

out (ie. cytotoxicity, mutagenicity and systemic toxicity when taken orally), followed by preliminary tests (ie. subcutaneous, muscular and osseous implants and sensitization/irritation tests) and preclinical animal usage studies. Only after all those tests, clinical trials should be performed. The MTA Fillapex cytotoxicity, mutagenicity and biocompatibility in subcutaneous tissue were previously evaluated<sup>16,18,24,29-31</sup>. Although the present literature investigates bone tissue reaction by the contact with endodontic sealers<sup>26,32-35</sup>, there is no study evaluating this feature for MTA Fillapex.

In the present study, sealers were injected directly in the bone cavity to simulate overflow of endodontic sealers to the periapical region. According to Figueiredo *et al.*<sup>36</sup>, the technique of Bombana that deposit the samples with the use of needles and pistons appears to be the best way to simulate a clinical situation, in which there is direct contact with the tissues.

The features evaluated in the present study (inflammatory response, presence of calcification zones and formation of hard tissue barrier) are related to healing and regeneration of bone tissue. In all experimental periods and groups, inflammatory response, when present, showed chronic characteristics. Because of this, the inflammatory infiltrate was not ranked by scores as in previous investigations<sup>18,24-28,32-37</sup>.

There were no differences regarding inflammatory response among the tested sealers and the control group in 7 and 90-days periods. These results allow inferring that inflammatory reaction was more related to the surgical procedure and not necessarily to the sealers' components. However, in the MTA Fillapex group, inflammatory response was present in 100% of the 7-days samples. Despite of this, it was not observed with the same frequency in the 30 and 90-days evaluations, with statistically significant reduction between the 7 and 90-days periods.

When evaluating bone tissue reactions by the presence of setting time accelerators associated to MTA, McNamara *et al.*<sup>37</sup> described slight or mild inflammatory response in the 14-days period and absent or slight after 8 weeks. These results are in accordance to ours because there is a reduction of the inflammatory response along the periods and this response was already low in the first evaluation.

In contrast, when the MTA Fillapex subcutaneous biocompatibility was evaluated by Tavares *et al.*<sup>24</sup>, this sealer presented higher and worse tissue reactions when compared to AH Plus. The authors also suggest that there were no biological advantages by the presence of MTA in the sealer composition. These contradictory results can be attributed to the different characteristics of the bone and subcutaneous tissues. According to Moretton *et al.*<sup>34</sup>, reactions to intraosseous implants are less intense than to subcutaneous implantation.

Regarding AH Plus bone biocompatibility, Souza *et al.*<sup>32</sup> found acute inflammatory reaction when the sealer was evaluated, 4 weeks after assessment, in guinea pigs mandible. Infiltrate with chronic characteristics was only found in 12 weeks post-intervention. Anyway, those results are in accordance to ours since the inflammatory reaction decreased and presented predominant chronic infiltrate over time.

The presence of calcification zones in the region of the bone marrow are part of the process of bone repair and were similarly observed in all groups during the first period of evaluation. In MTA Fillapex and control groups, after 30 days, calcification was replaced by bone marrow tissue, featuring the complete bone healing. In the AH Plus group, these areas were maintained through time, however, it does not interfere in the hard tissue barrier deposition. These findings allow inferring that AH Plus provides the reestablishment of the original tissue structure more slowly.

Although the high prevalence of inflammatory infiltrate within 7 days in MTA Fillapex group, bone marrow was completely reestablished after 30 days of evaluation. This result suggests that repair was faster in this group. It is assumed that this intense response may have accelerated the repair process, since the infiltrate with chronic characteristics is related to tissue organization and healing.

Finally, in regard to the hard tissue barrier formation, all groups presented the complete closure of the access cavity. Differences were observed in each group throughout time. While in the MTA Fillapex and AH Plus groups all samples were closed from ninety days, the samples from the control group presented a complete barrier within 30 days. In any way, when comparing groups within the same period, there was no statistically significant difference. One possible reason for a delay in closing the cavities in the sealers' groups might be the presence of this foreign body



and the time required for its elimination. Only then, there would be conditions for the hard tissue barrier formation.

## Conclusions

MTA Fillapex presented satisfactory biological behaviour when in direct contact with rat bone tissue. The repair characteristics were similar to those produced by AH Plus, but MTA Fillapex doesn't induce mineralization in the bone marrow.

## References

1. Vanni JR, Della-Bona A, Figueiredo JA et al. Radiographic evaluation of furcal perforations sealed with different materials in dogs' teeth. *J Appl Oral Sci* 2011;19:421-5.
2. Camilleri J, Pitt Ford TR. Mineral trioxide aggregate: a review of the constituents and biological properties of the material. *Int Endod J* 2006;39:747-54.
3. Salako N, Joseph B, Ritwik P et al. Comparison of bioactive glass, mineral trioxide aggregate, ferric sulfate, and formocresol as pulpotomy agents in rat molar. *Dent Traumatol* 2003;19:314-20.
4. Torabinejad M, Rastegar AF, Kettering JD, Pitt Ford TR. Bacterial leakage of mineral trioxide aggregate as a root-end filling material. *J Endod* 1995;21:109-12.
5. Torabinejad M, Smith PW, Kettering JD, Pitt Ford TR. Comparative investigation of marginal adaptation of mineral trioxide aggregate and other commonly used root-end filling materials. *J Endod* 1995;21:295-9.
6. Hilton TJ, Ferracane JL, Mancl L. Comparison of CaOH with MTA for direct pulp capping: a PBRN randomized clinical trial. *J Dent Res* 2013;92:16S-22S.
7. Holden DT, Schwartz SA, Kirkpatrick TC, Schindler WG. Clinical outcomes of artificial root-end barriers with mineral trioxide aggregate in teeth with immature apices. *J Endod*. 2008;34:812-7.
8. Torabinejad M, Chivian N. Clinical applications of mineral trioxide aggregate. *J Endod* 1999;25:197-205.
9. Ford TR, Torabinejad M, Abedi HR et al. Using mineral trioxide aggregate as a pulp-capping material. *J Am Dent Assoc* 1996;127:1491-4.

10. Rosa RA, Barreto MS, Moraes R do A, et al. Influence of endodontic sealer composition and time of fiber post cementation on sealer adhesiveness to bovine root dentin. *Braz Dent J* 2013;24:241-6.
11. Vitti RP, Prati C, Silva EJ et al. Physical properties of MTA Fillapex sealer. *J Endod*. 2013 Jul;39:915-8.
12. Neelakantan P, Grotra D, Sharma S. Retreatability of 2 mineral trioxide aggregate-based root canal sealers: a cone-beam computed tomography analysis. *J Endod* 2013;39:893-6.
13. Ioannidis K, Mistakidis I, Beltes P, Karagiannis V. Spectrophotometric analysis of crown discoloration induced by MTA- and ZnOE-based sealers. *J Appl Oral Sci* 2013;21:138-44.
14. Sönmez IS, Sönmez D, Almaz ME. Evaluation of push-out bond strength of a new MTA-based sealer. *Eur Arch Paediatr Dent* 2013;14:161-6.
15. Faria-Júnior NB, Tanomaru-Filho M, Berbert FL, Guerreiro-Tanomaru JM. Antibiofilm activity, pH and solubility of endodontic sealers. *Int Endod J* 2013;46:755-62.
16. Silva EJ, Rosa TP, Herrera DR, et al. Evaluation of cytotoxicity and physicochemical properties of calcium silicate-based endodontic sealer MTA Fillapex. *J Endod*. 2013;39:274-7.
17. Sönmez IS, Oba AA, Sönmez D, Almaz ME. In vitro evaluation of apical microleakage of a new MTA-based sealer. *Eur Arch Paediatr Dent*. 2012;13:252-5.
18. Gomes-Filho JE, Watanabe S, Lodi CS, et al. Rat tissue reaction to MTA FILLAPEX<sup>®</sup>. *Dent Traumatol* 2012;28:452-6.
19. Amin SA, Seyam RS, El-Samman MA. The effect of prior calcium hydroxide intracanal placement on the bond strength of two calcium silicate-based and an epoxy resin-based endodontic sealer. *J Endod* 2012;38:696-9.
20. Nagas E, Uyanik MO, Eymirli A, et al. Dentin moisture conditions affect the adhesion of root canal sealers. *J Endod* 2012;38:240-4.
21. Assmann E, Scarparo RK, Böttcher DE, Grecca FS. Dentin bond strength of two mineral trioxide aggregate-based and one epoxy resin-based sealers. *J Endod* 2012;38:219-21.
22. Borges RP, Sousa-Neto MD, Versiani MA, 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;45:419-28.
23. Sagsen B, Ustün Y, Demirbuga S, Pala K. Push-out bond strength of two new calcium silicate-based endodontic sealers to root canal dentine. *Int Endod J* 2011;44:1088-91.

24. Tavares CO, Böttcher DE, Assmann E, et al. Tissue reactions to a new mineral trioxide aggregate-containing endodontic sealer. *J Endod* 2013;39:653-7.
25. Zmener O, Martinez Lalis R, Pameijer CH, et al. Reaction of rat subcutaneous connective tissue to a mineral trioxide aggregate-based and a zinc oxide and eugenol sealer. *J Endod* 2012;38:1233-8.
26. Bernardineli N, Bodanezi A, Brandão Garcia R. Comportamiento del tejido osteomedular de ratones después de la implantación de mineral trióxido agragado o cemento a base de pasta zinquenólica. *Endodoncia* 2006;24:92-98.
27. Scarparo RK, Grecca FS, Fachin EV. Analysis of tissue reactions to methacrylate resin-based, epoxy resin-based, and zinc oxide-eugenol endodontic sealers. *J Endod* 2009;35:229-32.
28. Grecca FS, Kopper PM, Santos RB, et al. Biocompatibility of RealSeal, its primer and AH Plus implanted in subcutaneous connective tissue of rats. *J Appl Oral Sci* 2011;19:52-6.
29. Yoshino P, Nishiyama CK, Modena KC, et al. In vitro cytotoxicity of white MTA, MTA Fillapex® and Portland cement on human periodontal ligament fibroblasts. *Braz Dent J* 2013;24:111-6.
30. Marques NC, Lourenço Neto N, Fernandes AP, et al. Rat subcutaneous tissue response to MTA Fillapex® and Portland cement. *Braz Dent J* 2013;24:10-4.
31. Bin CV, Valera MC, Camargo SE, et al. Cytotoxicity and genotoxicity of root canal sealers based on mineral trioxide aggregate. *J Endod.* 2012;38:495-500.
32. Sousa CJ, Montes CR, Pascon EA, et al. Comparison of the intraosseous biocompatibility of AH Plus, EndoREZ, and Epiphany root canal sealers. *J Endod.* 2006;32:656-62.
33. Cintra LT, de Moraes IG, Estrada BP, et al. Evaluation of the tissue response to MTA and MBPC: Microscopic analysis of implants in alveolar bone of rats. *J Endod* 2006;32:556-9.
34. 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;52:528-33.
35. Tassery H, Pertot WJ, Camps J, et al. Comparison of two implantation sites for testing intraosseous biocompatibility. *J Endod* 1999;25:615-8.
36. Figueiredo JA, Pesce HF, Gioso MA, Figueiredo MA. The histological effects of four endodontic sealers implanted in the oral mucosa: submucous injection versus implant in polyethylene tubes. *Int Endod J* 2001;34:377-85.
37. McNamara RP, Henry MA, Schindler WG, Hargreaves KM. Biocompatibility of accelerated mineral trioxide aggregate in a rat model. *J Endod.* 2010;36:1851-5.

## Figure Legends

Figure 1 – Comparison among the periods in each group regarding hard tissue barrier, calcification zones and inflammatory infiltrate. Different letters indicate statistically significant differences ( $p < .05$ ).

Figure 2 – Comparison among the groups in each period regarding hard tissue barrier, calcification zones and inflammatory infiltrate. Different letters indicate statistically significant differences ( $p < .05$ ).

Figure 3 – Representative histological features – a) absence of hard tissue barrier: Presence of Bone (B), Access Cavity (A) and Inflammatory Infiltrate (I). Animal from AH Plus group, 7 days (100x; scale bar = 100  $\mu\text{m}$ ); b) Increased magnification from inflammatory infiltrate of (a) close to the access cavity (400x; scale bar = 25  $\mu\text{m}$ ); c) Partial hard tissue barrier (\*): incomplete bone formation and reestablishment the bone marrow (BM). Animal from MTA Fillapex group, 30 days (40x, scale bar = 100  $\mu\text{m}$ ); d) Increased magnification from the hard tissue barrier of (c): characterized by the presence of immature bone and incomplete closure from the access cavity (200x; scale bar = 50  $\mu\text{m}$ ); e) Complete hard tissue barrier (\*): well organized barrier and complete closure from the access cavity. Notice the presence of calcification zones ( $\blacktriangleright$ ) in the bone marrow region. Animal from AH Plus group, 90 days (100x; scale bar = 100  $\mu\text{m}$ ). f) Calcification zones ( $\blacktriangleright$ ). Animal from MTA Fillapex group, 7 days (200x; scale bar = 50  $\mu\text{m}$ )

Figure 1

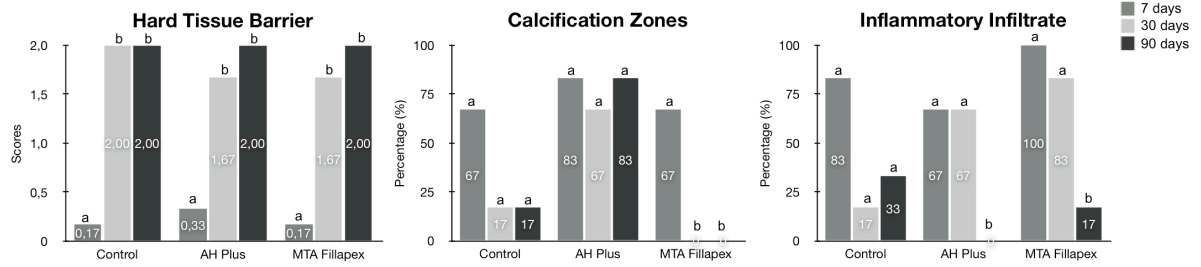


Figure 2

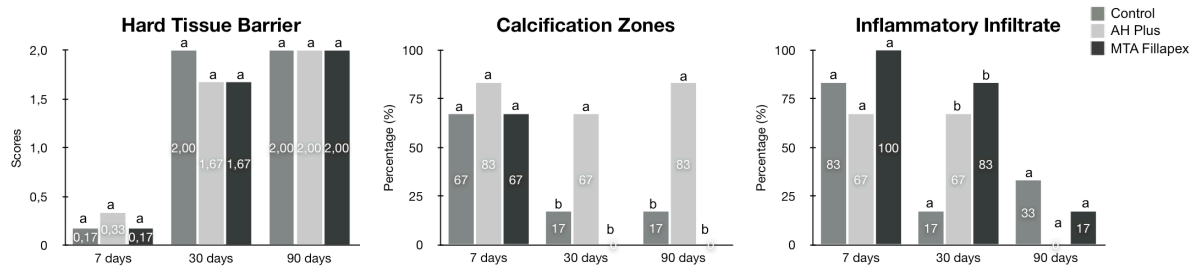
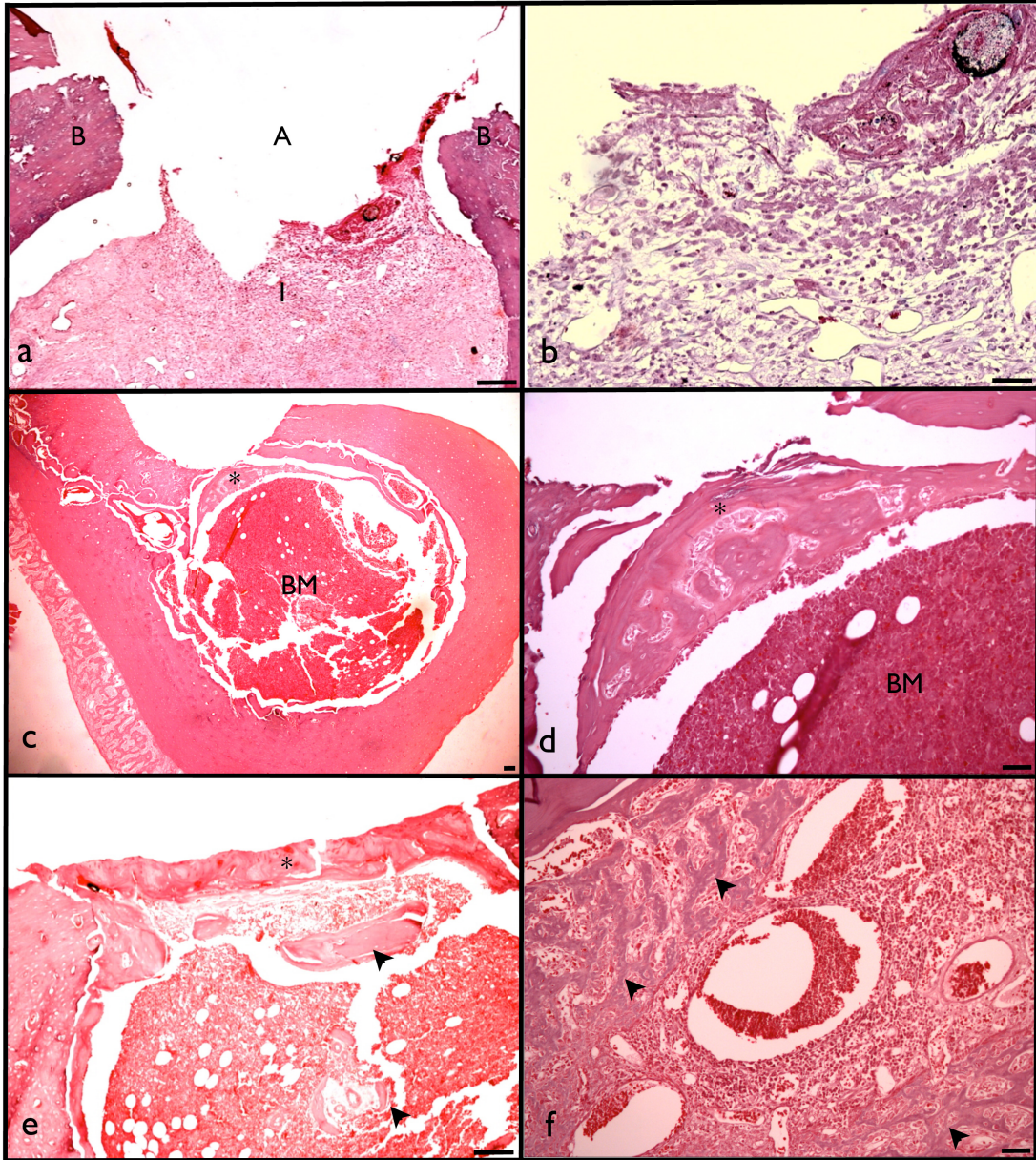


Figure 3



## CONSIDERAÇÕES FINAIS

---

A partir do exposto anteriormente, sabe-se que a biocompatibilidade é uma propriedade fundamental em um cimento endodôntico, uma vez que este entra em contato direto com os tecidos periapicais, através do forame apical e comunicações acessórias. Sendo assim, após a obturação dos canais radiculares, o cimento endodôntico influencia no reparo dos tecidos periapicais pós tratamento endodôntico.

A presença e liberação de substâncias podem resultar em diferentes reações teciduais quando em contato com o periápice. Idealmente, o material obturador deve favorecer o reparo e estimular a deposição de um tecido mineralizado, isolando a obturação dos tecidos periapicais. Até hoje, porém, nenhum cimento endodôntico apresenta características que agregam propriedades físicas e biológicas ideais.

Devido a isso, novos materiais para a obturação do canal são uma constante. Antes de serem empregados na clínica endodôntica, suas propriedades devem ser adequadamente investigadas. No que tange à biocompatibilidade, há uma grande dificuldade para comparar-se resultados de diferentes estudos devido à falta de padronização dos métodos e forma de apresentação dos resultados.

Os estudos *in vitro* são limitados para gerar evidências clínicas, pois não tem a capacidade de reproduzir as condições da cavidade bucal. Dessa forma, estudos *in vivo* são necessários para avaliar o comportamento biológico de novos cimentos endodônticos, tendo como objetivo verificar a resposta dos tecidos periapicais frente ao contato com as substâncias que compõem os referidos materiais. Sendo assim, o presente estudo propôs um modelo *in vivo*, empregando ratos como modelo experimental, tendo como objetivo simular o que ocorre na clínica endodôntica.

Foi realizada uma injeção direta dos materiais no tecido ósseo com a intenção de simular um extravasamento dos cimentos para os tecidos periapicais. Tal situação clínica não é incomum nos tratamentos endodônticos, principalmente nos casos em que já há uma destruição óssea significativa, com a presença de lesão periapical visível radiograficamente. Além disso, nos casos em que a técnica de obturação de escolha utiliza a termoplastificação da guta-percha, o extravasamento de material para os tecidos periapicais ocorre com maior frequência.



O cimento AH Plus foi usado neste estudo como parâmetro de comparação por ser um cimento já bastante investigado e ter suas propriedades biológicas já descritas e conhecidas (SCARPARO *et al*, 2010; TAVARES *et al*, 2013). Nas condições propostas na presente investigação, não foram encontrados relatos na literatura a respeito do MTA Fillapex, o que justifica a pesquisa a respeito da resposta do tecido ósseo quando em contato com este material.

Por apresentar MTA em sua formulação, seria de se esperar uma resposta mais favorável deste cimento em comparação com o AH Plus. Entretanto, tal hipótese não foi confirmada, pois o MTA Fillapex não apresentou comportamento biológico superior ao AH Plus. Este achado talvez esteja relacionado à presença de maior quantidade de resinas na composição do MTA Fillapex em relação à quantidade de MTA.

A presente pesquisa contribuiu com informações a respeito da resposta do tecido ósseo de ratos frente ao contato direto com dois cimentos endodônticos que foram biologicamente favoráveis. Outras investigações, comparando o MTA Fillapex com cimentos endodônticos comprovadamente irritantes aos tecidos periapicais, talvez pudessem ratificar o comportamento biológico favorável deste material, havendo um maior contraste entre as respostas encontradas.

## REFERÊNCIAS

---

AL-HIYASAT, A.S.; TAYYAR, M.; DARMANI, H. Cytotoxicity evaluation of various resin based root canal sealers. **Int Endod J**, Oxford, v. 43, n. 2, p. 148-153, Feb 2010.

AMIN, S.A.; SEYAM R.S.; EL-SAMMAN M.A. The effect of prior calcium hydroxide intracanal placement on the bond strength of two calcium silicate-based and an epoxy resin-based endodontic sealer. **J Endod**, New York, v.38, n. 5, p. 696-9, May 2012.

ANGELUS. MTA Fillapex Endodontic Sealer. Scientific Profile. 2013. Disponível em: <[http://www.angelus.ind.br/folders/mta\\_fillapex\\_pt/](http://www.angelus.ind.br/folders/mta_fillapex_pt/)>. Acesso em: 5 Jun. 2013.

ASSMANN, E. *et al.* Dentin Bond Strength of Two Mineral Trioxide Aggregate-based and One Epoxy Resin-based Sealers. **J Endod**, New York, v.38, n.2, p. 219-221, Feb 2012.

BATISTA, R.F.C. *et al.* Microscopic analysis of subcutaneous reactions to endodontic sealer implants in rats. **J Biomed Mater Res**, Hoboken, v.81, n.1, p. 171-177, Apr 2007.

BERNABÉ, P.F.E. *et al.* Comparative study of MTA and other materials in retrofilling of pulpless dogs' teeth. **Braz Dent J**, Ribeirão Preto, v.16, n.2, p. 149-155, 2005.

BERNARDES, R. A. *et al.* Evaluation of the flow rate of 3 endodontic sealers: Sealer 26, AH Plus, and MTA Obtura. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, St. Louis, v. 109, n. 1, p. e47-e49, Jan. 2010.

BERNARDINELLI, N.; BODANEZI, A.; BRANDÃO GARCIA, R. Comportamiento del tejido osteomedular de ratones después de la implantación de mineral trióxido agragado o cemento a base de pasta zinquenólica. **ENDODONCIA**, Barcelona, v. 24, n.2. p.92-98, Abril-junio 2006.

BICHERI, S.A.V.; VICTORINO, F.R. Comparative evaluation of radiopacity of MTA Fillapex endodontic sealer through a digital radiograph system. **RSBO**, Joinville, v.10, n.2, p. 149-152, Apr-jun. 2013.

BIER, C.A.S. *et al.* In vivo analysis of post space sealing with diferente adhesive materials. **J Appl Oral Sci**, Bauru, v.11, n.3, p. 168-174, Sep 2003.

BIN, C.V. *et al.* Cytotoxicity and Genotoxicity of Root Canal Sealers Based on Mineral Trioxide Aggregate. **J Endod**, New York, v.38, n.4, p. 495-500, April 2012.

BORGES, R.P. *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**, Oxford, v.45, n.5, p.419-28, May 2012.

CHNG, H.K. *et al.* Properties of a new root-end filling material. **J Endod**, New York, v.31, n.9, p.665-668, Sept 2005.

CAMILLERI J.; PITT FORD T.R. Mineral trioxide aggregate: a review of the constituents and biological properties of the material. **Int Endod J**, Oxford, v.39, n.10, p.747-54, Oct 2006.

CINTRA, L.T.A. *et al.* Evaluation of the Tissue Response to MTA and MBPC: Microscopic Analysis of Implants in Alveolar Bone of Rats. **J Endod**, New York, v.32, n.6, p.556-559, June 2006.

DE ALMEIDA, W.A. *et al.* Evaluation of apical sealing of three endodontic sealers. **Int Endod J**, Oxford, v. 33, n. 1, p. 25-27, Jan 2000.

ESTRELA, C. *et al.* Mechanism of action of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide on tissue and bacteria. **Braz Dent J**, Ribeirão Preto, v.6, n. 2, p. 85-90, Jul-Dec 1995.

FARIA-JÚNIOR, N.B. *et al.* Antibiofilm activity, pH and solubility of endodontic sealers. **Int Endod J**, Oxford, v.46, n.8, p. 755-762, Aug 2013.

FIGUEIREDO, J.A.P. *et al.* The histological effects of four endodontic sealers implanted in the oral mucosa: submucous injection versus implant in polyethylene tubes. **Int Endod J**, Oxford, v. 34, n. 5, p. 377-385, Jul 2001.

FORD, T.R. *et al.* Using mineral trioxide aggregate as a pulp-capping material. **J Am Dent Assoc**, Chicago, v.127, n. 10 , p. 1491-1494, Oct 1996.

GOMES-FILHO, J.E. *et al.* Mineral Trioxide Aggregate but not lighth-cure mineral trioxide aggregate stimulated mineralization. **J Endod**, New York, v. 34, n.1, p. 62-65, Jan 2008.

GOMES-FILHO, J. E. *et al.* Mineral Trioxide Aggregate Sealer Stimulated Mineralization. **J Endod**, New York, v. 35, no. 2, p. 256-260, Feb 2009.

GOMES-FILHO, J.E. *et al.* Rat Tissue reaction to MTA Fillapex<sup>®</sup>. **Dent Traumatol**, Copenhagen, v.28, n.6, p. 452-456, Dec 2012.

GOMES-FILHO, J.E. *et al.* Effect of MTA-based sealer on the healing of periapical lesions. **J Appl Oral Sci**, Bauru, v. 21, n.3, p. 235-242, 2013.

GRECCA, F.S. *et al.* Biocompatibility of RealSeal, its primer and AH Plus implanted in subcutaneous connective tissue of rats. **J Appl Oral Sci.**, Bauru, v.19, n.1, p. 52-56, Jan-Feb 2011.

GROSSMAN, L. I. An improved root canal cement. **J Am Dent Assoc**, Chicago, v.56, n. 3, p. 381-385, 1958.

HAÏKEL, Y. *et al.* A new method for the quantitative analysis of endodontic microleakage. **J Endod**, New York, v.25, n.3, p. 172-177, Mar 1999.

HILTON, T.J.; FERRACANE, J.L.; MANCL, L. Comparison of CaOH with MTA for Direct Pulp Capping: A PBRN Randomized Clinical Trial. **J Dent Res**, Washington, v.92, n.1, p. 16S-22S, Jul 2013.

HOLDEN, D.T. et al. Clinical outcomes of artificial root-end barriers with mineral trioxide aggregate in teeth with immature apices. **J Endod**, New York, v.34, n.7, p.812-817, Jul 2008.

HOLLAND, R. et al. A histological study of the effect of calcium hydroxide in the treatment of pulpless teeth of dogs. **Int Endod J**, Oxford, v.12, n.1, p. 15-24, Jan 1979.

IOANNIDIS, K. *et al.* Spectrophotometric analysis of crown discoloration induced by MTA- and ZnOE-based sealers. **J Appl Oral Sci**, Bauru, v.21, n.2, p.138-144, Mar-Apr 2013.

ISLAM, I.; CHNG, H.K.; YAP, A.U.J. Comparison of the physical properties of MTA and Portland cement. **J Endod**, New York, v.32, n.2, p. 193-197, Mar 2006.

JOHNSON, W.T.; KULILD, J.C. Obturação do Sistema de Canais Radiculares Limpos e Modelados. In: COHEN, S. **Caminhos da Polpa**. Rio de Janeiro: Elsevier, 10.ed, p. 324-358, 2011.

KOGAN, P. *et al.* The effects of various additives on setting properties of MTA. **J Endod**, New York, v.32, n.6, p. 569-572, Jun 2006.

KOPPER, P.M.P. *et al.* Comparative in vivo analysis of the sealing ability of three endodontic sealers in post-prepared root canals. **Int Endod J**, Oxford, v.36, n.12, p. 857-863, Dec 2003.

KOPPER, P.M.P. *et al.* In vivo evaluation of the sealing ability of two endodontic sealers in root canals exposed to the oral environment for 45 and 90 days. **J Appl Oral Sci**, Bauru, v.14, n.1, p. 43-48, Jan 2006.

KUGA, M.C.; CAMPOS, E.A.; VISCARDI, P.H. et al. Hydrogen ion and calcium releasing of MTA Fillapex® and MTA-based formulations. **RSBO**, Joinville, v.8, n.3, p. 271-276, Jul-Sep 2011.

LEONARDO, M.R.; LEAL, J.M. Materiais Obturadores de Canais Radiculares. In: LEONARDO, M.R. **Endodontia: tratamento de canais radiculares: princípios técnicos e biológicos**. São Paulo: Artes Médicas, p. 1043-1125, 2008.

MARQUES, N.C.T. *et al.* Rat Subcutaneous Tissue Response to MTA Fillapex and Portland Cement. **Braz Dental J**, Ribeirão Preto, v. 24, n.1, p. 10-14, 2013.

MCNAMARA, R.P. *et al.* Biocompatibility of accelerated mineral trioxide aggregate in a rat model. **J Endod**, New York, v.36, n.11, p.1851-1855, Nov 2010.

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

MORGENTAL, R.D. *et al.* Antibacterial activity of two MTA-based root canal sealers. **Int Endod J**, Oxford, v. 44, n.12, p. 1128-1133, Dec 2011.

NAGAS, E. *et al.* Dentin moisture conditions affect the adhesion of root canal sealers. **J Endod**, New York, v.38, n.2, p.240-244, Feb 2012.

NEELAKANTAN, P.; GROTRA, D.; SHARMA, S. Retreatability of 2 mineral trioxide aggregate-based root canal sealers: a cone-beam computed tomography analysis. **J Endod**, New York, v.39, n.7, Jul 2013.

ORBAN, M.D. The problem of root-canal treatment. **J Amer Dent Assoc**, Chicago, v.19, p. 1384-1388, 1932.

ÖZTAN, M.D. *et al.* A comparison of the *in vitro* cytotoxicity of two root canal sealers. **J Oral Rehabil**, Oxford, v.30, n.4, p. 426-429, Apr 2003.

PEREIRA, C.C. *et al.* Comparative in vivo analysis of the sealing ability of three endodontic sealers in dog teeth after post-space preparation. **Aust Endod J**, Melbourne, v.33, n.3, p. 101-106, Dec 2007.

PITT FORD, T. R. *et al.* Effect of various sealers with gutta-percha as root-end fillings on healing after replantation. **Endod Dent Traumatol**, Copenhagen, v.12, n.1, p. 33-37, Feb 1996.

ROSA, R.A. *et al.* Influence of endodontic sealer composition and time of fiber post cementation on sealer adhesiveness to bovine root dentin. **Braz Dental J**, Ribeirão Preto, v.24, n.3, p. 241-246, May-Jun2013.

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

SALAKO, N. *et al.* Comparison of bioactive glass, mineral trioxide aggregate, ferric sulfate, and formocresol as pulpotomy agents in rat molar. **Dent Traumatol**, Copenhagen, v.19, n.6, p. 314-320, Dec 2003.

SCARPARO, R.K. *et al.* Mineral Trioxide Aggregate-based Sealer: Analysis of Tissue Reactions to a New Endodontic Material. **J Endod**, New York, v.36, n.7, p. 1174-1178, Jul 2010.

SCARPARO, R.K.; FACHIN, E.V.F.; GRECCA, F.S. Methodologies for Preliminary Assessment of the Biocompatibility of Endodontic Materials in Connective Tissue: a review. **Rev Fac Odontol**, Porto Alegre, v.50, n.3, p.32-35, set./dez. 2009.

SCARPARO, R.K.; GRECCA, F.S.; FACHIN, E.V.F. Analysis of Tissue Reactions to Methacrylate Resin-based, Epoxy Resin-based, and Zinc Oxide-Eugenol Endodontic Sealers. **J Endod**, New York, v.35, n.2, p. 229-232, Feb 2009.

SCHWARZE, T.; LEYHAUZEN, G.; GEURSTEN, W. Long-term cytocompatibility of various endodontic sealers using a new root canal model. **J Endod**, New York, v.28, n.11, p. 749-753, Nov 2002.

SKINNER, R.L.; HIMEL, V.T. The sealing ability of injection-molded Thermoplasticized Gutta-percha with and without the use of sealers. **J Endod**, New York, v.13, n.7, p. 315-317, Jul 1987.

SIQUEIRA JR., J.F. et al. Materiais Obturadores. In: LOPES, H.P.; SIQUEIRA JR, J.F. **Endodontia – Biologia e Técnica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 3.ed, p.613-639, 2011.

SÖNMEZ, I.S. *et al.* In vitro evaluation of apical microleakage of a new MTA-based sealer. **Eur Arch Paediatr Dent**, Leeds, v.13, n.5, p. 252-255, Oct 2012.

SÖNMEZ, I.S.; SÖNMEZ, D.; ALMAZ, M.E. Evaluation of push-out bond strength of a new MTA-based sealer. **Eur Arch Paediatr Dent**, Leeds, v.14, n.3, p.161-166, Jun 2013.

VANNI, J.R. *et al.* Radiographic evaluation of furcal perforations sealed with different materials in dogs' teeth. **J Appl Oral Sci**, Bauru, v.19, n.4, p. 421-425, Aug 2011.

SILVA, E.J.N.L. *et al.* Evaluation of Cytotoxicity and Physicochemical Properties of Calcium Silicate-based Endodontic Sealer MTA Fillapex. **J Endod**, New York, v.39, n.2, p. 274-277, Feb 2013.

SOARES, I. J.; GOLDBERG, F. **Endodontia – Técnica e Fundamentos**. Porto Alegre: Artmed, 2. ed, p. 221-249, 2011.

SOUSA, C.J.A. *et al.* Comparison of the Intraosseous Biocompatibility of AH Plus, EndoRez, and Epiphany Root Canal Sealers. **J Endod**, New York, v.32, n.7, p. 656-662, July 2006.

TASSERY, H. *et al.* Comparison of two implantation sites for testing intraosseous biocompatibility. **J Endod**, New York, v.25, n.9, p. 615-618, Sep 1999.

TAVARES, C.O. *et al.* Tissue reactions to a New Mineral Trioxide Aggregate-containing Endodontic Sealer. **J Endod**, New York, v.39, n.5, p. 653-657, May 2013.

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

TORABINEJAD, M. *et al.* Comparative investigation of marginal adaptation of mineral trioxide aggregate and other commonly used root-end filling materials. **J Endod**, New York, v.21, n.6, p. 295-299, Jun 1995b.

TORABINEJAD, M.; CHIVIAN, N. Clinical applications of mineral trioxide aggregate. **J Endod**, New York, v.25, n.3, p. 197-205, Mar 1999.

TORABINEJAD, M.; PARIROKH, M. Mineral Trioxide Aggregate: A Comprehensive Literature Review-Part II: Leakage and Biocompatibility Investigations. **J Endod**, New York, v. 36, n. 2, p. 190-202, Feb 2010.

VITTI, R.P. *et al.* Physical Properties of MTA Fillapex Sealer. **J Endod.**, New York, v.39, n. 7, p. 915-918, Jul 2013.

VIVIAN, R.R *et al.* Avaliação da radioterapia de diferentes cimentos obturadores endodônticos, acrescidos de hidróxido de cálcio. **SALUSVITA**, Bauru, v.32, n.1, p.25-36, jan. 2013.

WILLIAMS, D.F. On the mechanisms of biocompatibility. **Biomaterials**, Guilford, v.29, n. 20, p. 2941-2953, Jul 2008.

YOSHINO, P. *et al.* In Vitro Cytotoxicity of White MTA, MTA Fillapex and Portland Cement on Human Periodontal Ligament Fibroblasts. **Braz Dent J**, Ribeirão Preto, v.24, n.2, p. 111-116, 2013.

ZHOU, H. *et al.* Physical Properties of 5 Root Canal Sealers. **J Endod**, New York, v.39, n.10, p. 1281-1286, Oct 2013.

ZMENER, O. *et al.* Reaction of rat subcutaneous connective tissue to a mineral trioxide aggregate-based and a zinc oxide and eugenol sealer. **J Endod**, New York, v.38, n.9, p. 1233-1238, Sep 2012.

## ANEXO 1

## Carta de aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA).



U F R G S

UNIVERSIDADE FEDERAL  
DO RIO GRANDE DO SUL

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA

Comissão De Ética No Uso De Animais

**CARTA DE APROVAÇÃO****Comissão De Ética No Uso De Animais analisou o projeto:****Número:** 21226**Título:** AVALIAÇÃO DA BIOCOMPATIBILIDADE DOS CIMENTOS ENDODONTICOS ENDOFILL, FILLAPEX E AH PLUS EM TECIDO OSSEO DE RATOS**Pesquisadores:****Equipe UFRGS:**

PATRICIA MARIA POLI KOPPER MORA - coordenador desde 01/08/2011  
ROBERTA KOCHENBORGER SCARPARO - pesquisador desde 01/08/2011  
DAIANA ELISABETH BOTTCHER - pesquisador desde 01/08/2011  
FABIANA SOARES GRECCA VILELLA - pesquisador desde 01/08/2011  
Eloísa Assmann - pesquisador desde 01/08/2011  
Cauana Oliva Tavares - pesquisador desde 01/08/2011

***Comissão De Ética No Uso De Animais aprovou o mesmo, em reunião realizada em 17/01/2012 - sala 01 de reuniões do Gabinete do Reitor, 6º andar do prédio da Reitoria, em seus aspectos éticos e metodológicos, para a utilização de 18 ratos Wistar, de acordo com as Diretrizes e Normas Nacionais e Internacionais, especialmente a Lei 11.794 de 08 de novembro de 2008 que disciplina a criação e utilização de animais em atividades de ensino e pesquisa.***

Porto Alegre, Terça-Feira, 7 de Fevereiro de 2012

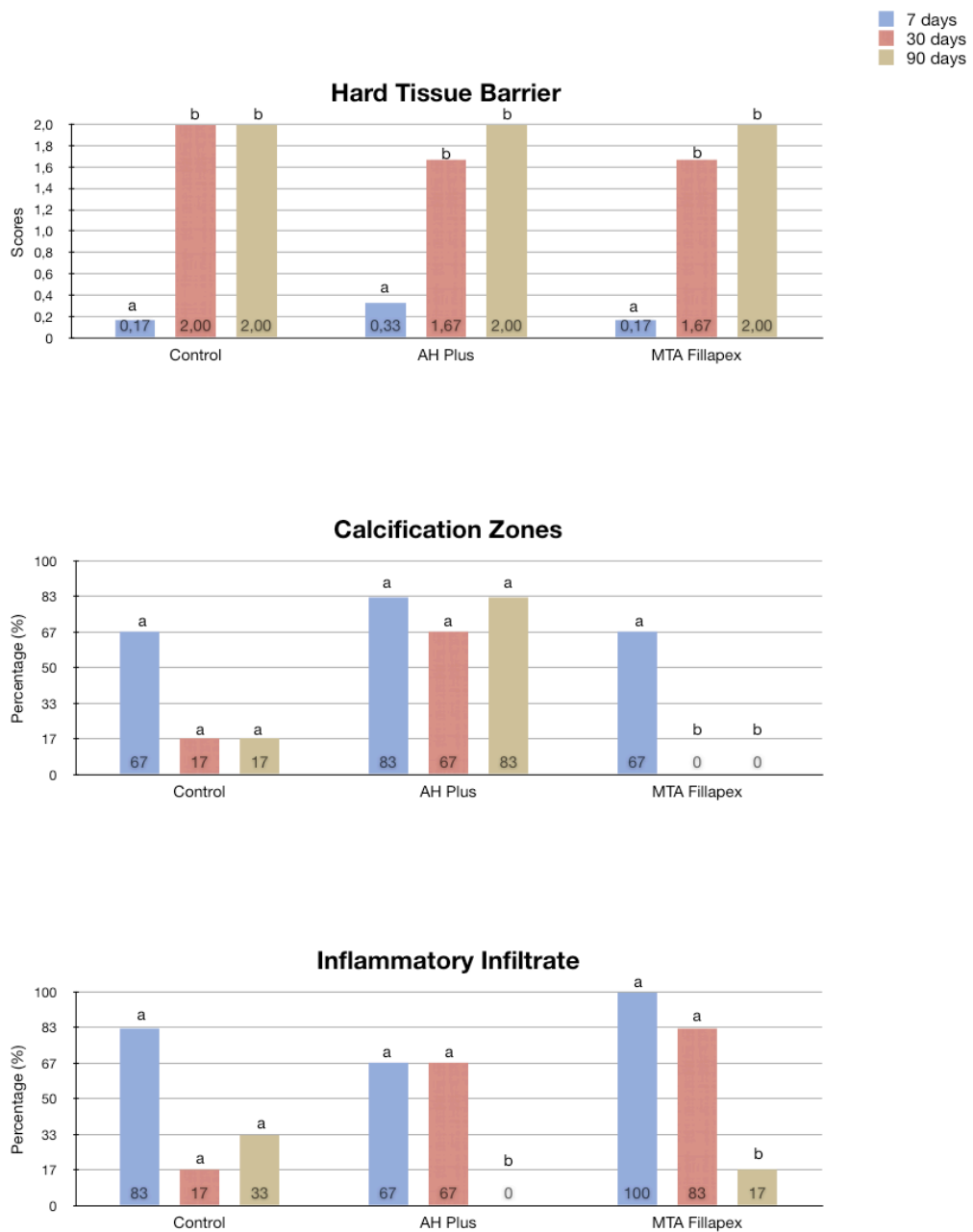
STELA MARIS KUZÉ RATES  
Vice Coordenador da comissão de ética



## ANEXO 2

Figura 1 – Comparação entre os períodos em cada grupo em relação à formação de barreira óssea, áreas de calcificação e infiltrado inflamatório. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

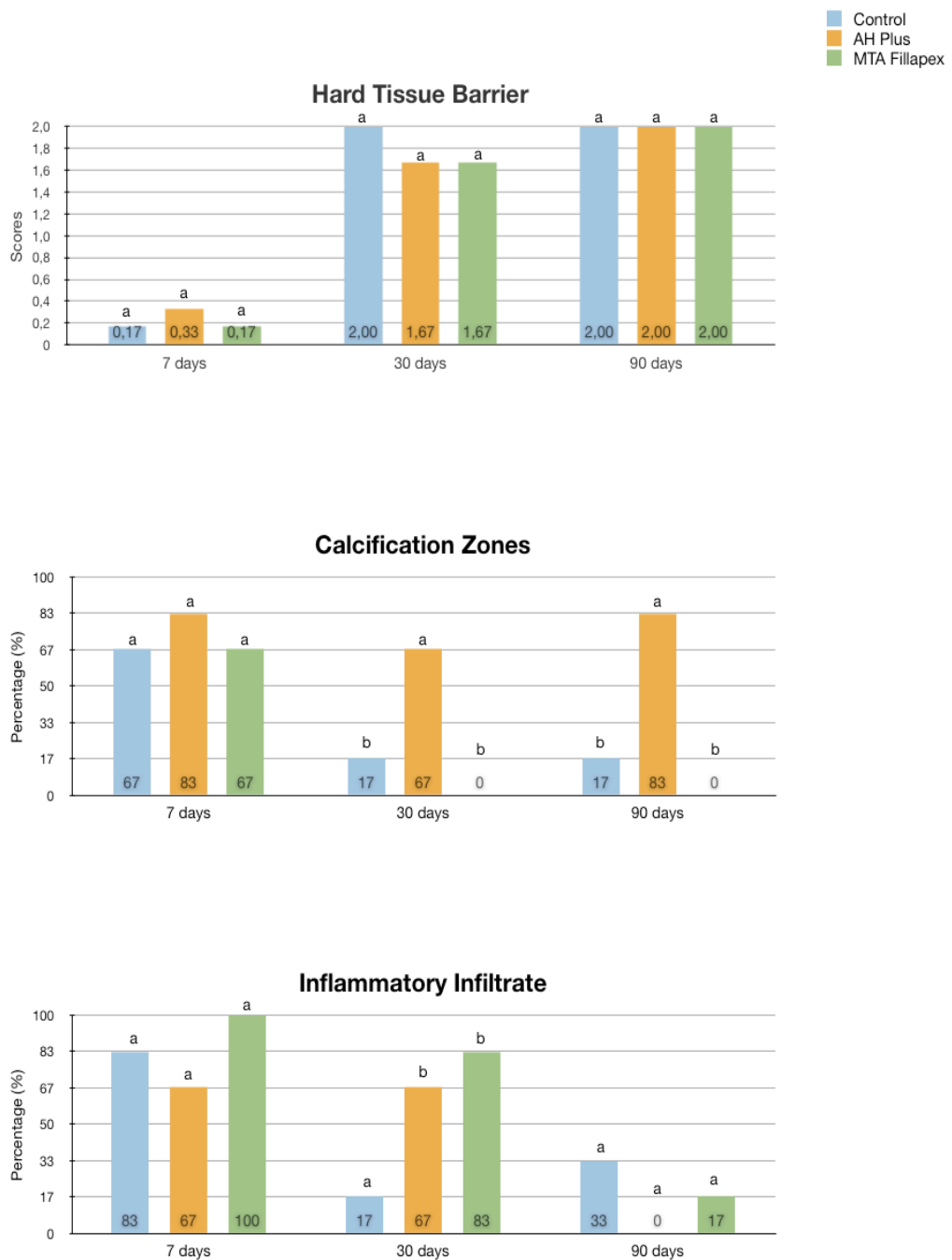
Figure 1



## ANEXO 3

Figura 2 – Comparação entre os grupos em cada período em relação à formação de barreira óssea, áreas de calcificação e infiltrado inflamatório. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

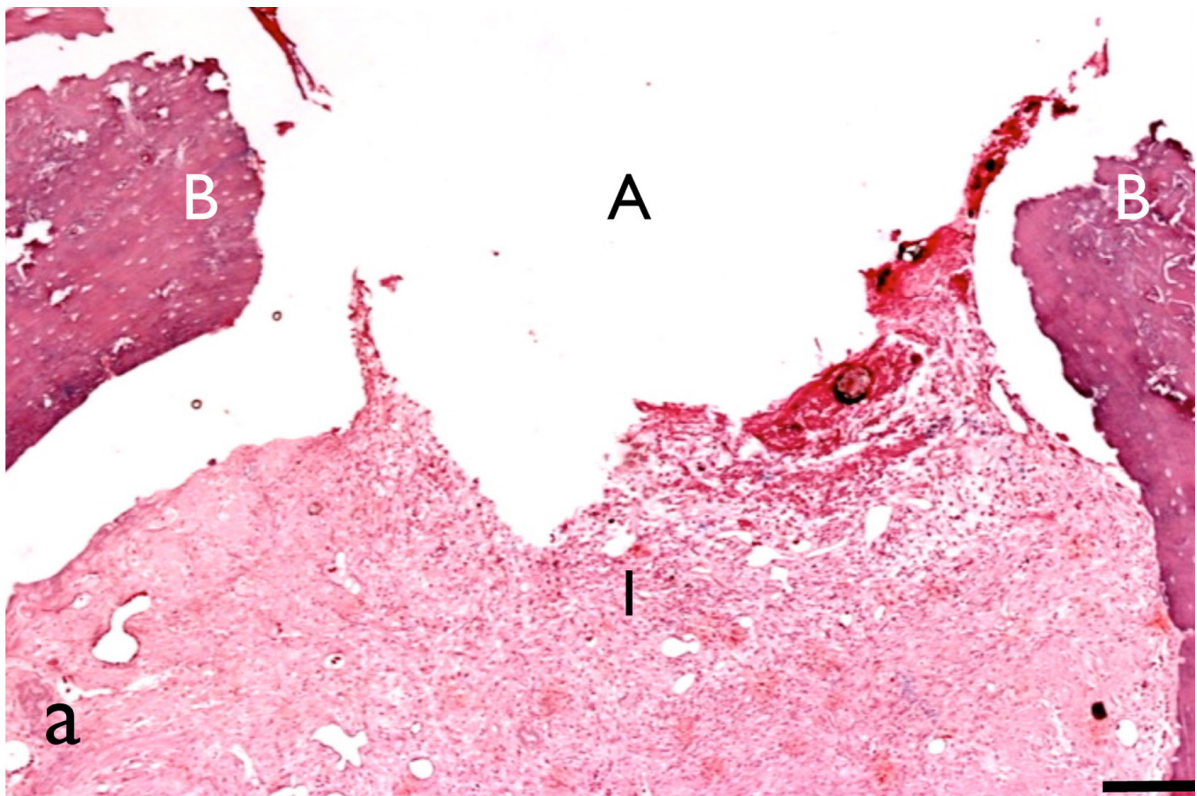
Figure 2



**ANEXO 4**

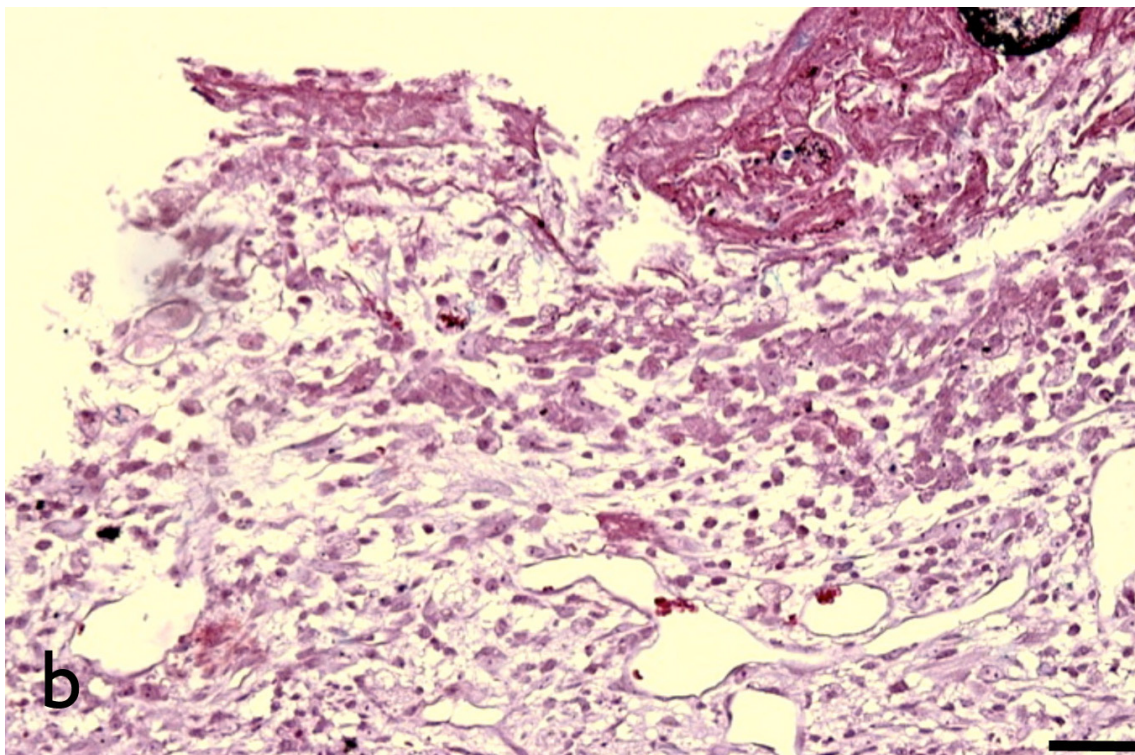
**Figura 3 – Cortes histológicos representativos.**

**Figura 3a – Ausência de barreira óssea; presença de osso (B); Cavidade de acesso (A) e infiltrado inflamatório (I). Animal do grupo AH Plus, 7 dias (aumento de 100x)**



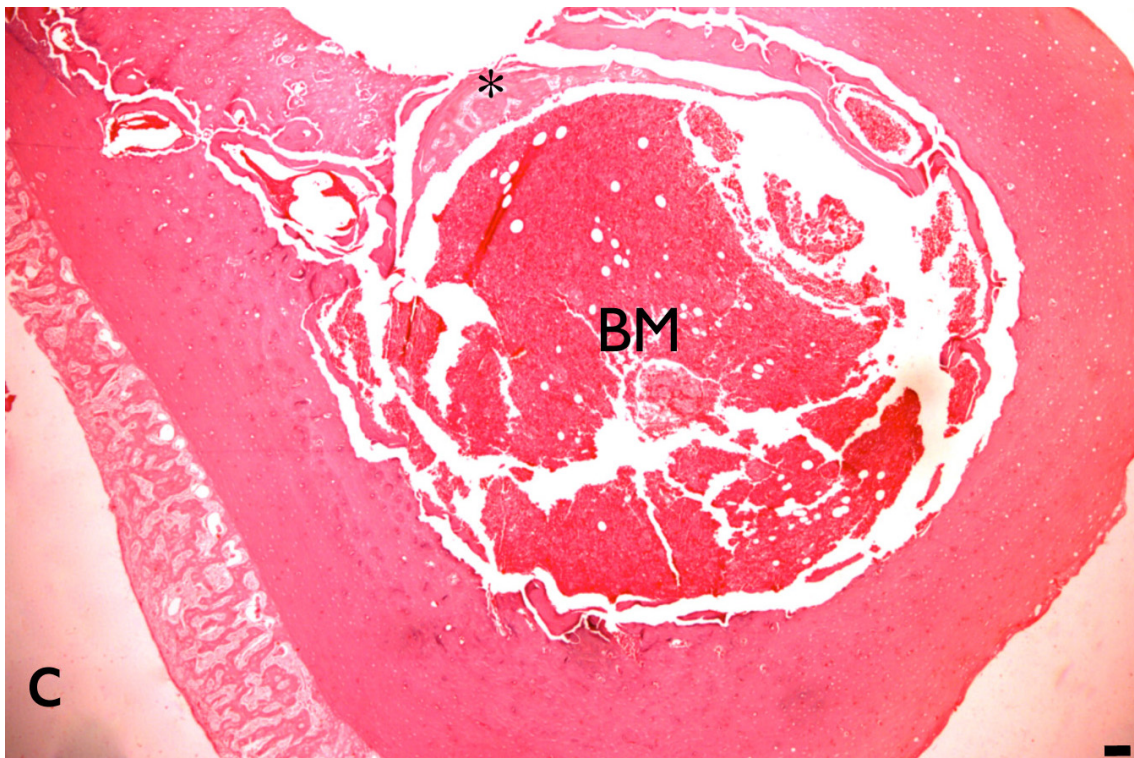
**ANEXO 5**

**Figura 3b – Maior aumento do infiltrado inflamatório da figura 3a, próximo à cavidade de acesso (aumento de 400x).**



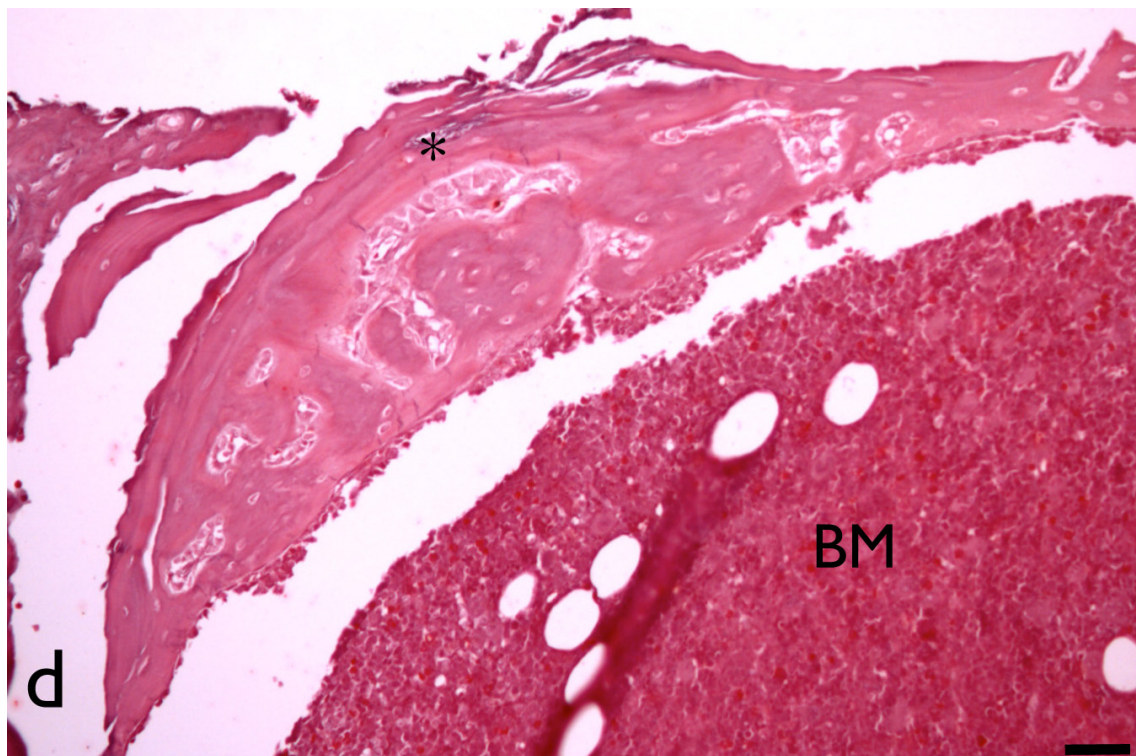
## ANEXO 6

Figura 3c – Formação parcial de barreira óssea (\*): formação óssea incompleta e restabelecimento da medula óssea (BM). Animal do grupo MTA Fillapex, 30 dias (aumento de 40x).



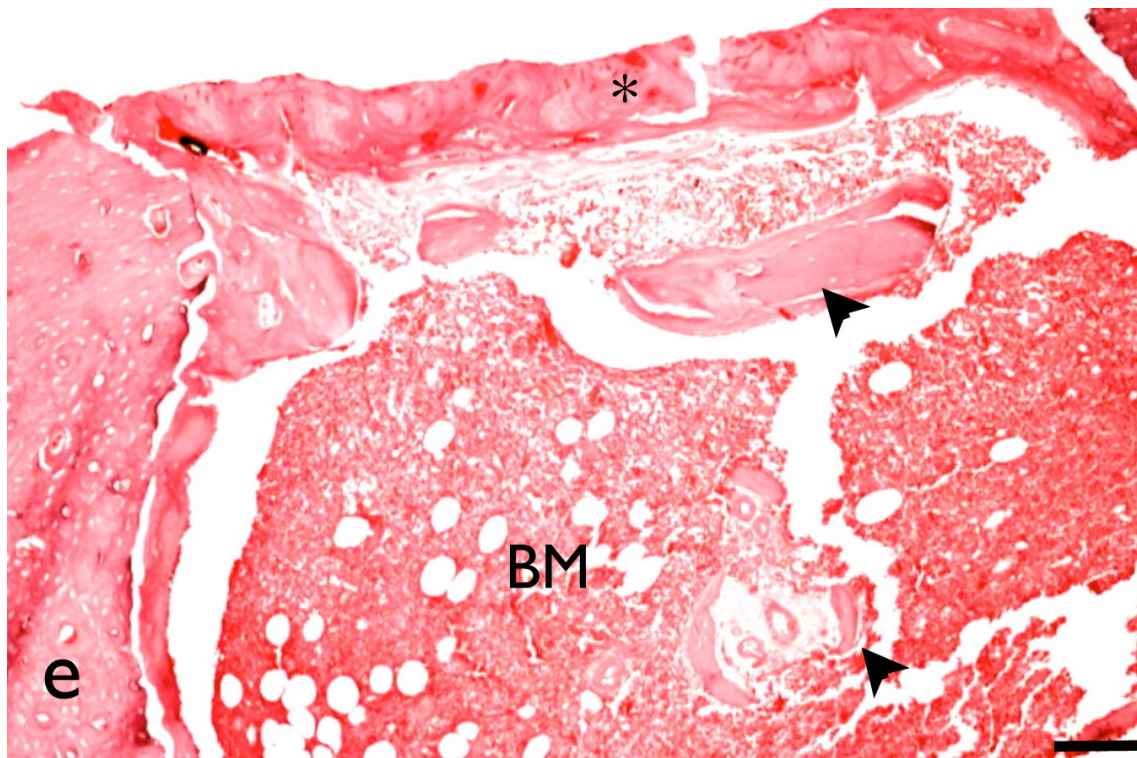
## ANEXO 7

Figura 3d – Maior aumento da barreira óssea da figura 3c, caracterizada pela presença de osso imaturo e fechamento incompleto da cavidade de acesso (aumento de 200x).



## ANEXO 8

**Figura 3e – Barreira óssea completa (\*): barreira óssea bem organizada com completo fechamento da cavidade de acesso. Veja a presença de áreas de calcificação (setas) na região da medula óssea (BM). Animal do grupo AH Plus (90 dias) (aumento de 100x).**



## ANEXO 9

**Figura 3f – Áreas de calcificação (setas). Animal do grupo MTA Fillapex. Animal do grupo MTA Fillapex, 7 dias (aumento de 200x)**

