



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA



**Cimentos endodônticos experimentais contendo vidros
bioativos 45S5 ou niobofosfato: Biocompatibilidade
bioatividade, propriedades físicas químicas e biológicas**

Olinto Santos Cardoso

**Cimentos endodônticos experimentais contendo vidros
bioativos 45S5 ou niobofosfato: Biocompatibilidade
bioatividade, propriedades físicas químicas e biológicas**

Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Odontologia como parte dos
requisitos para obtenção do título de Doutor
em Odontologia.

Orientador: José Roberto de Oliveira Bauer

Co-Orientadora: Ceci Nunes Carvalho

Este exemplar corresponde à versão final da tese defendida por Olinto Santos Cardoso,
e orientada pelos professores Dr. José Roberto de Oliveira Bauer e Ceci Nunes Carvalho

José Roberto de Oliveira Bauer

Ceci Nunes Carvalho

São Luís
2021

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Cardoso, Olinto Santos.

Cimentos endodônticos experimentais contendo vidros bioativos 45S5 ou niobofosfato: Biocompatibilidade bioatividade, propriedades físicas químicas e biológicas / Olinto Santos Cardoso. - 2021.

67 p.

Coorientador(a): Ceci Nunes Carvalho.

Orientador(a): José Roberto Bauer.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Odontologia/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2021.

1. Bioatividade. 2. Biocompatibilidade. 3. Cimentos endodônticos. 4. Partículas bioativas.. I. Bauer, José Roberto. II. Carvalho, Ceci Nunes. III. Título.

OLINTO SANTOS CARDOSO

(Cimentos endodônticos experimentais contendo vidros bioativos 45S5 ou niobofosfato:
Biocompatibilidade bioatividade, propriedades físicas químicas e biológicas)

A Comissão julgadora da Defesa da tese de Doutorado em Odontologia, em sessão virtual realizada no dia 08 / 03 /2021, com início às 09:00hs considerou o candidato.

☒ (X) APROVADO

☐ () REPROVADO

1º Examinador Prof. Dr. Edilausson Moreno Carvalho

2º Examinador Prof. Dr. Rudys Rodolfo de Jesus Tavares

3º Examinador Profa. Dra. Ceci Nunes Carvalho

4º Examinador Profa. Dra. Soraia de Fátima Carvalho de Souza

5º Presidente (Orientador) Prof. Dr. José Roberto de Oliveira Bauer

Dedicatória

Dedico esta vida acadêmica aos meus queridos pais José Olinto Cardoso de Oliveira e Leosete Santos Cardoso (*in-memorian*), que tudo fizeram ao seu modo na vereda de suas vidas, pelo meu engrandecimento, incentivando-me a combater o bom combate pelo alcance dos meus sonhos e mostrando-me a importância de servir a todos com a dignidade que a mãe vida nos oferta.

O seu exemplo de ver a vida de forma simples me dá muita força para continuar sempre lutando de forma incansável. A eles sou de todo grato, pois me legaram seus ensinamentos de bondade e honradez como principal herança. O tempo passa, a cada dia vem o sol prenunciando um novo dia, mas a presença fica não se apaga e torna-se maior e mais nítida.

Muitas saudades.

Quero também dedicar o fruto deste precioso e memorável tempo, a meus familiares Ana Cristina Lima Cardoso, Daniel Lima Cardoso e Livia Lima Cardoso pela compreensão de minhas frequentes ausências. A eles fraternamente ofereço meu melhor reconhecimento na forma mais primária de tentar preencher esta lacuna fraternal. A vocês meus eternos agradecimentos

Dedico a meus irmãos e irmãs que muito me ajudaram nas difíceis escolhas e com suas experiências me ajudaram a galgar os difíceis e tortuoso caminho que a mãe vida me ofertou.

"A glória da amizade não é a mão estendida, nem o sorriso carinhoso, nem mesmo a
delícia da companhia. É a inspiração espiritual que vem quando você descobre que
alguém acredita e confia em você"

Ralph Emerson

“O homem sábio edifica sua vida sobre a areia, para não descansar
nunca”

(Autor desconhecido)

AGRADECIMENTOS

Primeiro a Deus (este ser supremo), por todas as graças especiais que me foram concedidas guiando-me sempre. Agradeço pela oportunidade de ter posto em meu caminho pessoas iluminadas, agradeço pelas amizades conquistadas e estabelecidas pelas palavras e pelos gestos, agradeço pelo seu amparo nos momentos de quedas, por tudo que me enviaste através de forças de luzes em meus momentos difíceis de solidão.

Agradeço do fundo da alma por esta oportunidade tão especial.

Agradeço o valor da conquista e celebro o momento do encontro, sou ternamente grato pelo carinho da convivência e da paciência de meus colegas de turma **Carol, Camila, Sângela, Heloísa, e Christyann**, a todos sem distinção os meus melhores e maiores sentimentos, foi muito bom ser acolhido por todos.

As lembranças haverão de se eternizar no tecido tênue da vida.

Também agradeço e celebro o encontro no Laboratório de Materiais Dentários (Catedral do saber), com o ícone **doutor Edilausson Moreno Carvalho** trazido que fui pelo meu orientador **Professor Dr. Jose de Oliveira Bauer**. Agradeço a paciência do meu novo amigo **(Edi)**, por sua enorme ajuda e preciosa orientação.

Sou eternamente grato por tudo amigão, Deus não lhe falte nunca.

Aqui faço uma pausa para reverenciar a dádiva das oportunidades, sou profundamente grato por ter conhecido muita gente: Operacionais, funcionários, graduandos, mestrandos, doutorandos, professores da casa, visitantes, muita gente que de alguma maneira ajudaram a forjar em fogo sagrado a matéria prima da minha vida. Neste templo sagrado despido de vaidades bebi no santo graal, e de pés descalço maravilhado pisei em terra santa e aí, contemplei o virtuoso milagre do dom da amizade.

Agradeço a paciência que os técnicos de laboratório de Bioquímica e Microbiologia dispensaram, ensinando-me os primeiros passos naquele mundo mágico e sagrado. As lembranças de **Ivaldo Silva Alves Filho** acompanhadas pelas da **Thais Frazão Pinto** sempre estarão vivas na minha mente através da bonita e sincera acolhida. Peço sempre a Deus que os proteja. Lá convivi com muitas pessoas, a todos e a todas as minhas melhores lembranças com votos de reencontros. Ali sorvi do néctar sincero das boas práticas.

Agradeço a Profa. **Cecília Claudia Costa Ribeiro de Almeida** pela confiança e acima de tudo por acreditar no meu difuso potencial. Suas palavras de incentivo muito me ajudaram e deram-me noção exata da grandeza da jornada.

Muito obrigada professora, Deus a proteja sempre.

Agradeço a oportunidade da convivência salutar e sincera dos professores da clínica laboratório de materiais dentários professores: **José Ferreira Costa, Breno Mont Alverne Haddade Silva**, agradeço a oportunidade de partilhar tardes maravilhosas.

Obrigado amigos pelo apoio e dedicação.

Agradeço a dedicação e a presteza da Profa. **Dra. Karina Kato** que muito colaborou incansavelmente para a realização dos testes de radiopacidade desta pesquisa. Muito obrigado (Japona como carinhosamente eu a chamo), você foi muito importante neste processo, Deus a guarde e proteja sempre.

Agradeço a Profa. **Cláudia** e ao Prof. **Etevaldo** por prontamente cederem suas instalações para realizarmos inúmeras radiografias digitais para o nosso teste de radiopacidade.

Muito obrigado, foi de muita valia suas colaborações.

Por fim, muitas foram as pessoas que contribuíram para a elaboração deste trabalho, sem elas esta jornada teria sido muito mais difícil de ser concluída. Peço a Deus meio para saudar esta dívida.

Obrigado ao **Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Maranhão** na pessoa de todos seus professores e colaboradores. Minhas sinceras gratidões.

A FAPEMA que possibilitou que tudo isso se tornasse possível, através do apoio financeiro.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao meu amável, venerável e sincero orientador Prof. **Dr. José Roberto de Oliveira Bauer**, antes de tudo, obrigado por sua escolha, ser seu orientado como aluno de doutorado de certo muito me envaidece, agradeço o privilégio de compartilhar vosso precioso tempo comigo na forma de todos os seus ensinamentos tanto científico como de costumes, esta deferência me é muito cara, que talvez jamais consiga quita-la. Mas devê-la não me envergonha. Sabe professor é difícil se portar à frente de um monstro sagrado, de um ser de muitas luzes, de um semideus, de um poço de águas cristalinas, que você mesmo sedento, não sabe se mata a sede e vai, ou se não sacia a sede para não ter que partir. Agora que se aproxima o ocaso desta quadra sinto-me entristecido, mais ao mesmo tempo alegre, pois sei que outros haverão de sorver deste precioso néctar exarado na forma de conhecimentos, verdades, lealdades, ombro amigo. Agradecer o seu paciente trabalho de mestre lapidador seria muito pouco diante da matéria sem forma que eu me encontrava. Render homenagens por seu perseverante trabalho como um dos doze de Hércules seria a melhor e mais digna forma de reverências sua pessoa. Obrigado por me fazer entender a ciência, pois agora vejo que uma mente quando se abre jamais volta a ficar do mesmo tamanho. A você todo merecimento do mundo, que as pessoas percebam que nesta nação tão sofrida, desigual, carente, abalada brutalmente por esta pandemia do COVID19, ainda existam pessoas como você que faz da cátedra instrumento de fé, fomentando amor, progresso e civilização.

Deus o guarde meu amigo, obrigado sempre...

A Professora Dra. Ceci Nunes Carvalho co-orientadora, agradeço sua amizade entendendo que a glória dela, não é a mão estendida, o sorriso, ou o privar da agradável companhia, mas algo muito mais sublime, que se traduz em uma inspiração divina materializada na revelação de ser distinguido entre tantos. De certo você encontrou na sublime comédia da vida humana a matéria que a tornou uma mulher tão do presente, e que a história escreve a cada dia em versos e prosas no livro imaterial do tempo a bonita história de sua vida. Agradeço a todo dia esta distinção. Muito obrigado!

Cimentos endodônticos experimentais contendo vidros bioativos 45S5 ou niobofosfato: Biocompatibilidade bioatividade, propriedades físicas químicas e biológicas

RESUMO

Avaliar a influência de partículas bioativas de vidro niobofosfato (NbG) ou 45S5 nas propriedades físicoquímicas e biológicas de dois cimentos endodônticos experimentais por intermédio dos testes: Tempo de presa (inicial e final), radiopacidade, escoamento, alteração de pH em ambiente ácido (pH=4) e neutro (pH=7), alteração de massa (sorção e solubilidade), bioatividade por (MEV/EDS, FTIR/ATR e DR-X); e biocompatibilidade por viabilidade celular. Os resultados foram comparados entre si e com diferentes cimentos comerciais à base de resina epóxi (AH Plus), OZE (Endofill), biocerâmicos (MTA Fillapex, EndoSequence). Os dados foram analisados por testes (*one-way* ANOVA) e pós-teste de Holm-Sidak ($\alpha=5\%$), teste Kruskal-Wallis e pós-teste Students-Newman-Keuls ($\alpha=5\%$). Os cimentos experimentais contendo 45S5 e NbG em suas propriedades físicoquímicas apresentaram grande perda e alteração de massa. O cimento composto de 45S5 não apresentou radiopacidade. O AH Plus apresentou os maiores valores de viabilidade celular seguido dos 45S5; NbG; MTA; BC Sealer e Endofill. A análise em MEV/EDS identificou precipitados com altas concentrações de Ca/P nos cimentos de 45S5 e NbG, bem como no MTA Fillapex, BC Sealer, com exceção do AH plus e Endofill. As análises de FTIR/ATR e DRX mostraram que os dois cimentos experimentais e os comerciais MTA Fillapex e BC Sealer apresentaram picos precursores de hidroxiapatita. Os grupos bioativos demonstraram alcalinizar o meio. Com base nas evidências, conclui-se ser promissor o uso de cargas bioativas em cimentos endodônticos uma vez que elas não influenciaram de forma negativa as propriedades físicoquímicas e biológicas dos cimentos endodônticos experimentais.

Palavras-Chave: bioatividade; biocompatibilidade; cimentos endodônticos; partículas bioativas.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	10
2.	REVISÃO DA LITERATURA	13
3.	MATERIAIS E MÉTODOS	18
4.	ANÁLISE ESTATÍSTICA	29
5.	RESULTADOS	30
6.	DISCUSSÃO	53
7.	CONCLUSÃO	58
8.	REFERÊNCIAS	59

1. INTRODUÇÃO

Cimentos endodônticos biocerâmicos de silicatos de cálcio possuem pH alcalino, biocompatibilidade e bioatividade (Parirokh et al., 2018¹), que podem modular o ambiente dos tecidos apicais por meio do contato direto via apical ou indiretamente por difusão dos túbulos dentinários, canais acessórios, deltas apicais (Giacomino et al., 2019²). Estes cimentos endodônticos possuem a capacidade de liberar íons de cálcio/fósforo, os quais podem melhorar o processo de reparo óssea (Giacomino et al., 2019²; Bortoluzzi et al., 2015³; Yasukawa et al., 2017⁴; Sultana et al., 2018⁵). Além disso, também são biocompatíveis, e não apresentam contração de presa. Outra vantagem é sua capacidade de formar hidroxiapatita na interface dente-material durante o processo de presa propiciando a interação entre o substrato e o material endodôntico (Loushine et al., 2011⁶). Isto, de alguma maneira aponta que o uso destes materiais pode ser determinante em algumas situações clínicas, onde estes materiais interajam e estimulem os tecidos periapicais, contribuindo na neoformação de tecido ósseo. Assim, estes biomateriais podem ter indicação para os casos de dentes com reabsorções internas ou externas, com ápices abertos e em casos de lesões periapicais extensas.

Por outro lado, esses cimentos apresentam, longo tempo de presa, e alta solubilidade o que leva a uma alta degradação ao longo do tempo (Setbon et al., 2014⁷; Hosoya et al., 2019⁸). Uma alternativa aos cimentos biocerâmicos de silicato de cálcio, seria a incorporação de partículas de vidros bioativos no cimento. O primeiro vidro bioativo e talvez o vidro mais conhecido na literatura foi sintetizado por Hench (Hench, 1991⁹): biovidro 45S5 (45% SiO₂; 24,5% CaO, 24,5% Na₂O, 6% P₂O₇). Este caracteriza-se por ser um fosfossilicato de cálcio/sódio bioativo que estimula a formação de hidroxiapatita, a remineralização dos tecidos dentais e, a osteogênese (Hench, 1991⁹; Sepulveda et al., 2001¹⁰; Ryou et al., 2011¹¹; Sauro et al., 2011¹²). Essa capacidade de formar novos tecidos vem de sua característica de liberar

rapidamente e em grandes volumes íons, como por exemplo: PO_4^{-3} , Ca^{+2} , Si^{+4} , Na^{+1} , os quais podem estimular a formação de tecido mineralizado (Sepulveda et al., 2001¹⁰).

Esse fenômeno é em razão da formação de ligações de silanol (Si-O-Si-O-Si) na superfície da partícula do vidro (45S5) que permite essa troca iônica intensa. Em razão disso, o vidro 45S5 assim como os cimentos (silicatos de cálcio) apresentam o mesmo problema de instabilidade química, resultando em grande solubilidade.

Embora a bioatividade tenha sido a propriedade que caracterizou os biovidros em um primeiro momento, outras publicações atribuem também capacidade para aumentar a osteogênese (por intermédio de um controle direto sobre os gens que regulam a indução e progressão do ciclo celular (Alno et al, 2010¹³; Hopp et al., 2011¹⁴). Para Silver (Silver et al., 2001¹⁵) este efeito benéfico dos biovidros (osteogênese) pode ser devido, à uma alcalinização controlada, que por sua vez aumenta a síntese e reticulação do colágeno, bem como também a formação de hidroxiapatita.

Em razão das adequadas propriedades que vem sido demonstradas, vidros bioativos com diferentes composições (e objetivando substituir a sílica) têm sido desenvolvidos. Por exemplo, os vidros bioativos fosfatos à base de nióbio (Nb) parecem ser uma alternativa viável em razão de sua alta estabilidade química causada pela camada dióxido de nióbio (Nb-O-Nb-O) em sua superfície; (Samuneva et al., 1991¹⁶; Pittman et al., 1993¹⁷; Sene et al., 2002¹⁸; Karlinsey et al., 2006¹⁹; Chenu et al., 2012²⁰; Leitune et al., 2013²¹; Viapiana et al., 2013²²; Pradhan et al., 2015²³; Balbinot et al., 2020²⁴) conferindo, maior estabilidade química e melhores propriedades mecânicas (Carvalho et al., 2016²⁵; Bauer et al., 2016²⁶). Além de induzir a formação de precipitados bioativos, de maneira semelhante aos vidros à base de sílica 45S5 (Carneiro et al, 2017²⁷; Lee et al., 2002²⁸). Recentemente, inúmeros estudos vêm mostrando que o vidro experimental (fosfatos à base de nióbio) denominado niobofosfato (NbG) apresentam bons resultados no controle do pH, capacidade antimicrobiana, liberam íons e apresentam alta

estabilidade química (Sene et al., 2002¹⁸), bem como adequada radiopacidade e resistência mecânica.

Desta forma acredita-se na capacidade e na eficácia das partículas bioativas de vidro 45S5 ou nionofosfato (NbG) como melhoria das propriedades fisicoquímicas e biológicas dos cimentos endodônticos.

A utilização de vidros bioativos fosfatos à base de nióbio (Nb) na Odontologia ainda é recente, mas já há bons resultados nas propriedades de alguns materiais odontológicos experimentais como: guta-percha, sistemas adesivos convencionais, autocondicionantes, resina usadas para a colagem de brackets ortodônticos, e pastas para o tratamento da hipersensibilidade (Carvalho et al., 2016²⁵; Bauer et al., 2016²⁶; Carneiro et al, 2017²⁷).

Desta forma, o objetivo deste estudo foi desenvolver cimentos experimentais à base de vidros bioativos, e avaliar a sua influência por intermédio de testes: bioatividade (viabilidade celular), biocompatibilidade (viabilidade celular) e caracterizar algumas propriedades fisicoquímicas, afim de proporcionar uma comparação com cimentos endodônticos disponíveis no mercado à base de resina epóxi (AH Plus), óxido de zinco e eugenol (Endofill), biocerâmicos (MTA Fillapex e BC Sealer).

2. Referencial Teórico

A obturação endodôntica tradicional com gutapercha e cimento obturador convencional não adere idealmente à dentina e a gutapercha, e esse sistema não se comporta mecanicamente como uma unidade homogênea em relação à dentina radicular (Lee et al., 2002²⁸). Um dos objetivos da endodontia é encontrar o material ideal com propriedades físico-químicas e biológicas para obturar o sistema de canais radiculares e desenvolver um selamento impermeável (Giacomino et al., 2019²).

Os cimentos de óxido de zinco e eugenol foram introduzidos por Grossman em 1958, a grande vantagem destes cimentos é o fato de não sofrerem contração, preencherem adequadamente todos os espaços, apresentarem baixo custo, facilidade de manipulação e boa radiopacidade. A solubilidade apresentada nos fluidos teciduais e alguma toxicidade associada, são desvantagens atribuídas a estes cimentos. A sua presa dá-se por reação de ácido-base, em que o óxido de zinco atua como base e o eugenol como ácido, formando um sal quelato de eugenelato de zinco e água (Guigand et al., 1999²⁹).

Os cimentos à base de resina epóxi (AH Plus) surgiram como alternativa aos cimentos existentes no mercado em função das suas características como uma boa adesão à estrutura dentária, longo tempo de trabalho, facilidade de manipulação e boa penetração em canais laterais. O cimento AH Plus é um cimento composto por duas pastas, cuja polimerização resulta da reação resina epoxi-amina. Segundo a literatura, este cimento tem efeito antimicrobiano moderado (Kayaoglu et al., 2005³⁰), apresenta baixa solubilidade e adequada estabilidade dimensional, conferindo maior imbricação nos túbulos dentinários e melhor infiltração marginal (Timpawat et al., 2001³¹).

A literatura tem mostrado que partículas bioativas, quando incorporadas em materiais odontológicos, resultam em melhora no uso clínico, como por exemplo: em compósitos resinosos, pastas para combater a hipersensibilidade, cimento de ionômero de vidro, sistemas

adesivos, cimento para proteção pulpar, cimentos endodônticos, guta-percha etc. Esta incorporação de partículas agrega todos os benefícios de suas propriedades: biocompatibilidade, controle de pH, liberação de íons precursores da hidroxiapatita, além de inibir a formação de biofilmes microbianos (Zhang et al., 2009²; Loushine et al., 2011⁶; Candeiro et al., 2012³²; Carvalho et al., 2016²⁵; Giacomino et al., 2019²).

Em virtude das adequadas propriedades, estudos reportaram a aplicabilidade clínica de cimentos endodônticos contendo diferentes inclusões de partículas bioativas (silicato de cálcio, por exemplo) (Gandolfi et al., 2010³³).

Com esta proposta surgiu o agregado trióxido mineral (MTA), inicialmente recomendado como biomaterial alternativo para preenchimento radicular. Originalmente o ProRoot MTA tinha como base o cimento Portland, composto de silicato tricálcico e bicálcico, aluminato tricálcico e aluminoferrito tetracálcico, sendo classificado como um cimento hidráulico (necessita umidade para tomar presa).

Estudos já mostraram que o MTA original (bem como os outros cimentos desenvolvidos, à base de MTA) apresentam as seguintes propriedades: biocompatibilidade, bioatividade e capacidade de formação de apatita (Gandolfi et al., 2013³⁴; Gandolfi et al., 2015³⁵), selam o sistema de canais impedindo a comunicação com o periodonto (Weldon et al., 2002³⁶; Pelliccioni et al., 2007³⁷).

No entanto, o MTA original, por ser refinado direto do cimento Portland (Malhotra et al., 2013³⁸), traz consigo alumínio e uma quantidade substancial de metais pesados como arsênio (As), chumbo (Pb), cádmio (Cd), cobre (Cu), Ferro (Fe), Manganês (Mn), níquel (Ni), e zinco (Zn) (Demirkaya et al., 2016³⁹). O alumínio é um metal altamente tóxico, mais conhecido por sua neurotoxicidade (Exley et al., 2014⁴⁰), genotoxicidade (Lukiw et al., 2007⁴¹), e sua relação com a patogênese da doença de Alzheimer, demência, hiperatividade, distúrbio de aprendizagem em crianças, doença de Parkinson, esclerose lateral amiotrófica, além de doenças

esqueléticas e hematológicas (Crapper et al., 1973⁴², Cooke et al., 1991⁴³, Yasui et al., 1992⁴⁴, Forbes et al., 1995⁴⁵, Han et al., 2013⁴⁶)

Além disso, o óxido de bismuto, radiopacificador presente no cimento original (em alguns outros, como por exemplo o primeiro MTA Angelus) (Camilleri et al., 2008⁴⁷), pode não participar do processo de bioatividade, e pode afetar a coloração da dentina principalmente em contato com o hipoclorito de sódio (Vallés et al., 2013⁴⁸, Camilleri et al., 2014⁴⁹, Shokouhinejad et al., 2016⁵⁰), e também diminuir a estabilidade mecânica (por atraso na hidratação das partículas, prolongando o tempo de presa), induzir falhas e aumentar a porosidade e solubilidade, provavelmente devido à redução da sua estabilidade molecular (Coomaraswamy et al., 2007⁵¹), que parece afetar a resistência e a durabilidade do material (Li et al., 2013⁵²).

Recentemente o mercado tem sido invadido com diversos cimentos bioativos (chamados de cimentos de silicato de cálcio ou de cimentos biocerâmicos), dentre eles, o cimento EndoSequence BC Sealer (Brasseler, Savannah, GA, EUA), que se apresenta como destaque. Esse material possui em sua composição partículas de vidro a base de silicato. Em torno de 2017, estudos demonstraram que o Endosequence BC Sealer indicava bioatividade, pois a hidroxiapatita foi formada após a fixação do material (Carvalho et al., 2017⁵³). Giacomino et al., (2019²) comparou o cimento endodôntico biocerâmico BC Sealer com o resinoso AH Plus e encontrou propriedades de biocompatibilidade e potencialidade osteogênica, as quais não foram encontradas no cimento AH Plus.

Outros estudos publicados também demonstraram diversas características que reforçavam a aplicabilidade clínica dos cimentos biocerâmicos. Por exemplo, Emara et al., (2018⁵⁴), em uma revisão sistemática, concluiu que os cimentos à base de silicato de cálcio eram biocompatíveis, osteogênicos e angiogênicos características que foram encontradas também por Giacomino et al., (2019²). Ao contrário, algumas desvantagens desse tipo de cimento também já foram demonstradas. Borges et al., (2012⁵⁵), usando um ensaio de

solubilidade, mostraram que os cimentos biocerâmicos tem sua porosidade aumentada, permitindo a formação de fendas dentro do material e na interface material-parede do canal radicular, tornando mais susceptíveis à infiltração bacteriana.

Considerando algumas desvantagens dos cimentos biocerâmicos, é possível dizer que sempre há espaço para o desenvolvimento de novos materiais. A incorporação de diferentes partículas/compostos é uma alternativa que vem sendo testada. Por exemplo, os vidros de silicato, conhecidos cuja composição básica é 45%SiO₂, 24.5%Na₂O, 24.5%CaO, 6%P₂O₅ (em mol%), encontraram amplo uso em aplicações de biomateriais devido a sua capacidade em depósito de apatita, que contribui para a osseointegração (Hench, 2006⁵⁶), indicando ser o biovidro capaz de induzir a mineralização de superfícies e tecidos (Hench, 2006⁵⁶; Vollenweider et al., 2007⁵⁷). Estudos *in vivo* provaram que os biovidros estabelecem ligação com osso mais rapidamente do que qualquer outro composto biocerâmico (Jones et al., 2015⁵⁸) mas, no entanto, apresentam durabilidade química muito pequena (Bertolini et al., 2008⁵⁹), alta taxa de dissolução e fragilidade. Assim, o controle das reações da biodegradação e bioatividade pode ser alcançado através das modificações das composições dos biovidros (Vallet-Regi et al., 2001⁶⁰).

Outro elemento com potencial para estimular a deposição mineral é o Nióbio. Sua utilização na área odontológica é recente, contudo, já demonstrou melhora nas propriedades quando aplicado a diferentes materiais odontológicos (Carvalho et al., 2016²⁵, Bauer et al., 2016²⁶, Carneiro et al., 2017²⁷).

A adição de nióbio na composição dos vidros bioativos foi proposta para substituir a sílica, obtendo vidro bioativo de niobofosfato (NbG). A presença de nióbio em ambiente úmido atua como formador de estruturas vítreas em cadeias que apresentam ligações do tipo O-P-Nb-O-P-o e Nb-O-Nb, substituindo grupos fosfatos em coordenações tetraédricas resultando em melhor durabilidade química (Sene et al., 2002¹⁸), melhorando sua biocompatibilidade e

aumentando a radiopacidade do material (Carvalho et al., 2016²⁵, Han et al., 2013⁴⁶). O nióbio é um óxido metálico que manifesta propriedades de cristalinidade e automontagem, e funciona como um eficiente nucleador de hidroxiapatita e regulam positivamente (*upregulate*) os gens que controlam a diferenciação das células envolvidas na osteogênese (Kushwaha et al., 2012⁶¹, Obata et al., 2012⁶²; Sene et al., 2004⁶³; Chenu et al., 2012²⁰ Viapiana et al., 2013²²). Miyazaki et al., (2001⁶⁴) estudaram géis de óxido de nióbio e constataram que os grupos Nb-OH podem atuar como centros de nucleação para apatita, semelhante os grupos silanóis Si-OH. Outros estudos indicam reduzida citotoxicidade (Silva MHP et al., 2011⁶⁵), promoção significativa da calcificação de osteoblastos, além de apresentar potencial de promover a atividade de fosfatase alcalina, um marcador importante para o processo de geração de osso novo (Tamai et al., 2007⁶⁶). As hipóteses que a literatura testou foram que, em contraste com a sílica, o Nb participaria efetivamente da reação de osseointegração devido à sua alta biocompatibilidade com outros minerais Ca-P (Viapiana et al., 2013²²).

Assim, sistemas vítreos contendo nióbio podem melhorar a durabilidade química, radiopacidade e biocompatibilidade de cimentos endodônticos, podendo substituir óxidos radiopacificadores, (lembrando que óxidos podem afetar negativamente o material). Ainda, a resistência química dos vidros de silicato pode ser aumentada pela adição do nióbio que exerce um efeito favorável sobre várias propriedades físicas e químicas em sistemas de silicato (Pradhan et al., 2015²³). Em ambiente úmido aumenta sua durabilidade química (Samuneva et al., 1991¹⁶; Karlinsey et al., 2006¹⁹) e mecânica, e apresenta citotoxicidade reduzida (Samuneva et al., 1991¹⁶; Pradhan et al., 2015²³).

A presença do íon Nb⁵⁺ na rede vítrea promove melhorias na resistência mecânica e confere ainda, módulo de elasticidade próximo ao osso cortical (Carvalho et al., 2017⁵³). Carvalho et al. (2016²⁵) propuseram com sucesso a inclusão de partículas de nióbio à gutapercha (a fim de melhorar sua adesão à dentina radicular) e Sene et al., (2002¹⁸); Vallittu et al.,

(2018⁶⁷) aos cimentos endodônticos (objetivando melhorar a radiopacidade e a capacidade de selamento da região apical do canal radicular).

Sabe-se que um cimento endodôntico ideal deve ser capaz de garantir a vedação impermeável de todo o comprimento do espaço do canal radicular tratado. Uma resposta benéfica adicional dos vidros bioativos está relacionada à sua comprovada alcalinidade, que pode provocar um efeito antibacteriano colaborando com o processo de cicatrização (osteogênico) (Setbon et al., 2014⁷), e, assim, inibir a formação de biofilme no espaço do canal radicular (Carvalho et al., 2016²⁵). Neste contexto, sistemas vítreos baseados em nióbio têm sido de grande interesse devido à sua versatilidade estrutural e aplicações úteis.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Grupos comerciais

Os cimentos comerciais utilizados no presente estudo foram: AH Plus (Dentsply De Trey, Konstanz, Germany), Endofill (Dentsply, Petrópolis, Brasil), MTA Fillapex (Ângelus, Londrina, PR, Brasil), EndoSequence (BC Sealer, Brasseler USA, Savannah, GA, EUA). Composições, lote, fabricante e manipulação dos materiais estão descritos na Tabela 1

2.2 Grupos experimentais

Dois vidros bioativos foram utilizados: um vidro comercial (45S5 Syc, OSspray Ltd, Londres, Reino Unido) e um vidro experimental à base de niobofosfato (NbG). A composição e forma de síntese detalhadas do NbG foram descritas em estudos prévios (Carvalho et al., 2015⁶⁸; Carvalho et al., 2016²⁵). Antes da preparação dos cimentos, os vidros foram moídos em um moinho do tipo planetário (Pulverisette 5, Fritsch GmbH, Idar-Oberstein, Alemanha). Os materiais foram inseridos em jarros cerâmicos com esferas de carbeto de tungstênio (5 mm) e submetidos ao processo de moagem a seco.

2.3 Métodos

As propriedades físicoquímicas foram avaliadas por intermédio dos testes: Tempo de presa (inicial e final), radiopacidade, escoamento, alteração de pH em ambiente ácido (pH=4) e neutro (pH=7), alteração de massa (sorção e solubilidade), a bioatividade por (MEV/EDS, FTIR/ATR e DR-X); e a biocompatibilidade por viabilidade celular, os resultados foram comparados entre si e com diferentes cimentos endodônticos comerciais

Tabela 1 – Fabricante, lote, composição e a manipulação dos cimentos endodônticos utilizados.

Material (Fabricante, Lote)	Composição	Manipulação
Cimento bioativo 45S5 (Experimental)	Pasta A: Partículas bioativas 50% Pasta B: silicato de sódio, glicerina e outros componentes	Pasta base e pasta catalisadora foram dispersas em uma placa de vidro em uma proporção de 3:1
Cimento bioativo niobofosfato (Experimental)	Pasta A: Partículas bioativas 50% Pasta B: silicato de sódio, glicerina e outros componentes	Pasta base e pasta catalisadora foram dispersas em uma placa de vidro em uma proporção de 3:1
Endofill (Dentsply, Petrópolis, Brasil) (334427J)	Pó: óxido de zinco, resina hidrogenada, subcarbonato de bismuto, sulfato de bário, borato de sódio anidro. Líquido: eugenol, óleo de amêndoas doce.	Foram dispersas 3 gotas do líquido em uma placa de vidro e aglutinado de forma gradativa.
MTA Fillapex (Ângelus, Londrina, PR, Brasil) (42503)	Pasta 1: resina salicilato, sílica pirogenada e trióxido de bismuto como agente radiopaco Pasta 2: resina de MTA (40%), sílica pirogenada, dióxido de titânio e resina desalicilato de 1,3-butileno glicol	Pasta base e pasta catalisadora foram dispersas em um bloco de papel impermeável na proporção de 1:1.
AH Plus (Dentsply De Trey, Konstanz, Germany) (267201I)	Pasta A: éter de bisfenol A, diglicidil, tungsteanato de cálcio, óxido de zircônio, aerosil e óxido de ferro. Pasta B: amina adamantana, n-dibenzil-5-oxanonano-diamina, tungsteanato de cálcio, óxido de zircônio e óleo de silicone.	Pasta base e pasta catalisadora foram dispersas em um bloco de papel impermeável na proporção de 1:1.
(EndoSequence BC (Brasseler USA, Savannah, GA, EUA (10)16004SP)	Oxido de zircônio, silicatos de cálcio, fosfato de cálcio monobásico, hidróxido de cálcio, agentes de carga e de espessamento	Pasta única previamente manipulada

2.2 Propriedades físicoquímicas

2.2.1 Tempo de presa

Para o ensaio do tempo de presa, os cimentos foram manipulados e inseridos em uma matriz de silicone em forma de disco ($\varnothing$: 10x2mm), passados 1min do início da manipulação uma agulha de Gillmore de diâmetro de 2,12mm com um peso de 113,4g foi usada para a obtenção do tempo de presa inicial. Esse tempo foi determinado até a agulha não conseguir deixar marcas na superfície do espécime. Nesse momento, foi registrado o tempo de presa inicial, após esse período partiu-se para a determinação do tempo de presa final. Para a determinação do tempo de presa final foi utilizada uma agulha de Gillmore com uma ponta de diâmetro de 1,06mm e um peso de 453,6g (ASTM: C266-18) (Figura 1). Para cada material foram confeccionados cinco corpos de prova (n=5) as leituras foram realizadas em triplicata e uma media foi tirada para cada corpo de prova.

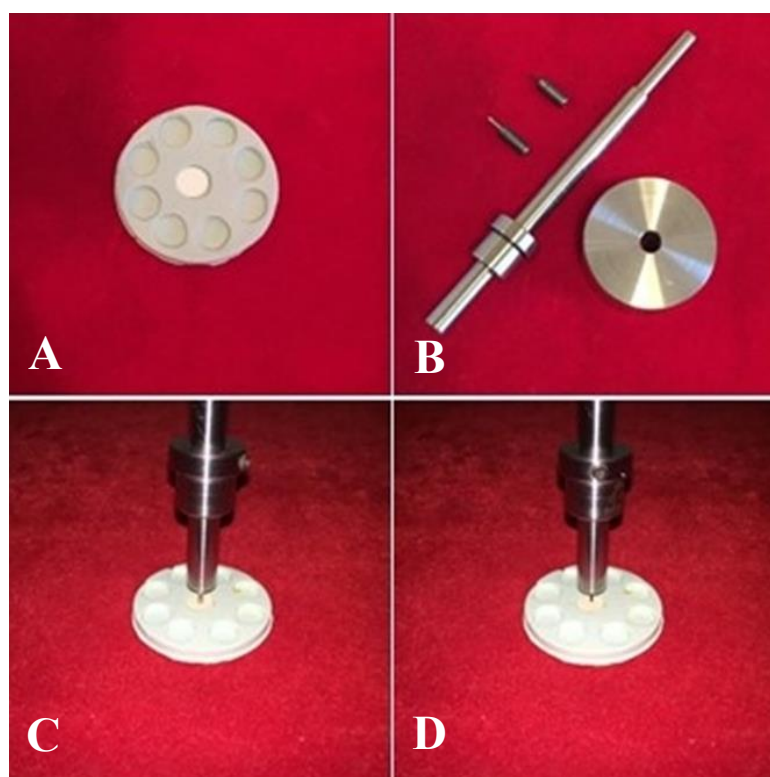


Figura 1 - Leitura do tempo de presa inicial e final dos cimentos testados. (A): Confeção do corpo de prova; (B): Agulha de Gillmore utilizada para a determinação dos tempos de presa; (C): Tempo de presa inicial; (D): Tempo de presa final.

2.2.2 Radiopacidade

Cada cimento foi manipulado e inserido em uma matriz metálica circular ($\varnothing$: 5x1mm). Após a presa final, os corpos de prova dos cimentos foram colocados em um sensor digital (Kodak RVG100 Digital Radiography sistema; Módulo Xray2Go Ex) com uma escala de alumínio. Uma fatia de um dente pré-molar humano sadio com esmalte e dentina ($\varnothing$:1mm) foi utilizada para a comparação. Esse conjunto foi posicionado a 25cm de distância de um aparelho radiográfico (Gnatus XR 6010, Ribeirao Preto, Brasil) com parâmetros de exposição de 0,20s a 70 KVp e 8 mA (ISO 6876: 2012). As imagens radiográficas obtidas foram levadas a um software (software Image Tool - versão 3.00. The University of Texas Health Science Center, San Antonio, USA) para a determinação da radiopacidade através da densidade radiográfica, a qual foi convertida em milímetros de alumínio (mmAl) (Figura 2). Para cada material foram confeccionados cinco corpos de prova (n=5) que foram lidos em triplicata.

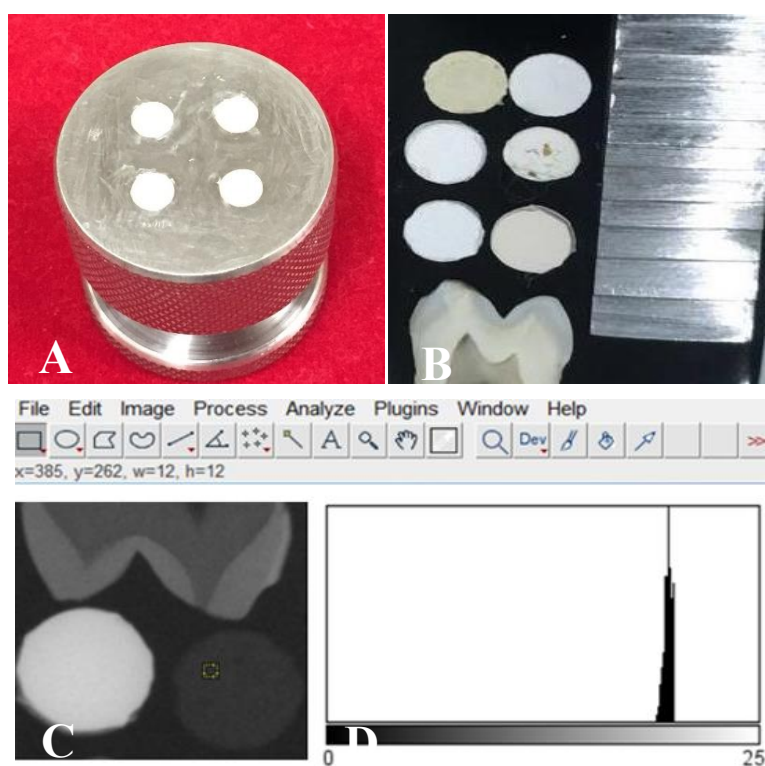


Figura 2 - (A): Esquema ilustrando a confecção dos CP; (B): Disposição no sensor dos CP, fatia do pré-molar e escala de alumínio, (C): Digitalização, (D): histograma de opacidade.

2.2.3 Escoamento

Para a determinação do escoamento, os cimentos foram manipulados e 0,05mL de cada material foi depositado no centro de uma placa de vidro (50x50x4mm) com o auxílio de uma seringa tuberculina de mL. Após 180 ± 5 seg da mistura dos cimentos, uma segunda placa de vidro (50x50x4mm) foi colocada sobre o material, e sobre esse conjunto um peso de 94g foi posicionado na superfície da placa perfazendo um peso final de 120g.

Após 10min o peso foi removido e com um paquímetro digital (Mitutoyo, Tóquio, Japão) foi realizada a mensuração máxima e mínima do diâmetro do disco formado pelo escoamento do material (ISO 6876: 2012). Para cada material foram confeccionados cinco corpos de prova (n=5) que foram lidos em triplicata. (Figura 3).

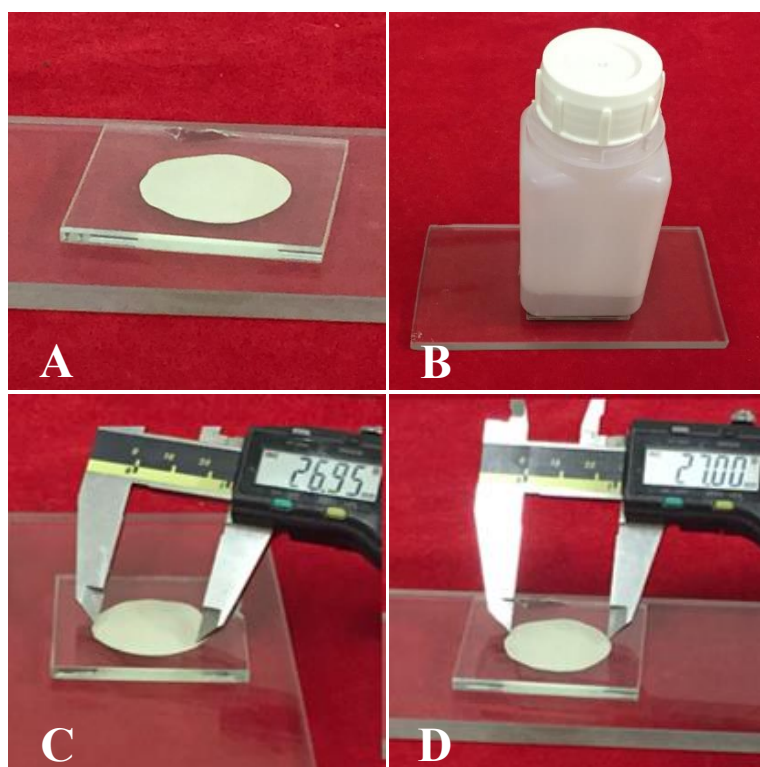


Figura 3 - (A): Esquema ilustrando a confecção dos CP, (B): Sobre peso (94g) sobre a segunda placa, (C): Registro do maior eixo, (D): Registro do menor eixo.

2.2.4 Atividade alcalinizante (pH), perda e alteração de massa

A atividade alcalinizante foi conduzida em soluções contendo diferentes $\text{pH}_{(i)}$ iniciais (4 e 7) e nos tempos de 24h, 48h, 7dias, 14dias e 28dias. Dez espécimes de cada cimento foram confeccionados em forma de disco ($\text{Ø}15 \times 2\text{mm}$) e divididos nos dois $\text{pH}_{(i)}$ testados ($n=5$).

Previamente à hidratação os corpos de prova foram pesados para obter a sua massa inicial (M_1) em balança analítica de precisão de 0,0001g para obtenção da massa inicial (M_1) (Ohaus Corporation, New Jersey, NJ, EUA) e em seguida inseridos em frascos contendo 6mL de solução e mantidos em estufa a 37°C até o momento da leitura (Figura 5).

Após períodos de armazenamento (24h, 48h, 7dias, 14dias e 28dias) as amostras foram removidas das soluções, lavadas e secadas em papel absorvente para a obtenção da massa dos discos (M_2). Em seguida, os materiais foram posicionados em novos frascos com as mesmas quantidades das soluções frescas. Após 28 dias, as amostras foram dessecadas novamente por 30 dias e pesadas até a obtenção de uma massa estável final (M_3). A sorção e solubilidade dos materiais foi determinada através das seguintes equações:

$$\text{Sorção} = \frac{\text{Massa 2} - \text{Massa 3}}{\text{Volume}}$$

$$\text{Solubilidade} = \frac{\text{Massa 1} - \text{Massa 3}}{\text{Volume}}$$

Após a determinação da massa das amostras e substituição dos frascos e soluções em cada período de avaliação, as soluções em que os espécimes estavam armazenados anteriormente foram utilizadas para a mensuração do pH. A mensuração do pH foi realizada com um eletrodo posicionado diretamente nos frascos contendo as soluções (QM-A338, Quimis, São Paulo, Brasil).

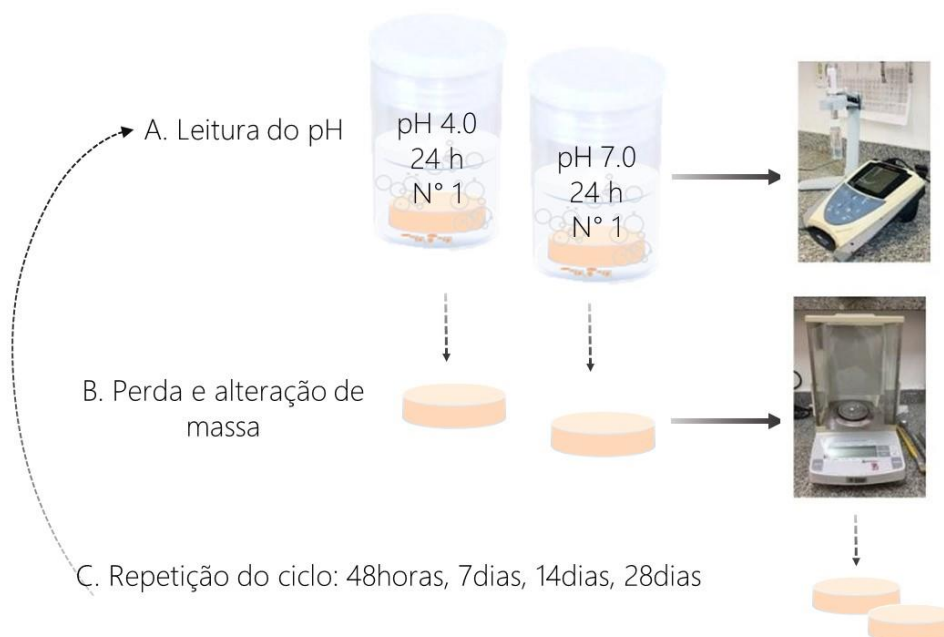


Figura 4 - (A): Esquema ilustrando o ensaio de atividade alcalinizante. (B): Ensaio de alteração de massa dos materiais testados.

2.2.5 Bioatividade (MEV/EDS, FTIR-ATR e DRX)

Dois espécimes em formato de disco ($\varnothing 10 \times 1 \text{ mm}$) foram confeccionados para cada material. As amostras foram hidratadas em frascos plásticos individuais contendo 5 mL de solução de fluido corporal simulado (SBF) e armazenados em estufa por 30 dias a 37°C . Após o período de hidratação, foram retiradas da solução e desidratadas em dessecador por 24 h.

Imagens de MEV/EDS (TM3030, Hitachi, Tóquio, Japão) em magnificações de 1000x e 5000x foram obtidas antes e após a hidratação em SBF para caracterização morfológica dos precipitados depositados na superfície. Posteriormente, espectros de FTIR/ATR foram coletados (IRTracer-100, Shimadzu, Quioto, Japão) para identificação de bandas características de precipitados de cálcio e fosfato (Kokubo et al., 1990⁹⁹). Os espectros foram obtidos em modo de transmitância, com 60 varreduras em resolução de 4 cm^{-1} e *range* de 400 a 2000 cm^{-1} , utilizando pastilhas de Brometo de potássio (KBr).

Caracterização adicional dos precipitados foi realizada através de medidas de difração de Raios-X em um difratômetro (D8 Advance, Bruker, Alemanha) com radiação Cu-K α (40

kV, 40 mA), detector linear e fenda de 0,6 mm. Todas as medidas foram feitas à 25 °C, com passo angular (2θ) de 0,02° e intervalo de medida de 4 a 94°.

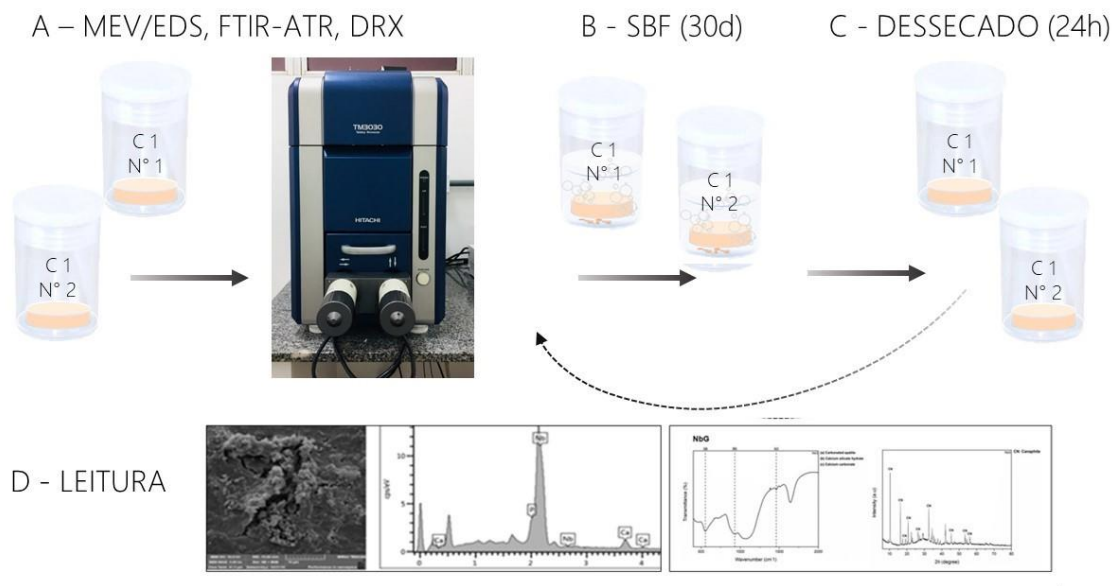
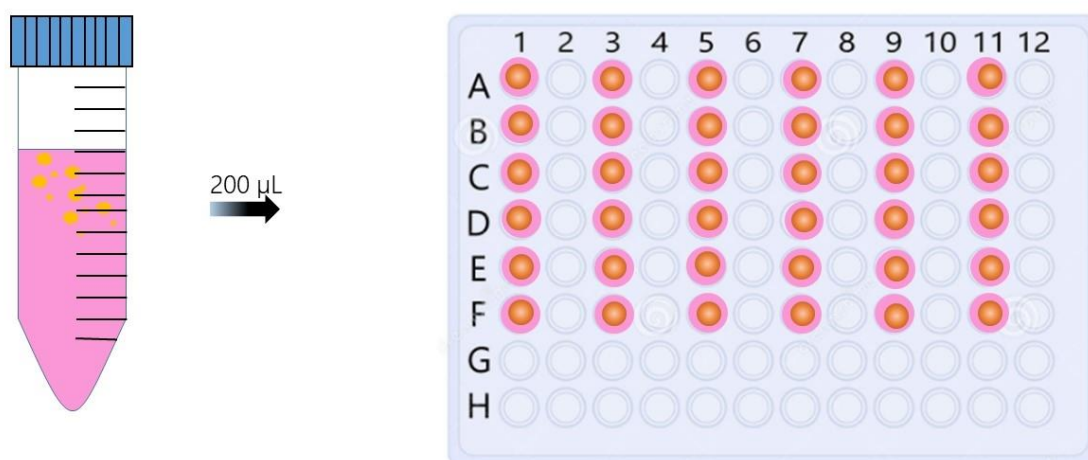


Figura 5 - Esquema ilustrando a bioatividade dos CP. (A): Leitura em MEV/EDS, (B): Imersão em SBF por 30dias, (C): Dessecação por (7d), (D): Leitura da formação de precipitados (MEV/EDS, FTIR/ATR e DRX).

2.2.6 Biocompatibilidade

As células de fibroblastos gengivais humanos HGF (American Type Culture Collection - ATCC® CRL-2014™), foram mantidas em estufa a 37°C e 5% CO₂ em atmosfera úmida, e cultivada em meio de cultura Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM; Gibco) enriquecido com 10% de soro fetal bovino (SFB; Atlanta biologicals®), 100 U mL⁻¹ de penicilina, 100 µg mL⁻¹ de estreptomicina e 250 mg mL⁻¹ Fungizone (anfotericina B; Gibco) e armazenadas a 37°C em 5% de CO₂ até o momento do uso. Para avaliar seus efeitos biológicos, o meio condicionado foi produzido por imersão dos corpos de prova (N=45, Ø 5mmx1mm h / esterilizados / luz ultravioleta / 30min), ao meio de cultura a 37°C por 24h (Figura 6).



A – Cultura (fibroblastos gengivais) B - Meio condicionado (24 h)

Figura 6 - Esquema ilustrando. (A): Cultura dos fibroblastos gengivais, (B): Condicionamento do meio com os cimentos endodônticos.

A viabilidade celular relativa das amostras foi avaliada usando solução de MTT (3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5difênil-tetrazólio brometo 0,5% + DMEM/SFB). As placas foram incubadas por 24 horas (37°C, umidade 98%, 5% de CO₂) protegidas da luz. Depois desse período, o meio foi trocado por dodecil sulfato de sódio (SDS) a 10% (100 µL/poço) e incubada por 30min a 37°C e o valor de absorvância foi registrado em leitura espectrofotométrica a um comprimento de onda de 550nm (Synergy H1, Bio Tek Instruments, Winooski, VT, EUA). A partir dos valores de absorvância obtidos foram calculadas as porcentagens de viabilidade celular. O cálculo considerou: % Viabilidade = TA / T1 x100. Onde: TA = média da absorvância da célula tratada – absorvância do branco da amostra / T1 = absorvância da suspensão celular sem tratamento. Foram gerados gráficos comparativos entre as concentrações testadas e as porcentagens de crescimento e viabilidade celulares utilizando-se o programa GraphPad Prism. (GraphPad Software, LLC, 2365 Northside Dr., Suite 560, San Diego, CA 92108, EUA) Figura 7.

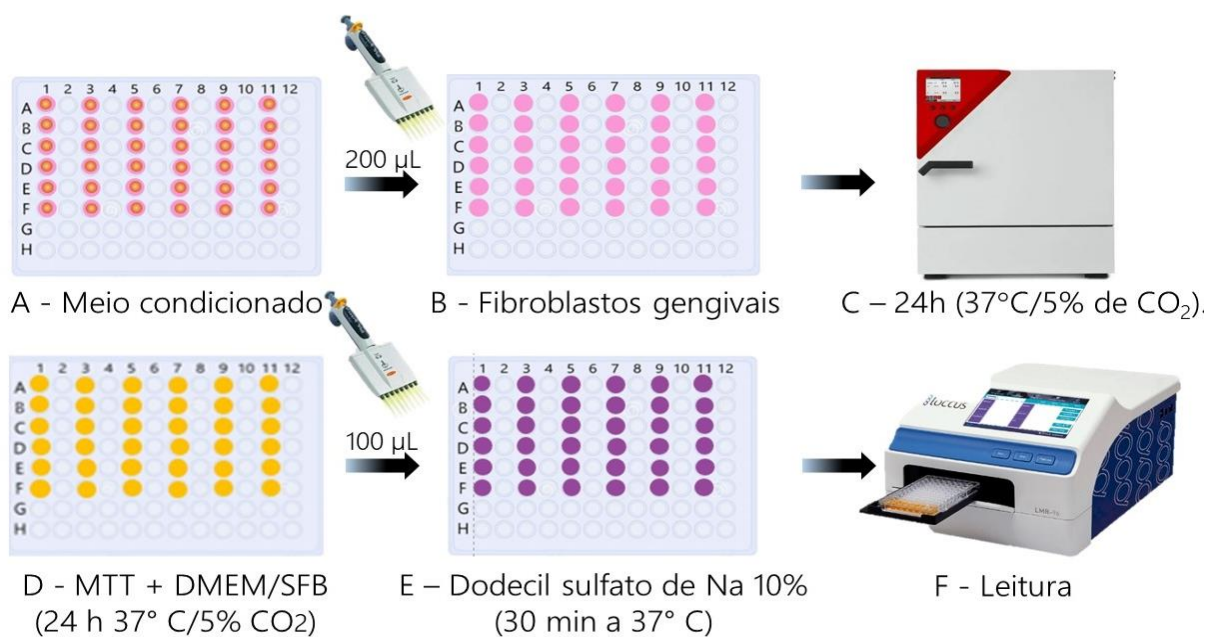


Figura 7 - Esquema ilustrando a atividade de citotoxicidade celular. (A): Cimentos + meio de cultura, (B): Fibroblastos gengivais imersos em meio condicionado, (C): Placas armazenadas, (D): Meio de cultura + MTT incubadas e protegidas da luz, (E): Meio contendo SDS, (F): Leitura espectrofotométrica.

2.3 Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando o *software* SigmaPlot (SigmaPlot 13.0, Systat Software Inc., San Jose, CA, USA). Todos os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk ($\alpha=0,05$).

Os dados de tempo de presa inicial, tempo de presa final e escoamento foram submetidos ao teste de análise de variância para um fator (*one-way* ANOVA) e pós-teste de Holm-Sidak ($\alpha=0,05$) para contraste de média.

Para os testes de radiopacidade, perda de massa e viabilidade celular os dados foram submetidos ao teste Kruskal-Wallis (One-way) e pós teste Students-Newman-Keuls ($\alpha=0,05$). Os dados de pH, alteração de massa e bioatividade (MEV/EDS, FTIR/ATR e DRX) foram apresentados de forma descritiva.

3. RESULTADOS

3.1 - Tempo de presa

A média e os desvios-padrão para o teste do tempo de presa estão apresentados na Figura 8. De acordo com a análise estatística realizada, observa-se uma diferença significativa entre os grupos testados ($p < 0,05$). A maior média de tempo de presa inicial foi obtido para o 45S5 e a menor para o Endofill ($p < 0,05$). Já para o tempo de presa final a maior média foi obtida para o BC Sealer e a menor para o Endofill ($p < 0,05$).

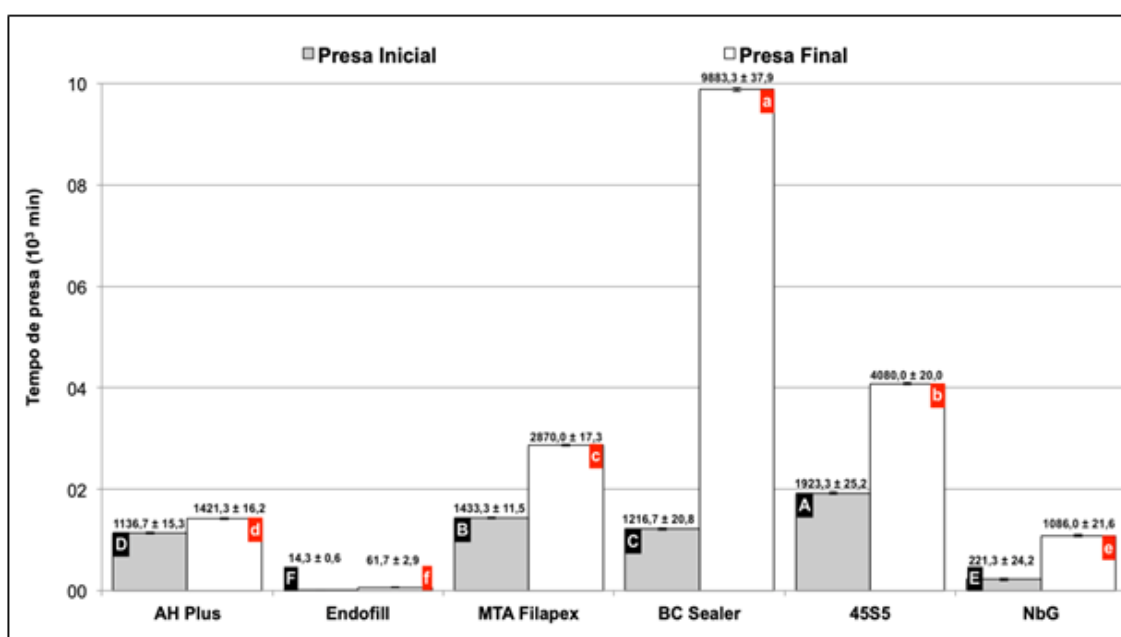


Figura 8 - Média e desvios-padrão dos resultados de tempo de presa inicial e final dos materiais testados*.

*Diferentes letras maiúscula indicam diferença estatística dos valores de tempo de presa inicial ($p < 0,05$).

**Letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística dos valores de tempo de presa final ($p < 0,05$).

3.2 - Radiopacidade

A média e os desvios-padrão para o teste da radiopacidade estão apresentados na Figura 9. De acordo com a análise estatística realizada, pode-se observar diferença significativa de radiopacidade entre os grupos tratados ($p < 0,001$), sendo que a maior média de radiopacidade foi obtida para o AH Plus, seguido do Endofill, BC Sealer, MTA Fillapex, esmalte, NbG, dentina e, 45S5. Todos os grupos apresentaram radiopacidade superior à dentina ($p < 0,05$),

exceto o experimental 45S5. O grupo MTA Fillapex foi semelhante ao esmalte dentário ($p>0,05$).

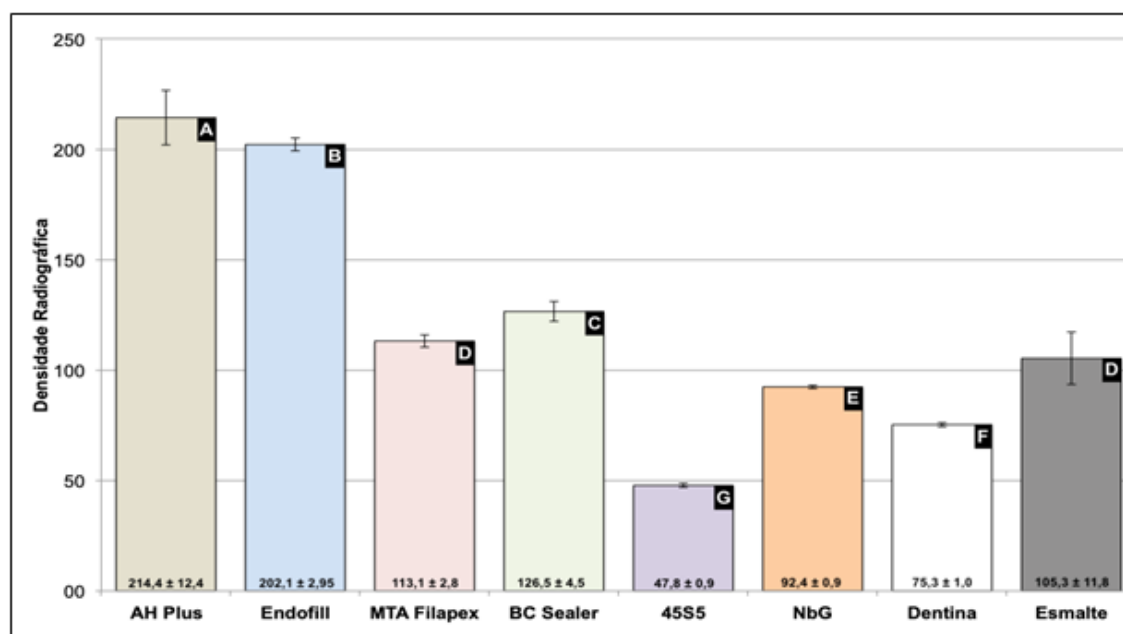


Figura 9 - Média e os desvios-padrão dos resultados da radiopacidade dos materiais testados*.

**Diferentes letras maiúsculas representam diferença estatística ($p<0,05$).*

3.3 - Escoamento

A média e o desvio-padrão para o teste do escoamento estão apresentados na Figura 10. De acordo com a análise estatística realizada, pode-se observar que não houve diferença significativa entre os grupos de tratamento ($p=0,051$).

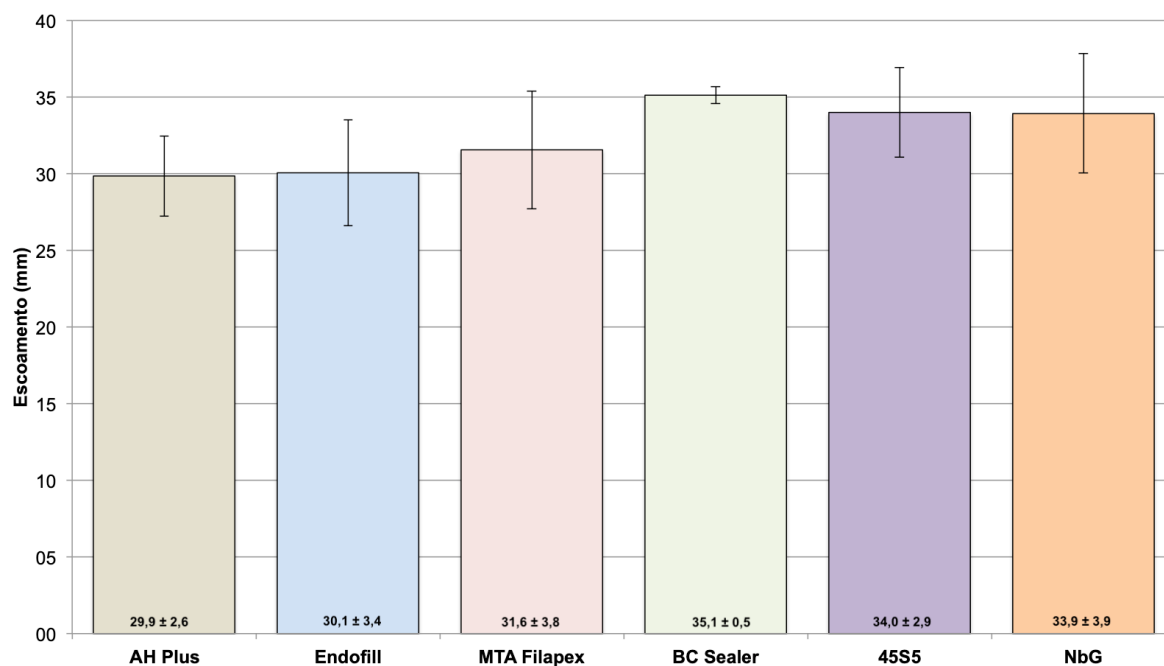


Figura 10 - Média e os desvios-padrão dos resultados do escoamento dos materiais testados ($p=0,051$).

3.4 – Atividade alcalinizante

Na Figura 11 está a representação gráfica dos valores do pH dos materiais testados em diferentes períodos (24 h, 48 h, 7 dias, 14 dias e 28 dias) com pH inicial igual a 4.

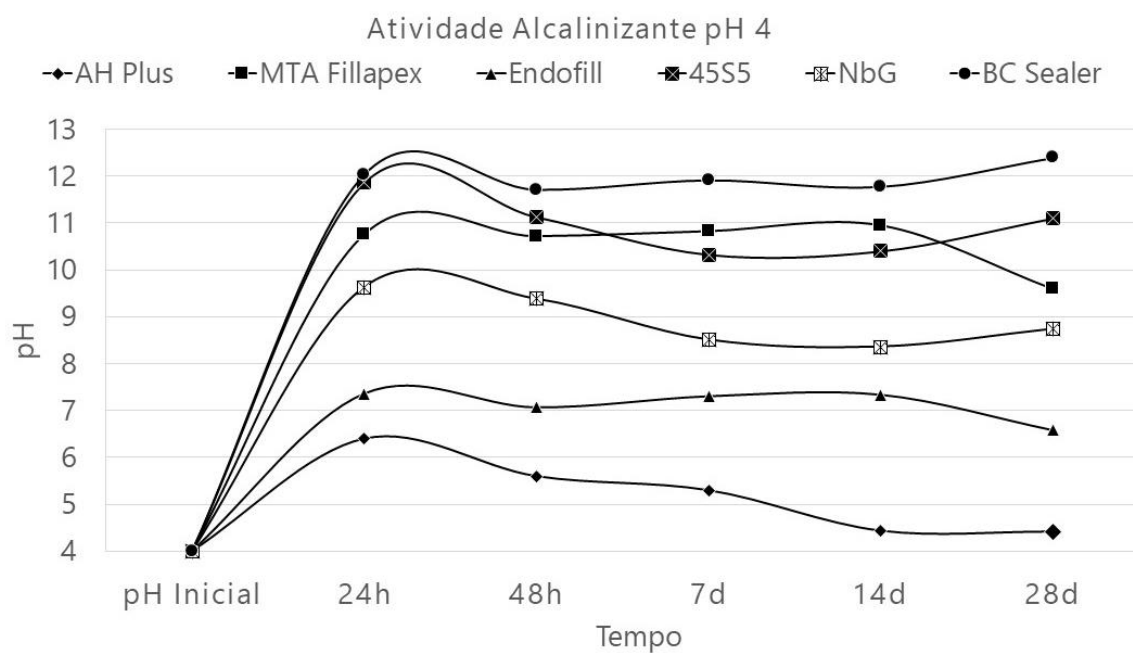


Figura 11 - Análise do pH dos cimentos nos diferentes períodos na condição de $pH_{(i)} 4$.

É possível observar que no $pH_i(4)$ os cimentos AH Plus e Endofill não conseguiriam neutralizar o pH ácido, o grupo AH Plus apresentou um $pH < 5$, e o Endofill < 7 . Também, é possível observar que os cimentos contendo partículas bioativas mantiveram os valores de pH acima de 7, o grupo NbG apresentou um $pH < 9$, o MTA Fillapex < 9 , o 45S5 = a 11 e o BC Sealer > 12 .

Na Figura 12 está a representação gráfica dos valores do pH dos materiais testados em diferentes períodos (24 h, 48 h, 7 dias, 14 dias e 28 dias) com pH inicial igual a 7.

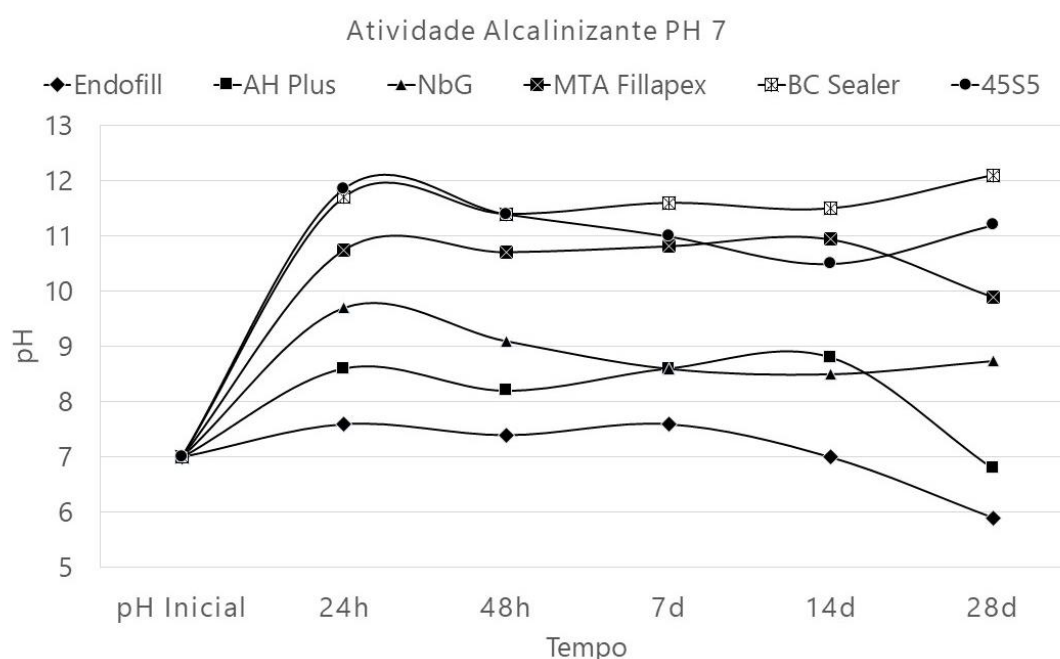


Figura 12 - Análise do pH dos cimentos nos diferentes períodos na condição de $pH_i(7)$.

É possível observar que no $pH_i(7)$ os cimentos AH Plus e o Endofill acidificaram levemente o meio, o grupo Endofill apresentou $pH < 6$, o AH Plus < 7 . Por outro lado, é possível observar que os cimentos contendo partículas bioativas alcalinizaram o meio, o grupo NbG apresentou $pH < 9$, o MTA Fillapex < 10 o 45S5 < 12 e BC Sealer > 12 .

3.5 – Perda e alteração de massa

Na Figura 13 está a representação gráfica dos valores da perda de massa dos materiais testados ao final de 28 dias com pH_(i) 4. De acordo com a análise estatística realizada, pode-se observar diferença significativa da perda de massa entre os grupos tratados ($p < 0,001$), onde a menor média foi para AH Plus, e a maior para o NbG, seguido do 45S5; MTA Fillapex; BC Sealer; Endofill. Os grupos experimentais NbG e 45S5 são semelhantes ($p = 0,676$).

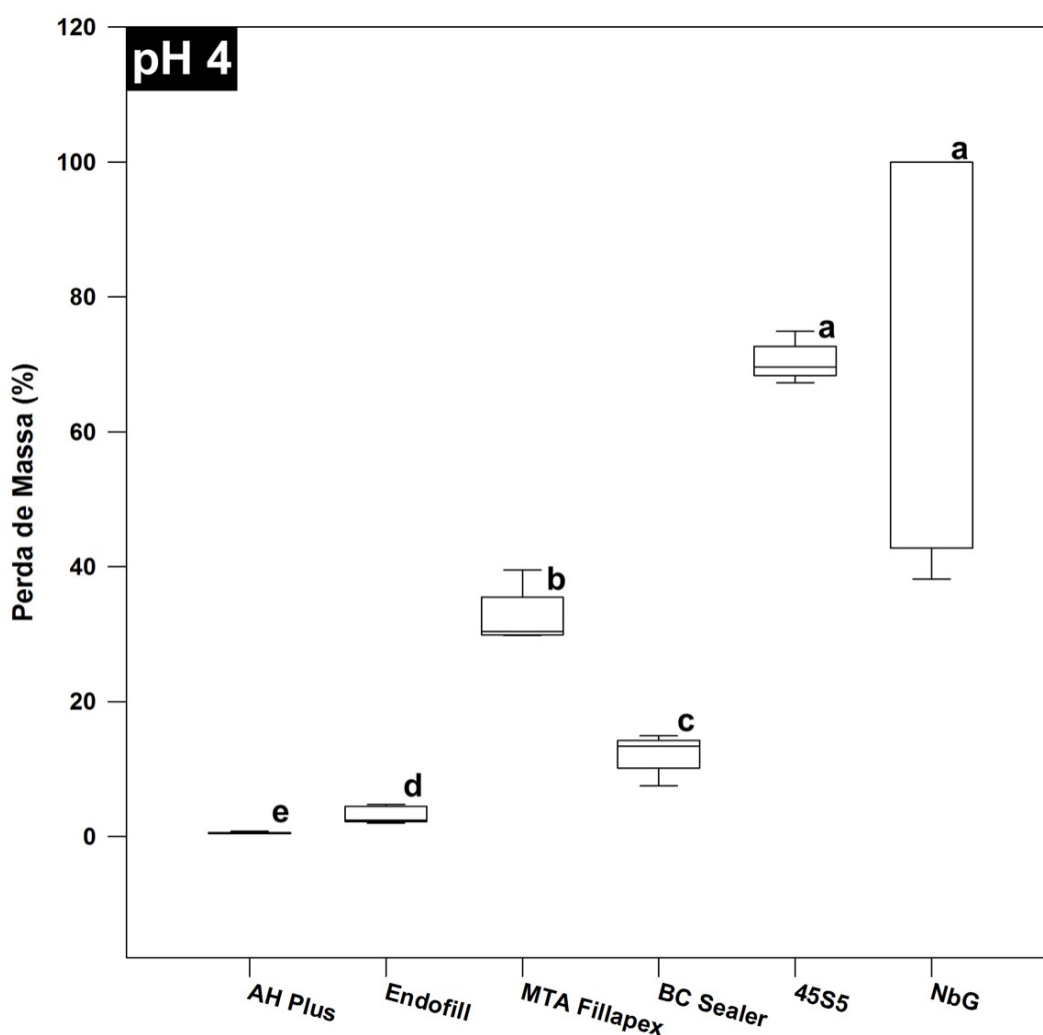


Figura 13 - Análise de perda de massa final do pH₄ dos cimentos testados*.
Letras diferentes representam diferença estatística ($p < 0,05$).

Na Figura 14 está a representação gráfica dos valores da perda de massa dos materiais testados ao final de 28 dias com pH_(i) 7. De acordo com a análise estatística realizada, pode-se observar diferença significativa da perda de massa entre os grupos tratados ($p < 0,001$), onde a

maior média foi para o 45S5 e a menor para o AH Plus ($p<0,001$). Os grupos BC Sealer e Endofill são semelhantes ($p=0,295$).

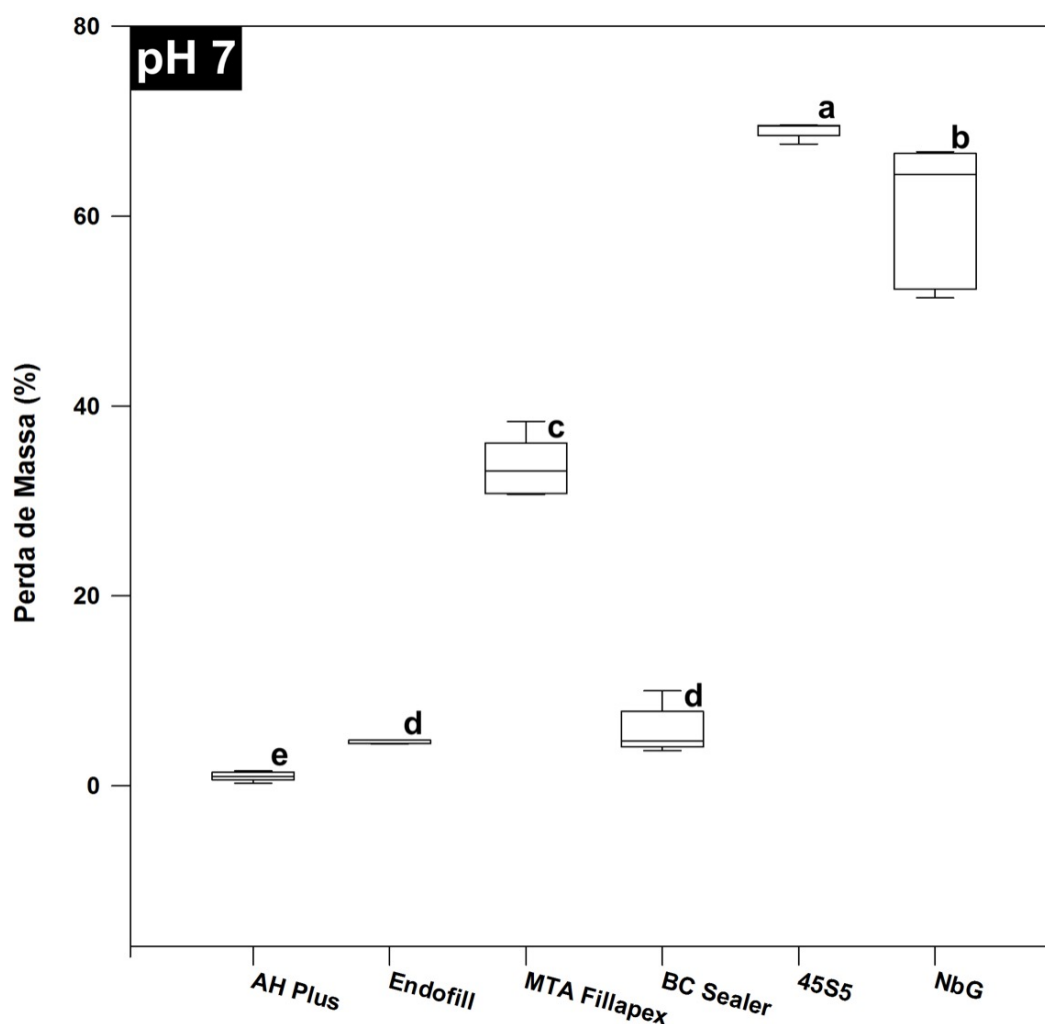


Figura 14 – Análise de perda de massa final do pH₇ dos cimentos testados*.

* *Letras diferentes representam diferença estatística ($p<0,05$).*

Na figura 15 e 16 observa-se o comportamento (alteração de massa) dos cimentos nos diferentes períodos testados em imersões (pH_(i) 4 e pH_(i) 7).

Em qualquer das imersões observa-se um comportamento similar, o grupo experimental (NbG e 45S5) e o grupo MTA Fillapex apresentaram grande alteração de massa (%), enquanto que, o grupo à base de resina epóxi (AH Plus) e o de óxido de zinco e eugenol (Endofill) o

comportamento foi quase nulo. Altos valores de ganho de massa foram observados para o grupo BC Sealer.

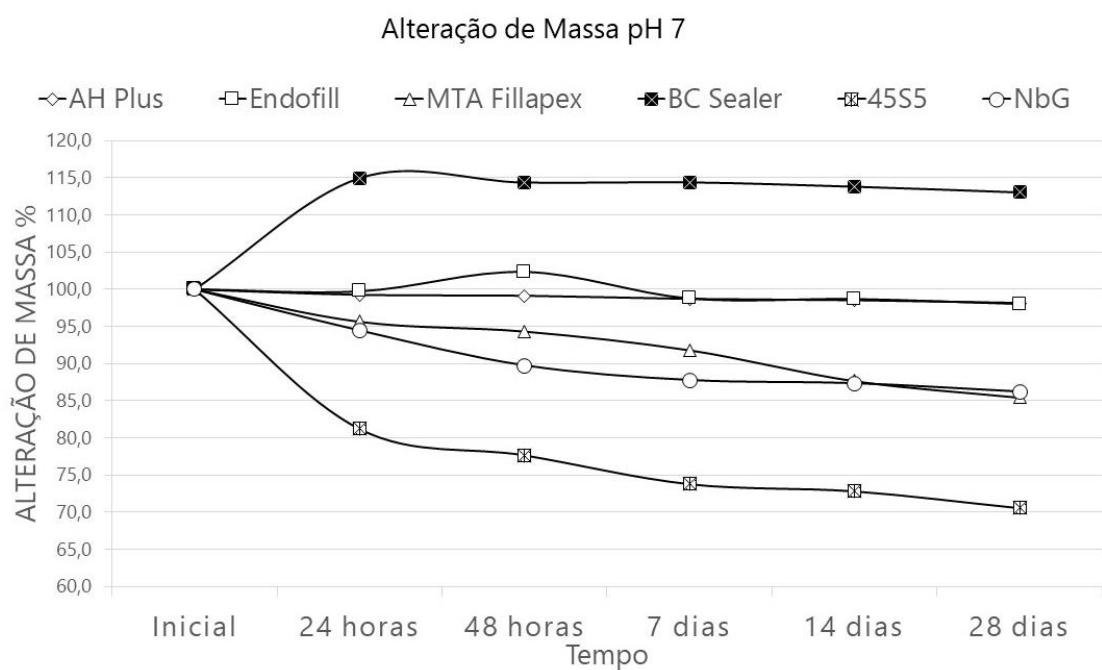
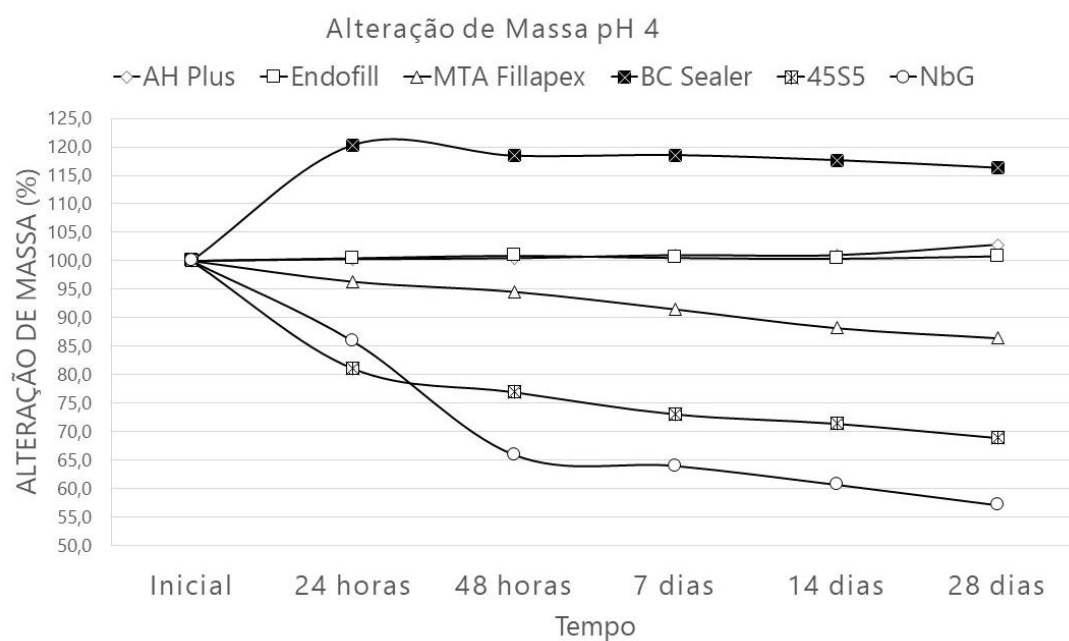


Figura 15 e 16 – Alteração de massa (%) em diferentes períodos na condição de pH_(i) 4, pH_(i) 7.

3.6 – Bioatividade

Após 30 dias de hidratação em SBF foi possível observar uma formação de precipitados nas superfícies de todos os grupos, com exceção do AH Plus. A análise de EDS dos cimentos: AH Plus (Figura 17) Zr (zircônio); Si (silício); e Ca (cálcio), Endofill (Figura 18) P (fósforo), Ca (cálcio), Zn (zinco), Ba (bário) e Bi (bismuto), MTA Fillapex (Figura 19) Ca (cálcio) e P (fósforo), BC Sealer (Figura 20) Ca (cálcio), P (fósforo), Zr (zircônio) e Ta (tântalo), os experimentais (45S5 e NbG) (Figura 21) e (Figura 22) apresentaram Ca (cálcio), P (fósforo).

3.6 Bioatividade

AH Plus

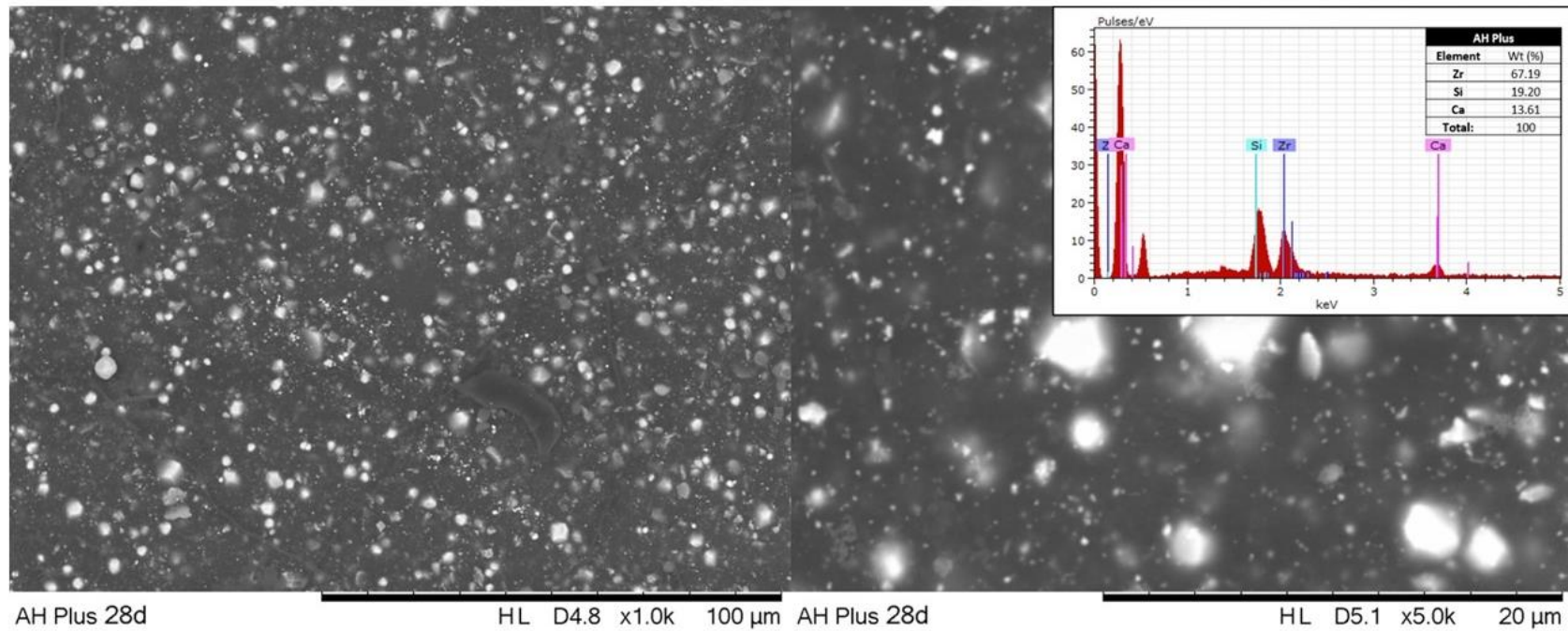


Figura 17 - (AH Plus) - Análises MEV/EDS dos grupos tratados. Fotomicrografia das amostras imersas em SBF após 30 dias, mostrando ausência de aglomerado de partículas precipitadas.

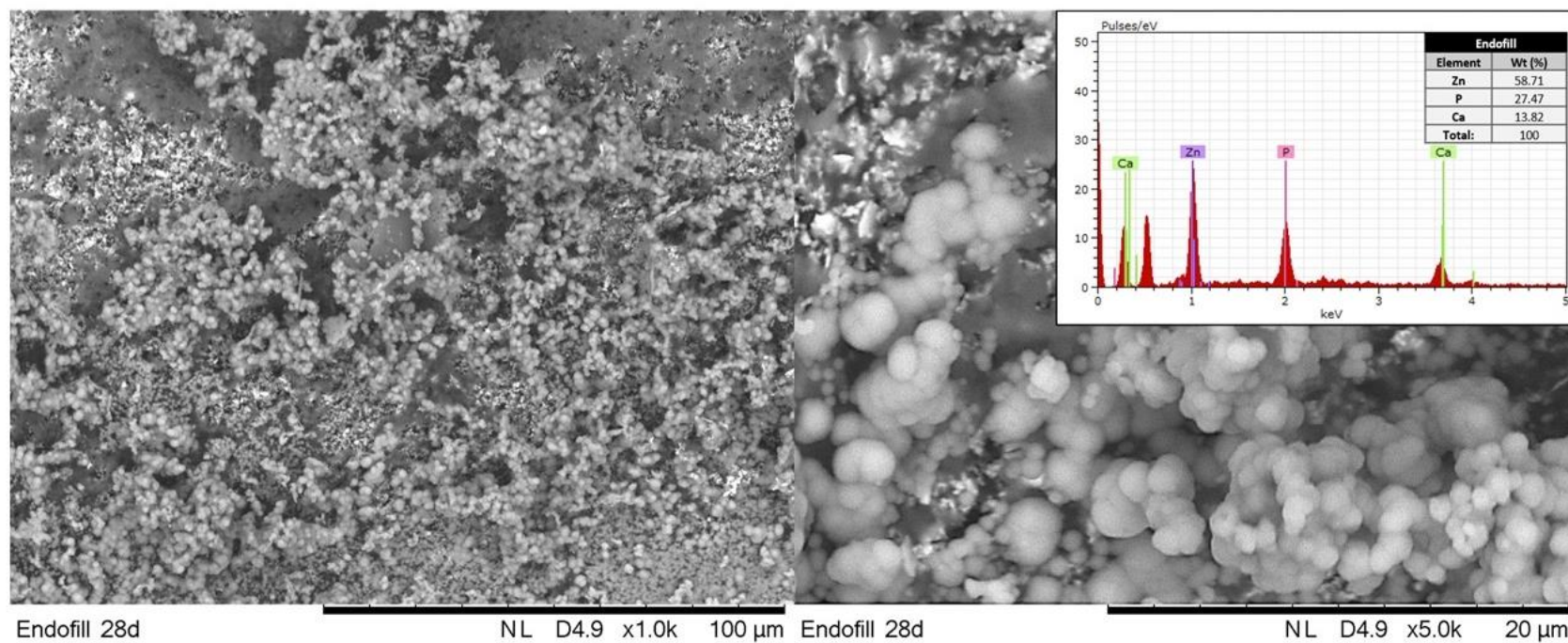


Figura 18 - (Endofill) - Análises MEV/EDS dos grupos tratados. Fotomicrografia de amostras imersas em SBF após 30 dias, mostrando aglomerado de partículas precipitadas.

3.6 Bioatividade

MTA Fillapex

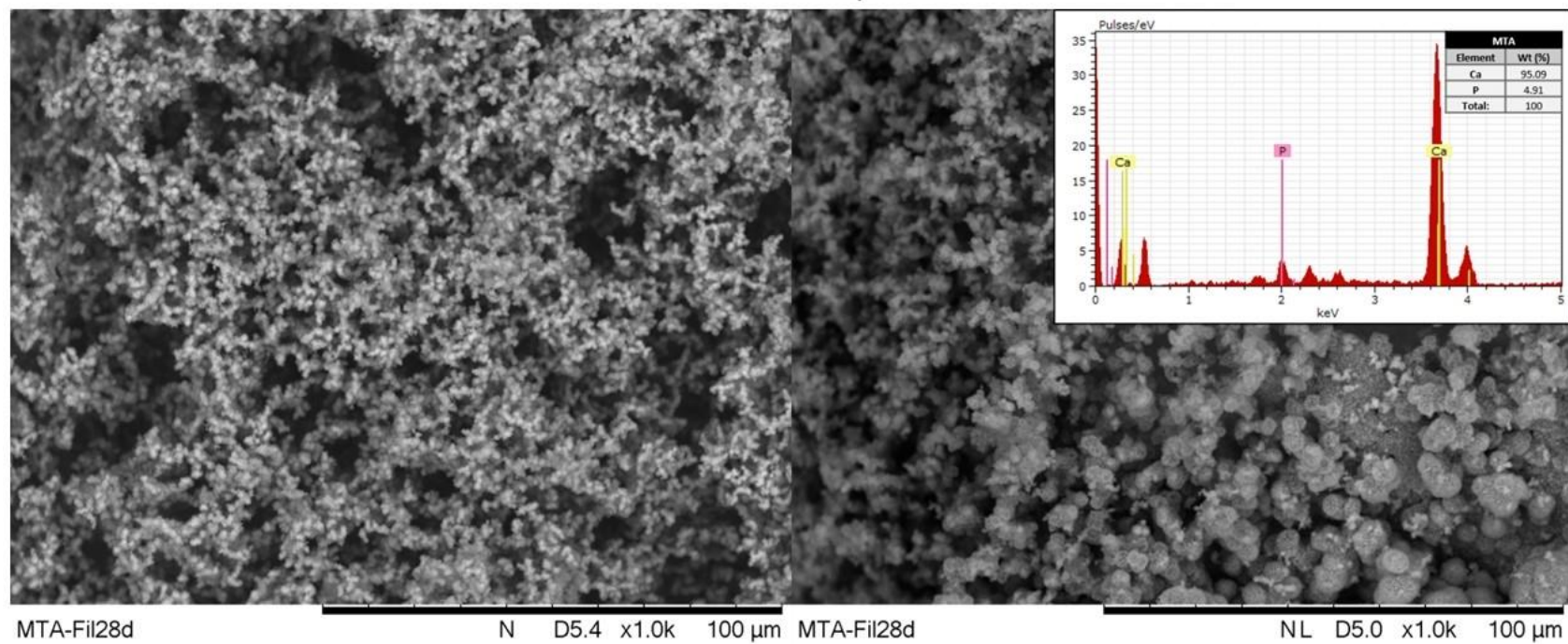


Figura 19 - (MTA Fillapex) - Análises MEV/EDS dos grupos tratados. Fotomicrografia de amostras imersas em SBF após 30 dias, mostrando aglomerado de partículas precipitadas. A análise de energia dispersiva por Raio-X revelou altos picos de Ca e P.

3.6 Bioatividade

BC Sealer

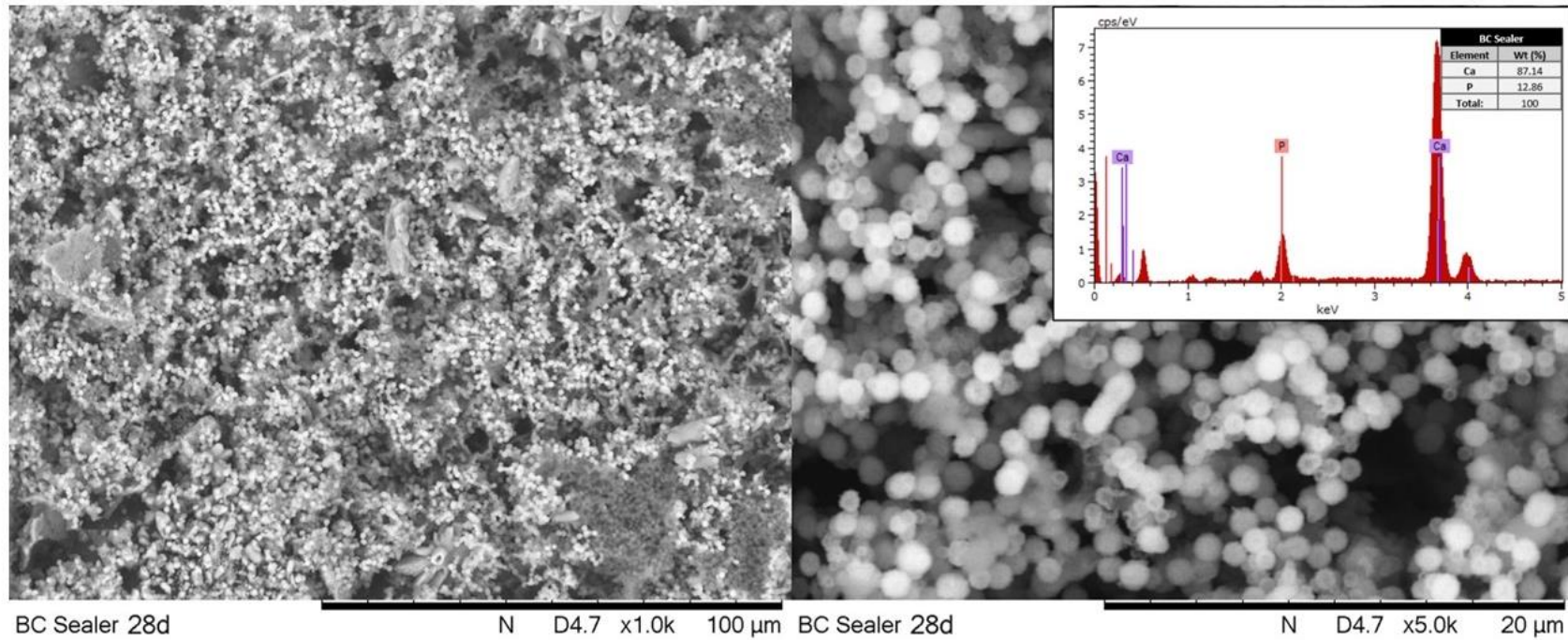


Figura 20 - (BC Sealer) Análises MEV/EDS dos grupos tratados. Fotomicrografia de amostras imersas em SBF após 30 dias, mostrando aglomerado de partículas precipitadas. A análise de energia dispersiva por raio - x revelou altos picos de Ca e P.

3.6 Bioatividade

45S5

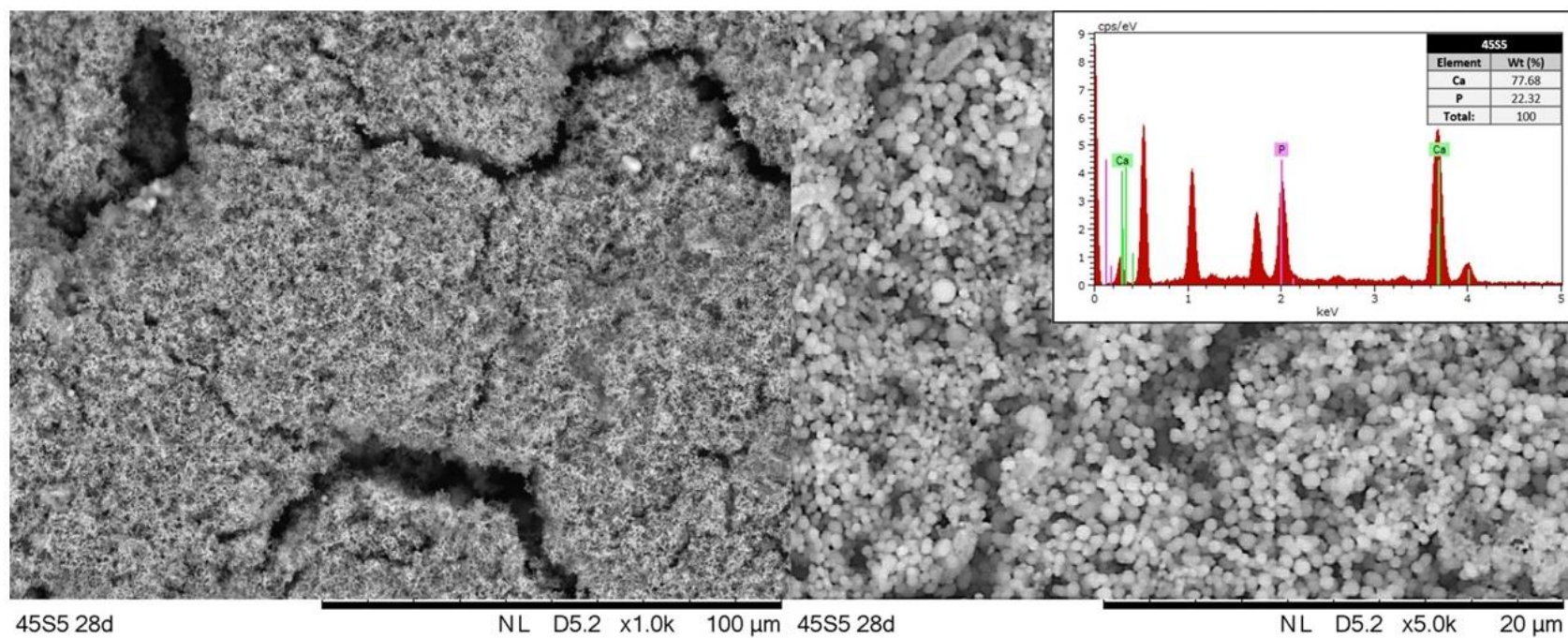


Figura 21 - (45S5) Análises MEV/EDS dos grupos tratados. Fotomicrografia de amostras imersas em SBF após 30 dias, mostrando aglomerado de partículas precipitadas. A análise de energia dispersiva por Raio - x revelou altos picos de Ca e P.

3.6 Bioatividade

NbG

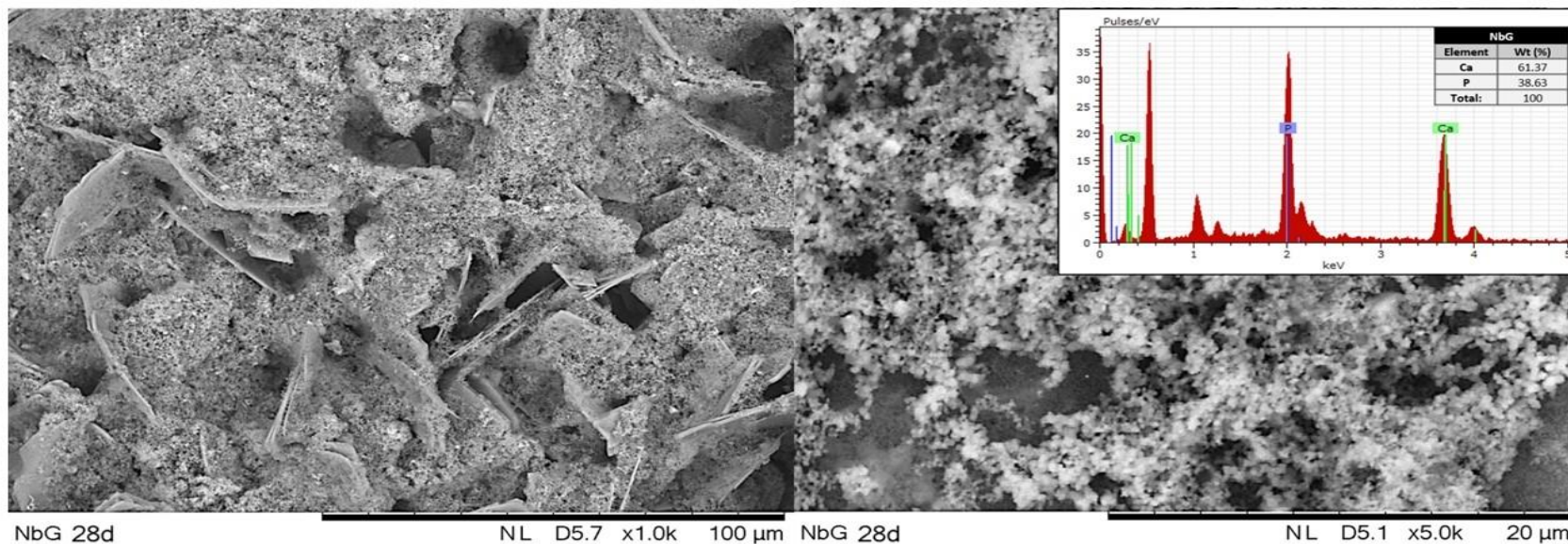


Figura 22 - (NbG) Análises MEV/EDS dos grupos tratados. Fotomicrografia de amostras imersas em SBF após 30 dias, mostrando aglomerado de partículas precipitadas. A análise de energia dispersiva por Raio – X revelou picos Niobio, Calcio e Fósforo.

As análises de FTIR/ATR e DRX mostraram os seguintes resultados para cada um dos cimentos analisados:

- 1) AH Plus: FTIR/ATR mostrou ausência de picos precursores de bioatividade. Os picos localizados nas bandas de 500cm^{-1} e 820cm^{-1} (a), 1.183cm^{-1} (b) e 1510cm^{-1} (c) foram correspondentes à sílica, componentes da sílica e a compostos aromáticos, respectivamente. Sob os espectros de DRX, o cimento AH apresentou óxido de zircônio (ou zircônia) (ICDD card #00-037-1484) e tungstato de cálcio (ICDD card #01-085-0443) (Figura 23).
- 2) Endofill: FTIR/ATR mostrou ausência de picos precursores de bioatividade. Os picos localizados nas bandas de 925cm^{-1} e 1200cm^{-1} (a), 1000cm^{-1} (b), 1510cm^{-1} (c) e 1680cm^{-1} (d) foram correspondentes à compostos do eugenol (a), compostos aromáticos (b, c) e hidroxila (d). Sob os espectros de DRX, o cimento Endofill apresentou óxido de zinco (ICDD card #01-080-0075), óxido de bismuto carbonatado (ICDD card #00-041-1488), e sulfato de bário (ICDD card #00-024-1035) (Figura 24).
- 3) MTA Fillapex: FTIR/ATR mostrou picos precursores de bioatividade. Os picos localizados nas bandas de 560cm^{-1} e 600cm^{-1} (a) corresponderam à apatita carbonatada; os picos localizados nas bandas de 700cm^{-1} , 710cm^{-1} , 1080cm^{-1} , 1415cm^{-1} e 1460cm^{-1} (b) corresponderam ao carbonato de cálcio e o pico localizado em 940cm^{-1} (c) correspondeu ao silicato de cálcio hidratado. Sob os espectros de DRX, o cimento MTA Fillapex apresentou tungstato de cálcio (ICDD card #001-085-0443) e carbonato de cálcio (ICDD card #01-081-2027) (Figura 25).
- 4) BC Sealer: FTIR/ATR mostrou picos precursores de bioatividade. Os picos localizados nas bandas de 560cm^{-1} , 870cm^{-1} , 960cm^{-1} , 1025cm^{-1} (a) corresponderam à apatita carbonatada e os picos localizados em 1415cm^{-1} e 1460cm^{-1} (b) corresponderam ao carbonato de cálcio. Sob os espectros de DRX, o cimento BC Sealer apresentou carbonato de cálcio (ICDD card #00-005-0586) (Figura 26).
- 5) Cimento experimental contendo 45S5: FTIR/ATR mostrou picos precursores de bioatividade. Os picos localizados nas bandas de 560cm^{-1} e 870cm^{-1} (a) corresponderam à apatita carbonatada e os picos das bandas 710cm^{-1} , 1080cm^{-1} e 1415cm^{-1} (b) ao carbonato de cálcio. Sob DRX, cimento experimental contendo 45S5 apresentou carbonato de sódio e cálcio hidratado (ICDD card #00-024-1065), e carbonato de cálcio (ICDD card #01-072-1937) (Figura 27).

6) Cimento experimental contendo NbG: FTIR/ATR mostrou picos precursores de bioatividade. Os picos localizados nas bandas de 560^{-1} (a), 940^{-1} (b) e 1460^{-1} (c) corresponderam à apatita carbonatada, ao silicato de cálcio hidratado e ao carbonato de cálcio, respectivamente. Sob DRX, o cimento experimental contendo NbG apresentou fosfato de sódio e cálcio hidratado (ICDD *card* #00-038-0410) (Figura 28).

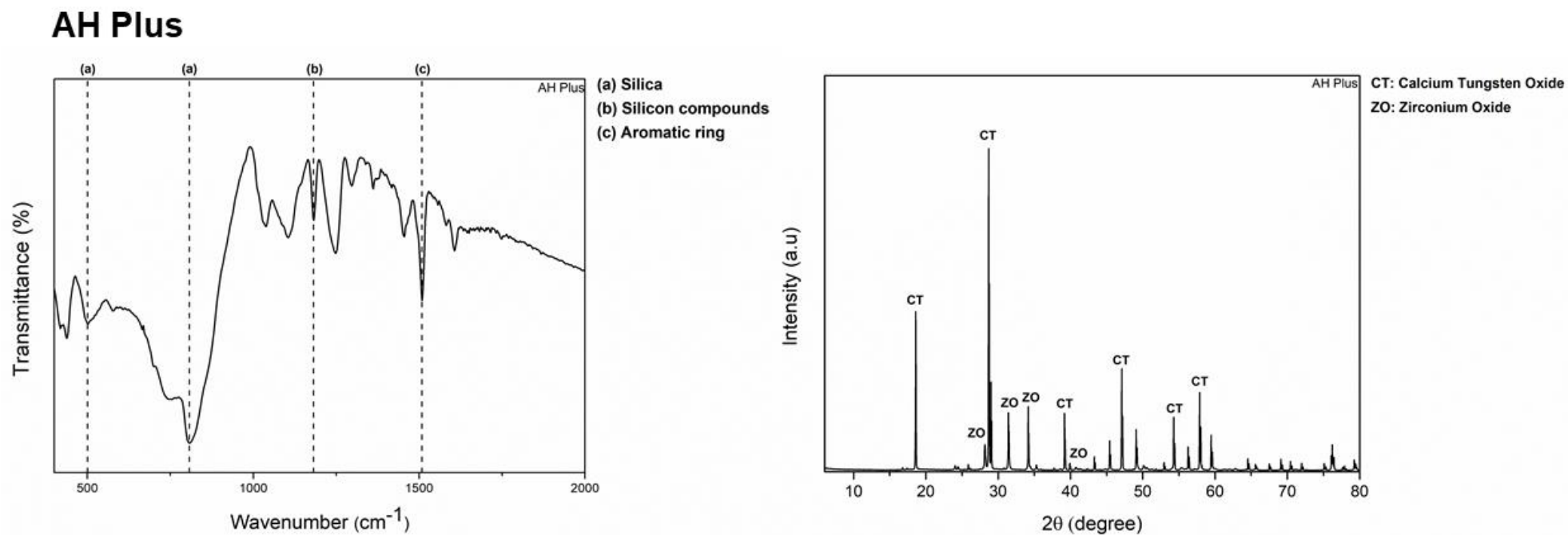


Figura 23 - (AH) - Análises de FTIR/ATR DRX para o cimento AH Plus após 30 dias de imersão em SBF. O lado esquerdo da imagem mostra os resultados de FTIR/ATR e o lado direito mostra os resultados de DRX. Os espectros evidenciaram ausência de picos relativos a componentes que pudessem ser precursores de bioatividade.

Endofill

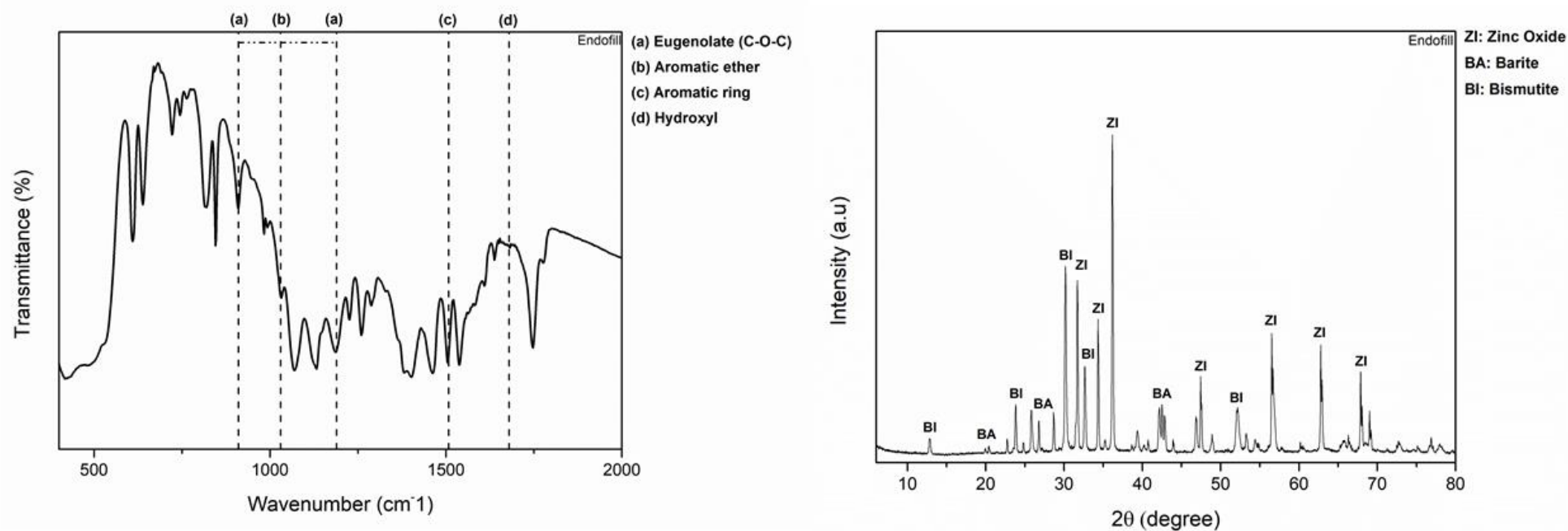


Figura 24 - (Endofill) - Análises de FTIR/ATR e DRX para o cimento Endofill após 30 dias de imersão em SBF. O lado esquerdo da imagem mostra os resultados de FTIR/ATR e o lado direito mostra os resultados de DRX. Os espectros evidenciaram ausência de picos relativos a componentes que pudessem ser precursores de bioatividade.

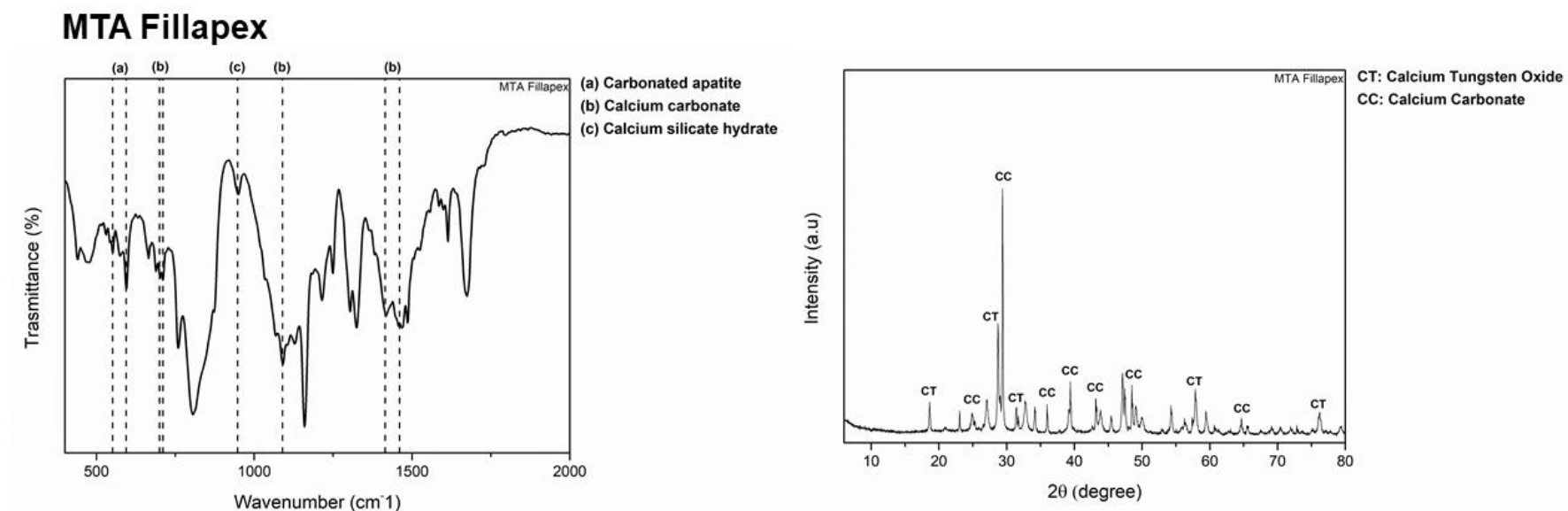


Figura 25 - (MTA Fillapex) - Análises de FTIR/ATR e DRX para o cimento MTA Fillapex após 30 dias de imersão em SBF. O lado esquerdo da imagem mostra os resultados de FTIR/ATR e o lado direito mostra os resultados de DRX. Os espectros evidenciaram picos relativos a componentes precursores de bioatividade.

BC Sealer

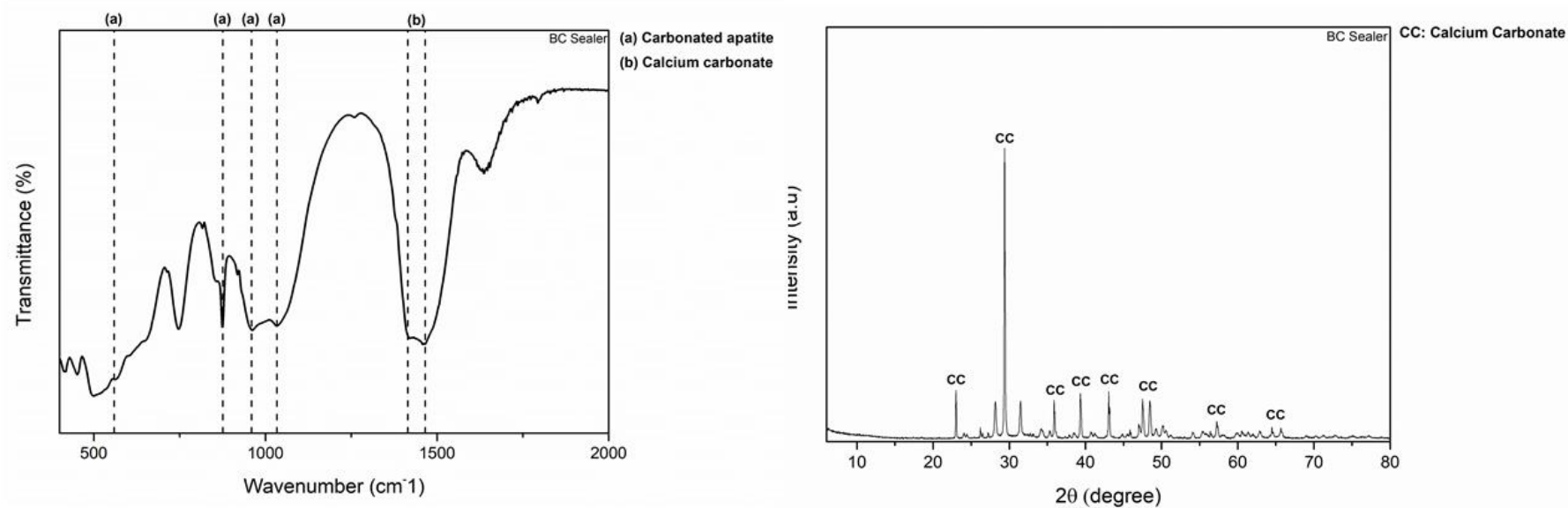


Figura 26 - (BC Sealer) - Análises de FTIR/ATR e DRX para o cimento BC Sealer após 30 dias de imersão em SBF. O lado esquerdo da imagem mostra os resultados de FTIR/ATR e o lado direito mostra os resultados de DRX. Os espectros evidenciaram picos relativos a componentes precursores de bioatividade.

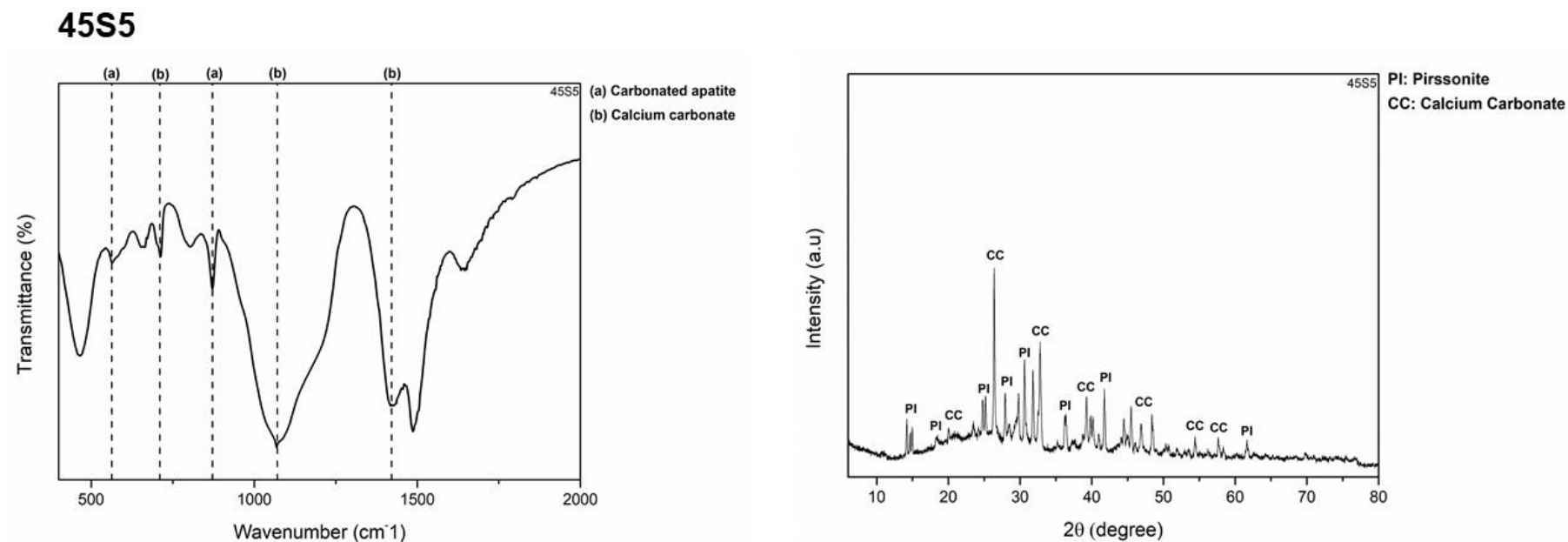


Figura 27 - (Cimento experimental contendo 45S5) Análises de FTIR/ATR e DRX para o cimento contendo 45S5 após 30 dias de imersão em SBF. O lado esquerdo da imagem mostra os resultados de FTIR/ATR e o lado direito mostra os resultados de DRX. Os espectros evidenciaram picos relativos a componentes precursores de bioatividade.

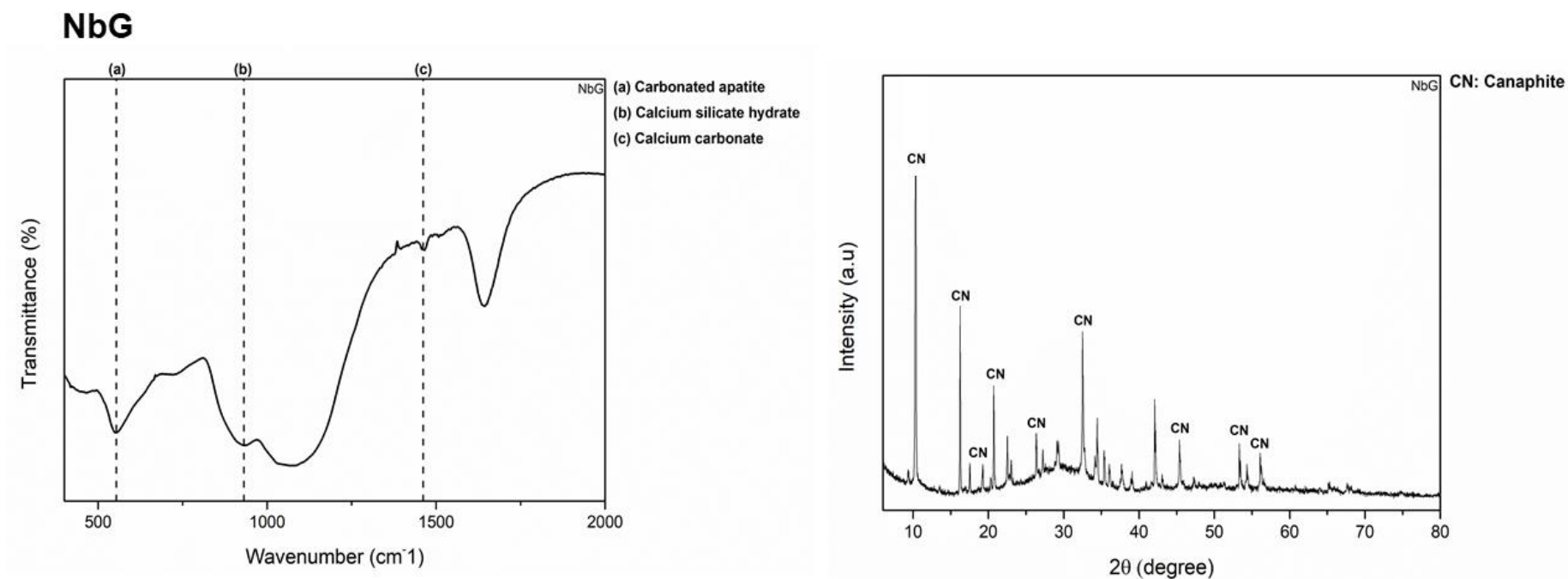


Figura 28 - (Cimento experimental NbG) Análises de FTIR/ATR e DRX para o cimento contendo NbG após 30 dias de imersão em SBF. O lado esquerdo da imagem mostra os resultados de FTIR/ATR e o lado direito mostra os resultados de DRX. Os espectros evidenciaram picos relativos a componentes precursores de bioatividade.

3.7 Biocompatibilidade

Na figura 29 observa-se diferenças entre os valores médios da viabilidade celular entre os grupos tratados ($p=0,006$), evidenciando o maior valor para o AH Plus e o menor para o Endofill. Os grupos BC Sealer e Endofill são semelhantes ($p=0,127$).

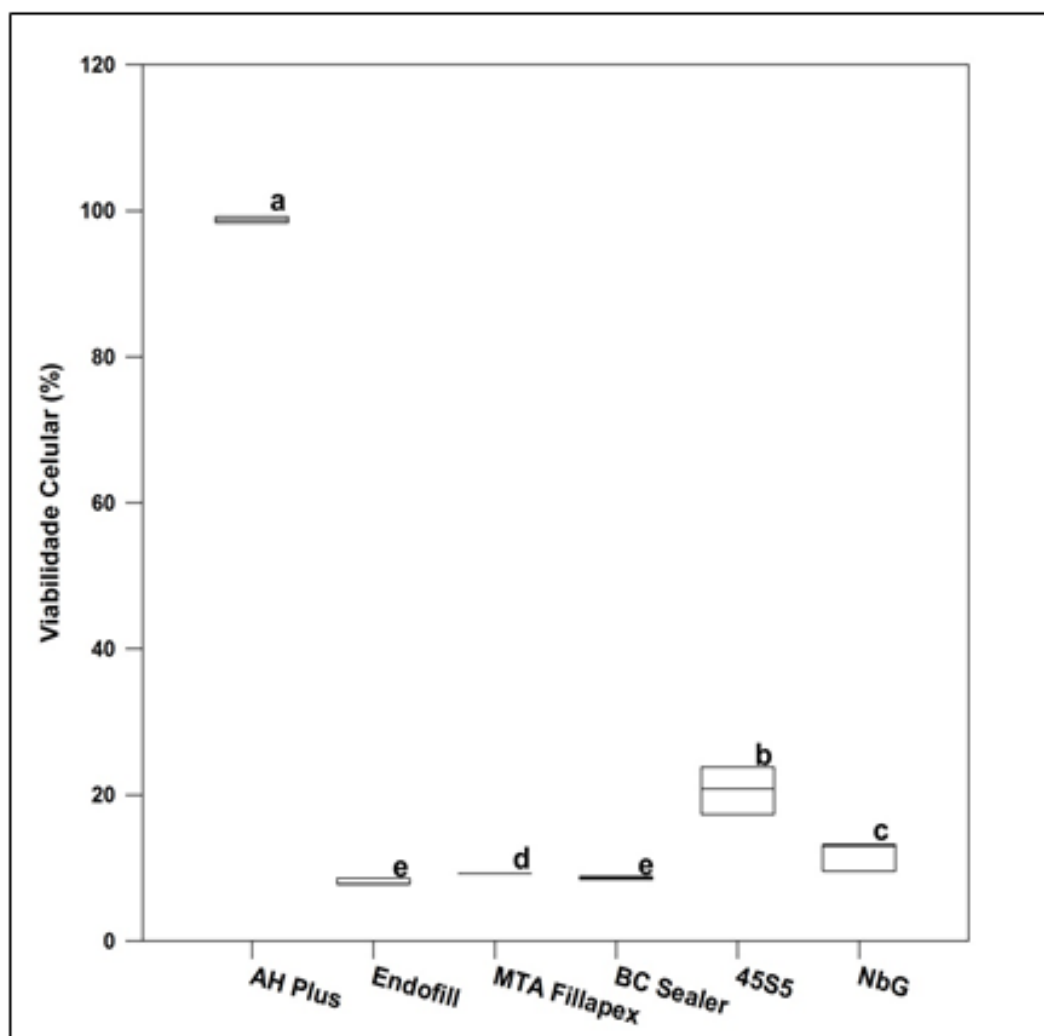


Figura 29 - Viabilidade celular de fibroblastos gengivais humanos (HGF) em contato com materiais testados, após cultura de 24 horas.

4. Discussão

Os cimentos endodônticos podem ser inertes ou capazes de induzir a deposição de tecido duro. Em geral, a bioatividade de um cimento endodôntico está diretamente relacionada à constituição química e depende da interação entre ele e o ambiente circundante (Collares et al., 2011⁶⁹).

Os nossos achados mostraram em testes biológicos que os cimentos experimentais contendo 45S5 e NbG aglomeraram precipitados de Ca e P em sua superfície (mais especificamente, esses precipitados eram compostos de hidroxiapatita carbonatada e carbonato de cálcio); o que indica a potencial bioatividade do material. Além disso, mostraram viabilidade celular e os testes físicoquímicos mostraram, que os cimentos experimentais elevaram o pH dos meios; demonstraram propriedades adequadas de escoamento e tempo de presa. Porém, a radiopacidade esperada conforme as normas internacionais só foram alcançadas pelo NbG. No entanto, em relação à perda e à alteração de massa os cimentos experimentais não alcançaram os parâmetros sugeridos pela norma ISO 6876-2002.

Desta forma, o objetivo deste estudo foi desenvolver cimentos experimentais à base de vidros bioativos, testar a bioatividade (viabilidade celular), avaliar a biocompatibilidade (viabilidade celular) e caracterizar algumas propriedades físicoquímicas como tempo de presa (inicial e final), radiopacidade, escoamento, capacidade alcalinizante em meio ácido e neutro e, alteração de massa (sorção e solubilidade), afim de proporcionar uma comparação com cimentos endodônticos disponíveis no mercado (AH Plus – Dentsply De Trey, Konstanz, Germany, Endofill - Dentsply, Petrópolis, Brasil, MTA Fillapex - Ângelus, Londrina, PR, Brasil, EndoSequence BC - Brasseler USA, Savannah, GA, EUA).

A bioatividade é uma propriedade desejável para cimentos endodônticos, no entanto a adição de partículas visando ganho de melhorias em suas propriedades, podem vir a interferir no seu arranjo estrutural, além de afetar a reatividade de sua superfície.

Desta forma, o tempo de presa de um cimento também depende de seus constituintes, além do tamanho das partículas, temperatura ambiente e umidade (McMichen et al., 2003⁷⁰; Donnelly et al., 2006⁷¹; Marin-Bauza et al., 2010⁷²). O maior tempo de presa produz a porosidade, podendo resultar na lixiviação de subprodutos citotóxicos (Loushine et al., 2011⁶; Silva et al., 2013⁷³) além de permitir infiltração de microorganismos nocivos ao ambiente. De acordo com a norma ISO (6876:2012), o tempo de presa médio deve estar dentro da faixa estabelecida pelo fabricante. Neste estudo os dois cimentos experimentais preencheram este critério, mostrando que mesmo com a possibilidade de os constituintes influenciarem as propriedades, as partículas adicionadas (quantidade e tipo) não afetaram o tempo de presa dos cimentos.

O nióbio é um metal que apresentou boa radiopacidade em vários estudos (Carvalho et al., 2016²⁵; Bauer et al., 2016²⁶; Carneiro et al., 2017²⁷). No presente estudo apresentou resultados de radiopacidade superiores à dentina, talvez isso tenha ocorrido em virtude da sua dissolução na rede do vidro ou de sua lixiviação (Balbinot et al., 2020²⁴). Nos cimentos biocerâmicos como o MTA Fillapex e BC Sealer, os estudos apontam que radiopacificadores como óxido de bismuto (MTA Fillapex) utilizado afeta a cinética de hidratação (Camilleri et al., 2011⁷⁴), e é citotóxico (Abudayyak et al., 2016⁶⁵), o óxido de zircônio (BC Sealer) é inerte e, não participa da reação de hidratação (Camilleri et al., 2011⁷⁴).

Por intermédio do escoamento o cimento une dente-material propicia a interação entre o substrato, embrica-se mecanicamente aos túbulos e adere quimicamente à rede de colágenos da matriz dentinária. (Siqueira et al., 1995⁷⁶), ou seja, o cimento deve se colar à dentina das paredes do canal e selar o sistema de canais radiculares. Neste estudo, Todos os materiais testados apresentaram escoamento superior aos exigidos pela norma ISO 6876:2012.

O aumento do pH dos meios (4 e 7) foi observado em todos os grupos, especialmente nas primeiras 24h. Analisando o comportamento dos biovidros experimentais é possível

observar um comportamento alcalinizante similar em suas curvas de pH_s estudadas. Inicialmente, as curvas de pH_s exibem um aumento acentuado de pH na primeira hora, e depois tende a uma estabilização. Estudos indicam que deve ocorrer uma intensa liberação de íons e dissolução da matriz (troca de íons hidroxila) entre as partículas bioativas ricas em Ca²⁺ e/ou Na⁺ pelos íons H₃O⁺ da solução), seguido de uma estabilização em virtude da formação da camada de sílica-gel que reduz a liberação de íons provenientes da estrutura do material. (Cerruti et al., 2005⁷⁷; Lopes et al., 2014⁷⁸), esta alcalinidade além de proporcionar bioatividade, também ajuda na osteogênese formando tecido novo na região apical.

Os grupos biocerâmicos (BC Sealer; MTA Fillapex) elevaram o pH das soluções iniciais 4 e 7 para patamares alcalinos (contribuindo para o potencial osteogênico, biocompatibilidade e ação antibacteriana) e se mantiveram após 28 dias. O silicato dicálcio e o silicatotricálcio produzem hidróxido de cálcio ao reagir com a água, proporcionando uma forte alcalinidade absorve dióxido de carbono, impedindo a sobrevivência das bactérias anaeróbicas (Marão et al., 2011⁷⁹; Koch et al., 2009⁸⁰).

A literatura já relatou que o pH alcalino dos cimentos endodônticos poderia neutralizar o ácido láctico dos osteoclastos e impedir a dissolução dos componentes mineralizado dos dentes, ativando a fosfatase alcalina (Stock et al., 1985⁸¹), além de criar um ambiente adverso para maioria das bactérias que podem sobreviver após o tratamento endodôntico (Stuart et al., 2006⁸²). Embora o aumento do pH esteja relacionado a uma maior lixiviação de íons (Na⁺ e Ca²⁺⁺ por troca com íons H₃O⁺), a liberação dos íons Ca²⁺⁺ são de maior importância para a bioatividade de cimentos endodônticos mesmo sabendo que uma rápida liberação de íons seguida por um esgotamento ocasiona um desequilíbrio entre suas propriedades mecânicas e bioativas (ganho ou perda de massa e morte celular) (Lopes et al., 2014⁷⁸; Odermatt et al., 2020⁸³), como bem foi demonstrado nos grupos BC Sealer e cimento experimental contendo 45S5.

Por padrão, a perda de massa de um material deve estar próxima de 0,1% e não exceder 3% da massa inicial (ISO 6876:2012). Neste estudo a perda e alteração de massa foi baseada na pesagem inicial (antes da hidratação em água destilada contendo pH_(i) 4 ou 7, 28 dias de hidratação e após a dessecação por 30 dias). A alcalinização do pH pode estar ligada a dissolução de alguns componentes reativos dos cimentos, desta forma, perdas e alterações de massas volumosas foram observadas para os cimentos experimentais 45S5 e NbG, que pode estar relacionado à alta reatividade do vidro 45S5 em meio aquoso. O biovidro inicialmente perde íons sódio e cálcio por troca com íons H_3O^+ da solução, (essa lixiviação promove um aumento local do pH) ou, ao fato dos materiais hidrofílicos terem algumas de suas características alteradas em função da umidade (Al-Haddad et al., 2016⁸⁴).

Neste estudo o cimento experimental NbG em meio ácido (pH=4) apresentou aproximadamente 40% de perda de massa enquanto que em pH neutro (pH=7) apresentou aproximadamente 15%. Este encontrado está de acordo com estudos (Zerlim, 2008⁸⁵) onde o NbG tem sua taxa de lixiviação aumentada significativamente em ambiente ácido por conta da ruptura das ligações iônicas “cross-links,” onde ocorre uma hidratação rápida promovendo uma dissolução uniforme, já no meio básico, o processo ocorre com taxas menores. No entanto, a perda e alteração de massa (dissolução) culmina na formação de uma camada rica de sílica hidratada que reagido com os flúidos forma uma camada de fosfato de cálcio que evolui gradualmente e cristaliza-se formando hidroxiapatita carbonatada durante seu processo de hidratação contínua (Bodanezi et al., 2008⁸⁶). O que foi observado no teste de bioatividade.

A presença lixiviada de nióbio como produto de dissolução é positiva para a bioatividade do vidro (Balbinot et al., 2018⁸⁷), em virtude do conhecimento de que óxidos podem promover o crescimento de cristais e a mineralização biomimétrica dos tecidos circundantes (Karlinsky et al., 2006¹⁹). Os grupos Endofill, AH Plus e, MTA Fillapex, sofreram pouca perda e alteração de massa, talvez em virtude de seus elos cruzados em polímeros não

reativos da resina hidrogenada (Endofill) ou de resina epóxi e pastas poliaminas que formam ligações covalentes (rígidas e fortes no AH Plus), que afetam a hidratação agindo como uma barreira, impedindo a interação da água com a matriz dos cimentos desfavorecendo sua maior dissolução (Borges et al., 2012⁵⁵; Viapiana et al., 2014⁸⁸), e no MTA Fillapex a matriz insolúvel de sílica cristalina resinosa, o trióxido de bismuto, relacionado a baixa estabilidade molecular do material (Fridland et al., 2003⁸⁹), o que pode explicar sua baixa solubilidade.

Por outro lado, ganho de massa foi observado para o cimento biocerâmico BC Sealer nas primeiras 24 horas e se manteve constante até os 28 dias. Estudos indicam que pode haver alta taxa de liberação de íons cálcio reagindo formando cristais de carbonato de cálcio (Duarte et al., 2012⁹⁰). O componente silicato tricálcico (Ca_3SiO_5) e silicato bicálcico (Ca_2SiO_4) reagem com a água induzindo a formação de géis e cristais amorfos de hidrato de silicato de cálcio (CSH) e hidróxido de cálcio (Camilleri et al., 2007⁹¹; Ylmén et al., 2009⁹²; Bergold et al., 2015⁹³; Choi et al., 2019⁹⁴), além da água que ficou retida nos poros e capilares durante a reação de presa em virtude da reação do hidróxido de cálcio com os íons fosfatos (Hirschberg et al., 2013⁹⁵). Isso de alguma forma foi observado pois o cimento BC Sealer apresentou uma grande formação de precipitados em sua superfície.

Os corpos de provas dos cimentos endodônticos foram caracterizados usando FTIR/ATR e DRX. Os resultados dos cimentos bioativos mostraram algumas semelhanças entre si em termos. No teste de bioatividade os resultados (MEV) mostraram formação de precipitados minerais nas superfícies de todos os grupos, com exceção ao AH Plus. A análise elementar (EDS) revelou que os precipitados formados eram compostos principalmente por picos de energia de P e Ca, o cimento Endofill apresentou altos picos de P (fósforo); Ca (cálcio); Zn (zinco); Ba (bário) e Bi (bismuto), MTA Fillapex P (fósforo); Ca (cálcio), BC Sealer P (fósforo); Ca (cálcio); Zr (zircônio) e Ta (tântalo), 45S5 P (fósforo); e Ca (cálcio), NbG P

(fósforo); Ca (cálcio) e Nb (nióbio), esse indicativo de bioatividade, evoca a formação de hidroxiapatita ou apatita carbonatada composta principalmente de Ca e P.

A formação desses compostos precursores de bioatividade pode ser observada nas análises de FTIR/ATR e DRX para os dois cimentos experimentais (45S5 e NbG) e para os comerciais MTA Fillapex e BC Sealer. Estudos (Shokouhinejad et al., 2012⁹⁶) indicam que nos vidros bioativos a presença lixiviável dos (íons como Ca^{2+} , Si^{2+} , PO_4^{3-} , e Nb^{2+}) podem entrar em contato com os fluidos e favorecer a regeneração dos tecidos periapicais danificados, principalmente no terço apical (Gupta et al., 2010⁹⁷; Jung et al., 2010⁹⁸; Jones et al., 2015⁵⁸).

Da mesma forma foi demonstrado que a precipitação de fosfato de cálcio pode ocorrer na superfície de vários materiais à base de polímeros bioativos quando imersos em solução supersaturada como SBF (Kokubo et al., 1990⁹⁹) e mais, os produtos de dissolução dos biovidros demonstraram propriedades osteogênicas, estimulando células osteoprogenitoras ao nível genético (esse comportamento tem sido atribuído, à reatividade de sua superfície com fluidos corpóreos que alcalinizam o Ph do meio aumentando a síntese e reticulação do colágeno (Silver et al., 2001¹⁵), além, do brotamento de vasos sanguíneos a partir de vasos vizinhos (Leu et al., 2009¹⁰⁰). O cimento AH Plus não mostrou precipitados talvez porque a maior parte do cálcio presente não esteja na forma ionizada (Viapiana et al., 2014⁸⁸).

O teste de viabilidade celular (biocompatibilidade/MTT) demonstrou resultados com diferenças significantes entre os grupos tratados ($p=0,006$). O grupo AH Plus mostrou maior resultado de sobrevivência celular seguido em ordem decrescente do 45S5; NbG; MTA Fillapex; BC Sealer; Endofill. Essa sobrevivência celular pode ser explicada em virtude da diminuição na lixiviação de substâncias tóxicas presentes em sua formulação após presa final (Silva et al., 2013⁷³). Nossos ensaios foram feitos com os materiais em sua presa final.

O elevado pH dos grupos bioativos (presença de silicatos e hidróxido de cálcio em suas composições, elevada liberação de íons sódio) pode ter causado uma maior toxicidade no teste

de viabilidade celular, no entanto os cimentos experimentais apresentaram maior diferença na taxa de sobrevivência celular em relação aos cimentos comerciais: biocerâmicos (MTA Fillapex) e a base de óxido de zinco e eugenol (Endofill). Uma possível explicação talvez a presença de componentes tóxicos como resina salicilato, resina diluidora e sílica no grupo MTA Fillapex (Silva et al., 2013⁷³), e contínua liberação de eugenol da matriz do cimento (por hidrólise), íons de zinco, resina diluidora no Endofill (Guigand et al., 1999²⁹).

O biovidro niobofosfato (NbG) derivado do bioglass 45S5 a modificação do *bulk* foi feita pela substituição do silício (Si) pelo nióbio (Nb). Os resultados mostraram que as modificações na composição do biovidro 45S5 proporcionaram grandes efeitos sobre todas as suas propriedades principalmente na velocidade e na quantidade de íons lixiviados, tendo-se em vista que a concentração do produto iônico do biovidro tem relação estreita com a bioatividade. Vale ressaltar que a presença do NbG no vidro deve ter alterado a velocidade e a lixiviação de íons contribuindo com sua menor solubilidade.

Assim apresentamos o vidro de nióbio como partículas de carga para cimentos endodônticos bioativos, com o conhecimento de que demonstraram viabilidade às células de fibroblastos gengivais humanos e, não influenciaram de forma negativa as propriedades físico-químicas e biológicas dos cimentos endodônticos experimentais. Além disso, os resultados foram superiores ao MTA Fillapex e ao BC Sealer, indicando que a micropartícula de nióbio tem potencial para uso clínico, corroborando com estudos de Dsouki et al., (2014¹⁰¹) e Mestieri et al., (2017¹⁰²).

A perda de massa observada para os cimentos experimentais constituiu um ponto fraco neste estudo. No entanto a combinação de diferentes metodologias de análise, tais como, identificação dos precipitados bioativos por meio de MEV/EDS, FTIR/ATR e DRX, forneceram fortes fundamentos para o detalhamento e esclarecimentos dos resultados obtidos, tanto para os cimentos experimentais quanto para os comerciais

5. Conclusão

Os cimentos experimentais contendo 45S5 e NbG apresentaram ótimos resultados de bioatividade, indicando potencialidade para uso clínico, no entanto, as investigações devem prosseguir visando entender o mecanismo do nióbio na matriz do cimento endodôntico experimental.

Referências

- [1] Parirokh M, Torabinejad M, Dummer PMH. Mineral trioxide aggregate and other bioactive endodontic cements: an updated overview — part I: vital pulp therapy. *Int Endod J*. 2018; 51(2): 177–205. doi: 10.1111/iej. 12841.
- [2] Giacomino CM, Wealleans JA, Kuhn N, Diogenes A. Comparative Biocompatibility and Osteogenic Potential of Two Bioceramic Sealers. *J Endod*. 2019; 45(1): 51–56. doi: 10.1016/j.joen. 2018.08.007.
- [3] Bortoluzzi EA, Niu L, Palani CD, El-Awady AR, Hammond BD, Pei DD, Tay, FR. Cytotoxicity and osteogenic potential of silicate calcium cements as potential protective materials for pulpal revascularization. *Dent Mater*. 2015; 31(12): 1510–1522. doi: 10.1016/j.dental. 2015.09.020.
- [4] Yasukawa T, Hayashi M, Tanabe N, Tsuda H, Suzuki Y, Kawato T, Ogiso B. Involvement of the calcium-sensing receptor in mineral trioxide aggregate-induced osteogenic gene expression in murine MC3T3-E1 cells. *Dent Mater J*. 2017; 36(4): 469–475. doi: 10.4012/dmj. 2016-313.
- [5] Sultana N, Singh M, Nawal RR, Chaudhry S, Yadav S, Mohanty S, Talwar S. Evaluation of Biocompatibility and Osteogenic Potential of Tricalcium Silicate-based Cements Using Human Bone Marrow-derived Mesenchymal Stem Cells. *J Endod*. 2018; 44(3): 446–451. doi: 10.1016/j.joen. 2017.11.016.
- [6] Loushine BA, Bryan TE, Looney SW, Gillen BM, Loushine RJ, Weller RN, Pashley DH, Tay FR. Setting properties and cytotoxicity evaluation of a premixed bioceramic root canal sealer. *J Endod*. 2011; 37(5):673-7. doi:10.1016/j.joen. 2011.01.003.
- [7] Setbon HM, Devaux J, Iserentant A, Leloup G, Leprince JG. Influence of composition on setting kinetics of new injectable and/or fast setting tricalcium silicate cements. *Dent Mater*. 2014; 30(12): 1291–1303. doi: 10.1016/j.dental. 2014.09.005.
- [8] Hosoya N, Takigawa T, Horie T, Maeda H, Yamamoto Y, Momoi Y, Okiji T. A review of the literature on the efficacy of mineral trioxide aggregate in conservative dentistry. *Dent Mater J*. 2019; 38(5): 693-700. doi:10.4012/dmj.2018-193.
- [9] Hench LL. Bioceramics: From Concept to Clinic. *Journal of the American Ceramic Society*. 1991; 74(7): 1487–1510. doi:10.1111/j.1151-2916.1991.tb07132.x.
- [10] Sepulveda P, Jones JR, Hench LL. Effect of particle size on bioglass dissolution. *Key Engineering Materials*. 2001; 192-195; 629-634. Doi.org/10.4028/www.scientific.net/KEM.192-195.629.
- [11] Ryou H, Niu LN. Effect of biomimetic remineralization on the dynamic nanomechanical properties of dentin hybrid layers. *Journal of Dental Research*. 2011; 90(9): 1122-1128. doi org.ez14.periodicos .capes.gov.br/10.1177/0022034511414059.
- [12] Sauro S, Watson TF, Thompson, I. Dentine desensitization induced by prophylactic and air-polishing procedures: An in vitro dentine permeability and confocal microscopy study. *Journal of Dentistry*. 2010; 38(5): 411–422. doi:10.1016/j.jdent.2010.01.010.
- [13] Alno N, Jegoux F, Pellen-Mussi P, Tricot-Doleux S, Oudadesse H, Cathelineau G, De Mello, G. Development of a three-dimensional model for rapid evaluation of bone substitutes in vitro: Effect of the 45S5 bioglass. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2010; 95A(1): 137–145. doi:10.1002/jbm.a.32818
- [14] Hoppe A, Güldal NS, Boccaccini AR. A review of the biological response to ionic dissolution products from bioactive glasses and glass-ceramics. *Biomaterials*. 2011; 32(11), 2757–2774. doi:10.1016/j.biomaterials.2011.01.004
- [15] Silver I, A Deas, J, Erecińska M. Interactions of bioactive glasses with osteoblasts in vitro: effects of 45S5 Bioglass®, and 58S and 77S bioactive glasses on metabolism,

- intracellular ion concentrations and cell viability. *Biomaterials*. 2001; 22(2): 175–185. doi:10.1016/s0142-9612(00)00173-3
- [16] Samuneva B, Dimitrov V. Structure and optical properties of niobium silicate glasses. *J. Non-Cryst. Solids*. 1991; 129(1-3): 54-63. doi:10.1016/0022-3093(91)90080-p.
- [17] Pittman RM, Bell AT. Raman studies of the structure of Nb₂O₅/TiO₂. *The J Phys Chem*. 1993; 97(47):12178-12185. doi.org/10.1021/j100149a013.
- [18] Sene FF. Síntese e caracterização de vidros Niobofosfato de Bário e Potássio para aplicações como matriz hospedeira de íons de terras raras. 2002. Tese apresentada (doutorado) – IPEN, São Paulo.
- [19] Karlinsey RL, Hara AT, Yi K, Duhn CW. Bioactivity of novel self-assembled crystalline Nb₂O₅ microstructures in simulated and human salivas. *Biomed Mater* 2006; 1(1): 16–23. doi: 10.1088 / 1748-6041 / 1/1/003.
- [20] Chenu S, Lebullenger R, Rocherulle J. Microwave synthesis and properties of NaPO₃–SnO–Nb₂O₅ glasses. *J Mater Sci*. 2012; 47(11): 4632–4639. doi: 10.1007/s10853-012-6328-z.
- [21] Leitune VCB, Collares FM, Takimi A, Lima GB de, Petzholt CL, Bergmann CP, Samuel SMW. Niobium pentoxide as a novel filler for dental adhesive resin. *Journal of Dentistry*. 2013; 41(2): 106–113. doi:10.1016/j.jdent.2012.04.022.
- [22] Viapiana R, Flumignan DL, Guerreiro-Tanomaru JM. Physicochemical and mechanical properties of zirconium oxide and niobium oxide modified Portland cement-based experimental endodontic sealers. *Int Endod J*. 2013; 47 (5): 437-448. doi: 10.1111 / iej. 12167.
- [23] Pradhan D, Wren AW, Misture ST, Mellott NP. Investigating the structure and biocompatibility of niobium and titanium oxides as coatings for orthopedic metallic implants. *Materials Science and Engineering C*. 2016; 58 918–926. doi: 10.1016/j.msec. 2015.09.059.
- [24] Balbinot GS, Leitune VCB, Nunes JS, Visioli F, Collares FM. Synthesis of sol–gel derived calcium silicate particles and development of a bioactive endodontic cement. *Dent Mater*. 2020; 36(1): 135-144 doi.org/10.1016/j.dental. 2019.11.004.
- [25] Carvalho CN, Wang Z, Shen Y, Gavini G, Martinelli JR, Manso A, Haapasalo M. Comparative analyses of ion release, pH and multispecies biofilm formation between conventional and bioactive gutta-percha. *Int. Endod. J*. 2016; 49(11): 1048-1056. doi: 10.1111/iej. 12558.
- [26] Bauer J, Carvalho EM, Carvalho CN, Meier MM, Souza JP de, Carvalho RMde, Loguercio AD. Development of a simplified etch-and-rinse adhesive containing niobophosphate bioactive glass. *International Journal of Adhesion and Adhesives*. 2016; 69:110-114. doi: 10.1016/j.ijadhadh. 2016.03.015.
- [27] Carneiro KK, Araujo TP, Carvalho EM, Meier MM, Tanaka A, Carvalho CN, Bauer J. Bioactivity and properties of an adhesive system functionalized with an experimental niobium-based glass. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2018; 78:188-195. doi: 10.1016/j.jmbbm. 2017.11.016.
- [28] Lee KW, Williams MC, Campos JJ, Pashley DH. Adhesion of endodontic sealers to dentin and gutta-percha. *Journal of Endodontics*. 2002; 28(10):684-8. doi:10.1097/00004770-200210000-00002.
- [29] Guigand M, Pellen-Mussi P, Le Goff A, Vulcain JM, Bonnaure-Mallet M. Evaluation of the cytocompatibility of three endodontic materials. *J Endod* 1999;25(6):419-23. doi:10.1016/s0099-2399(99)80270-2
- [30] Kayaoglu G, Erten H, Alaçam T, Ørstavik D. Short-term antibacterial activity of root canal sealers towards *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J* 2005;38(7):483-8. doi:10.1111/j.1365-2591.2005.00981.x
- [31] Timpawat S, Amornchat C, Trisuwan WR. Bacterial coronal leakage after obturation with three root canal sealers. *J Endod* 2001;27(1):36-9. doi:10.1097/00004770-200101000-00011

- [32] Candeiro GTM, Correia FC, Duarte MAH, Ribeiro-Siqueira DC, Gavini G. Evaluation of radiopacity, pH, release of calcium ions and flow of a bioceramic root canal sealer. *J Endod*. 2012; 38(6):842-5. doi:10.1016/j.joen.2012.02.029.
- [33] Gandolfi MG, Ciapetti G, Taddei P. Apatite formation on bioactive calcium-silicate cements for dentistry affects surface topography and human marrow stromal cells proliferation. *Dent Mater*. 2010; 26(10):974-992. doi:10.1016/j.dental.2010.06.002.
- [34] Gandolfi MG, Parrilli AP, Fini M, Prati C, Dummer PM. 3D micro-CT analysis of the interface voids associated with Thermafil root fillings used with AH Plus or a flowable MTA sealer. *J Endod*. 2013; 46(3):253-63. doi:10.1111/j.1365-2591.2012.02124.x.
- [35] Gandolfi MG, Siboni F, T Botero, Bossù M, Riccitiello F, Prati C. Calcium Silicate and Calcium Hydroxide Materials for Pulp Capping: Biointeractivity, Porosity, Solubility and Bioactivity of Current Formulations. *J. Appl Biomater Funct Mater*. 2015;13(1): 43-60. doi:10.5301/jabfm.5000201.
- [36] Weldon JK Jr, Pashley DH, Loushine RJ, Weller RN, Kimbrough WF. Sealing ability of mineral trioxide aggregate and super-EBA when used as furcation repair materials: a longitudinal study. *J Endod*. 2002; 28(6):467–470. doi:10.1097/00004770-200206000-00013.
- [37] Pelliccioni GA, Vellani CP, Gatto MR, Gandolfi MG, Marchetti C, Prati C. Proroot mineral trioxide aggregate cement used as a retrograde filling without addition of water: an in vitro evaluation of its microleakage. *J Endod* 2007; 33(9):1082–1085. doi:10.1016/j.joen.2007.04.009.
- [38] Malhotra N, Agarwal A, Mala K. Mineral trioxide aggregate: a review of physical properties. *Compend Contin Educ Dent*. 2013; 34(2): 25–32.
- [39] Demirkaya K, Birsen CD, Zeynep OT, Onur Erdem, Serdar Çetinkaya, Cemal Akay. In vivo evaluation of the effects of hydraulic calcium silicate dental cements on plasma and liver aluminium levels in rats. *European Journal of Oral Sciences*. 2016;124(1):75-81. doi:10.1111/eos.12238.
- [40] Exley C. What is the risk of aluminium as a neurotoxin? *Expert Rev Neurother*. 2014; 14(6): 589–591. doi:10.1586/14737175.2014.915745.
- [41] Lukiw WJ, Pogue AI. Induction of specific micro RNA (miRNA) species by ROS-generating metal sulfates in primary human brain cells. *J Inorg Biochem*. 2007;101(9):1265–1269. doi:10.1016/j.jinorgbio.2007.06.004.
- [42] Crapper DR, Krishnan SS, Dalton AJ. Brain aluminum distribution in Alzheimer's disease and experimental neurofibrillary degeneration. *Science* 1973; 180(4085): 511–513. doi:10.1126/science.180.4085.511.
- [43] Cooke K, Gould MH. The health effects of aluminium –a review. *J R Soc Health*. 1991; 111(5): 163–168. doi:10.1177/146642409111100503.
- [44] Yasui M, Kihira T, Ota K. Calcium, magnesium and aluminum concentrations in Parkinson's disease. *Neurotoxicology* 1992;13(3): 593–600. PMID 1475063.
- [45] Forbes WF, Gentleman JF and Maxwell CJ. Concerning the role of aluminum in causing dementia. *Exp Gerontol* 1995;30(1):23–32. doi:10.1016/0531-5565(94)00050-d.
- [46] Han S, Lemire J, Appanna VP. How aluminum, an intracellular ROS generator promotes hepatic and neurological diseases: the metabolic tale. *Cell Biol Toxicol* 2013; 29(2): 75–84. doi:10.1007/s10565-013-9239-0.
- [47] Camilleri J. Characterization of hydration products of mineral trioxide aggregate. *Int. Endodo. J*. 2008; 41(5):408–17. doi:10.1111/j.1365-2591.2007.01370.x.
- [48] Vallés M, Mercadé M, Duran-Sindreu F, Bourdelande JL, Roig M. Influence of light and oxygen on the color stability of five calcium silicate-based materials. *J. Endodo*. 2013; 39(4):525–8. doi:10.1016 / j.joen.2012.12.021.
- [49] Camilleri J. Color stability of white mineral trioxide aggregate in contact with hypochlorite solution. *J.Endodo* 2014; 40(3):436–40. doi:10.1016/j.joen.2013.09.040.

- [50] Shokouhinejad N, Nekoofar MH, Pirmoazen S, Shamshiri AR, Dummer PM Evaluation and comparison of occurrence of tooth discoloration after the application of various calcium silicate-based cements: an ex vivo study. *J. Endod.* 2016; 42(1):140–4. doi:10.1016 / j.joen.2015.08.034.
- [51] 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):295–298. doi:10.1016/j.joen.2006.11.018.
- [52] Li Q, Deacon AD, Coleman NJ. The impact of zirconium oxide nanoparticles on the hydration chemistry and biocompatibility of white Portland cement. *Dent Mater J.* 2013; 32(5):808–815. doi:10.4012/dmj.2013-113.
- [53] Carvalho CN, Grazziotin-Soares R, Candeiro GTM, Martinez LG, Souza JP, Oliveira PS. Micro Push-out bond strength and bioactivity analysis of a bioceramic root canal sealer. *Iran Endod J.* 2017;12(3):343–8. doi.org/10.22037/iej.v12i3.16091.
- [54] Emara R, Elhennawy K, Schwendicke F. Effects of calcium silicate cements on dental pulp cells: a systematic review. *J Dent.* 2018; 77:18–36, doi.org/10.1016/j.jdent. 2018.08.003.
- [55] Borges RP, Sousa-Neto MD, Versiani MA, Rached-Júnior FA, De-Deus G, Miranda CES, Pécora JD. Changes in the surface of four calcium silicate-containing endodontic materials and an epoxy resin-based sealer after a solubility test. *Inter Endodo J.* 2012; 45(5), 419–428. doi:10.1111/j.1365-2591.2011.01992.x.
- [56] Hench LL. The story of Bioglass. *J Mater Sci Mater Med.* 2006; 17(11):967–78. doi:10.1007/s10856-006-0432-z.
- [57] Vollenweider M, Brunner TJ, Knecht S, Grass RN, Zehnder M, Imfeld T, Stark W. J. Remineralization of human dentin using ultrafine bioactive glass particles. *Acta Biomaterialia.* 2007; 3(6):936–943. doi:10.1016/j.actbio.2007.04.003.
- [58] Jones JR. Reprint of: Review of bioactive glass: From Hench to hybrids. *Acta Biomaterialia.* 2015; 23 S53–S82. doi: 10.1016/j.actbio. 2015.07.019.
- [59] Bertolini MJ, Zaghe MA, Gimenes R, Padovani GC. Determination of the properties of an experimental glass polyalkenoate cement prepared from niobium silicate powder containing fluoride. *Dental Mater.* 2008; 24(1):124–8. doi:10.1016/j.dental.2007.03.005.
- [60] Vallet-Regi M. Ceramics for medical applications. *J Chem Soc-Dalton Trans.* 2001; 2(2):97–108. doi:10.1039 / B007852M.
- [61] Kushwaha M, Pan X, Holloway JA, Denry IL. Diferenciação de células-tronco mesenquimais humanas em vitrocerâmica de fluorapatita dopada com nióbio. *Dental Materials.* 2012; 28 (3): 252–260. doi: 10.1016 / j.dental.2011.10.010
- [62] Obata A, Takahashi Y, Miyajima T, Ueda K, Narushima T, Kasuga T. Efeitos de íons de nióbio liberados de vidros invertidos de fosfato de cálcio contendo Nb2O5 em funções celulares semelhantes a osteoblastos. *ACS Applied Materials & Interfaces.* 2012;4 (10): 5684–5690. doi: 10.1021 / am301614a
- [63] Sene FF, Martinelli JR, L.Gomes. Síntese e caracterização de vidros de fosfato de nióbio contendo bário e potássio. *Journal of Non-Crystalline Solids.* 2004; 348(2004): 30–37. doi: 10.1016 / j.jnoncrysol.2004.08.122
- [64] Miyazaki T, Kim HM, Kokubo T, Ohtsuki C, Nakamura T. Apatite-Forming Ability of Niobium Oxide Gels in a Simulated Body Fluid. *Journal of the Ceramic Society of Japan.* 2001 109(11), 929–933. doi:10.2109/jcersj.109.1275_929
- [65] Silva MHP da, Lima CJ de, Silva IIC da, Barros L F H de, Graneiro JM. Resposta do tecido subcutâneo de camundongos à implantação de um novo biovidro à base de óxido de nióbio. *Matéria (Rio de Janeiro).* 2011; 16(1); 574–582. doi:10.1590/s1517-70762011000100004
- [66] Tamai M, Isama K, Nakaoka R, Tsuchiya T. Synthesis of a novel b-tricalcium phosphate/hydroxyapatite biphasic calcium phosphate containing niobium ions and evaluation

of its osteogenic properties. *Journal of Artificial Organs*. 2007; 10 (1): 22-28. doi: 10.1007 / s10047-006-0363-y

[67] Vallittu PK, Boccaccini AR, Hupa, L, Watts DC. Bioactive dental materials—Do they exist and what does bioactivity mean? *Dental Materials*. 2018; 34(5): 693–694. doi:10.1016/j.dental.2018.03.001

[68] Carvalho EM, Lima D.M, Carvalho CN, Loguercio AD, Martinelli JR, Bauer J. Effect of airborne-particle abrasion on dentin with experimental niobophosphate bioactive glass on the microtensile bond strength of resin cements. *Journal of Prosthetic Research*. 2015; 59(2): 129–135. doi:10.1016/j.jpor.2015.01.001.

[69] Collares, FM, Leitune, VCB, Rostirolla, FV, Trommer, RM, Bergmann, CP, Samuel, SMW . Hidroxiapatita nanoestruturada como preenchedor para cimentos de canais radiculares à base de metacrilato. *International Endodontic Journal*. 2011. 45 (1), 63–67. doi: 10.1111 / j.1365-2591.2011.01948.x

[70] McMichen FRS, Pearson G, Rahbaran S, Gulabivala K. A comparative study of selected physical properties of five root-canal sealers. *Int Endod J*. 2003; 36(9):629-635. doi: 10.1046/j. 1365-2591.2003.00701.x.

[71] Donnelly A, Espada J, Nishitani Y. Water sorption and solubility of methacrylate resin-based root canal sealers. *J. Endod*. 2007; 33(8): 990–994. doi: 10.1016/j.joen. 2006.03.021.

[72] Marin-Bauza GA, Rached-Junior F.J. A, Souza-Gabriel A.E. Sousa-neto MD, Niranda CE, Silva-Sousa YT. Physicochemical properties of methacrylate resin-based root canal sealers. *J Endod*. 2010; 36(9): 1531-1536. doi: 10.1016/j.joen. 2010.05.002.

[73] Silva EJNL, Rosa TP, Herrera DR, Jacinto RC, Gomes BPFA, Zaia AA. Evaluation of cytotoxicity and physicochemical properties of calcium silicate-based endodontic sealer MTA Fillapex. *J. Endodo*. 2013; 39(2): 274–277. doi: 10.1016/j.joen. 2012.06.030.

[74] Camilleri J, Cutajar A, Mallia B. Hydration characteristics of zirconium oxide replaced Portland cement for use as a root-end filling material. *Dental Materials*. 2011; 27 (8): 845-854. doi:10.1016/j.dental.2011.04.011.

[75] Abudayyak M, Öztaş E, Arici M, Özhan G. Investigation of the toxicity of bismuth oxide nanoparticles in various cell lines. *Chemosphere*. 2017; 169:117-123. doi: 10.1016/j.chemosphere. 2016.11.018.

[76] Siqueira, J. F., Fraga, R. C., & Garcia, P. F. Evaluation of sealing ability, PH and flow rate of three calcium hydroxide-based sealers. *Dent Traumatol*. 1995; 11(5): 225–228. doi: 10.1111/j. 1600-9657.1995.tb00493.x .

[77] Cerruti M, Greenspan D, Powers K. Effect of pH and ionic strength on the reactivity of Bioglass45S5. *Biomaterials*. 2005;26(14):1665–1674. doi:10.1016/j.biomaterials.2004.07.009

[78] Lopes JH, Magalhães A, Mazali IO, Bertran CA. Efeito do óxido de nióbio na estrutura e propriedades de vidros bioativos derivados de fusão. *Journal of the American Ceramic Society*. 2014; 97 (12), 3843–3852. doi: 10.1111 / jace.13222

[79] Marão HF., Panzarini SR, Aranega AM, Sonoda C K, Poi WR, Esteves JC, Silva PIS. Periapical tissue reactions to calcium hydroxide and MTA after external root resorption as a sequela of delayed tooth replantation. *Dental Traumatology*. 2011; 28(4), 306–313. doi:10.1111/j.1600-9657.2011.01090.x

[80] Koch KA., Brave GD. EndoSequence: melding endodontics with restorative dentistry, part 3. *Dent Today*. 2009; 28(3):88, 90, 92 passim. PMID: 19323322.

[81] Stock CJ. Calcium hydroxide: root resorption and perio-endo lesions. *Br Dent J*. 1985; 158(9): 325–334. doi.org/10.1038/sj. bdj.4805601.

[82] Stuart C, Schwartz S, Beeson T, Owatz C. *Enterococcus faecalis*: Its Role in Root Canal Treatment Failure and Current Concepts in Retreatment. *J Endod*. 2006; 32(2): 93–98. doi: 10.1016/j.joen. 2005.10.049.

- [83] Odermatt R, Par Mohn, Wiedemeier DB, Attin T, Tauböck TT. Bioactivity and Physico-Chemical Properties of Dental Composites Functionalized with Nano- vs. Micro-Sized Bioactive Glass. *J Clin Med*. 2020; 9(3): 772. doi:10.3390/jcm9030772.
- [84] Al-Haddad A, Aziz ZACA. Bioceramic-Based Root Canal Sealer: A Review. *Int J Biomater*, Baltimore. 2016; 2016, 1-10. doi.org/10.1155/2016/9753210.
- [85] Zerlim, Anelisa. Estudo da dissolução de vidros niobofosfato em água e em solução simuladora de fluído fisiológico [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares; 2008 [citado 2021-03-26]. doi:10.11606/D.85.2008.tde-10102011-142406
- [86] Bodanezi A, Carvalho N, Silva D. Immediate and delayed solubility of mineral trioxide aggregate and Portland cement. *J Appl Oral Sci*. 2008; 16 (2): 127-13. doi.org/10.1590/S1678-77572008000200009.
- [87] Balbinot GS, Collares FM, Visioli F, Soares PBF, Takimi AS, Samuel SMW, Leitune VCB. Niobium addition to sol-gel derived bioactive glass powders and scaffolds: In vitro characterization and effect on pre-osteoblastic cell behavior. *Dental Materials*. 2018; 34(10): doi: 10.1016 / j.dental. 2018.06.014.
- [88] Viapiana R, Guerreiro-Tanomaru JM, Hungaro-Duarte MA, Tanomaru-Filho M, Camilleri J. *Dent Mater*. 2014; 30(9): 1005–1020. doi: 10.1016/j.dental. 2014.05.007.
- [89] Fridland M, Rosado R. Mineral trioxide aggregate (MTA) solubility and porosity with different water-to-powder ratios. *J Endod*. 2003; 29(12): 814817. doi.org/10.1097/00004770-200312000-00007.
- [90] Duarte MAH, Minotti PG, Rodrigues CT, Zapata RO, Bramante CM, Tanomaru MF. Effect of Different Radiopacifying Agents on the Physicochemical Properties of White Portland Cement and White Mineral Trioxide Aggregate. *J Endod*. 2012; 38(3): 394–397. doi: 10.1016/j.joen. 2011.11.005.
- [91] Camilleri J. Hydration mechanisms of mineral trioxide aggregate. *Int. Endod. J*. 2007; 40 (6): 462-470. doi: 10.1111/j. 1365-2591.2007.01248.x.
- [92] Ylmén R, Jäglid U, Steenari B.-M, Panas I. Early hydration and setting of Portland cement monitored by IR, SEM and Vicat techniques. *Cem. Concr. Res*. 2009; 39(5): 433–439. doi.org/10.1016/j.cemconres.2009.01.017.
- [93] Bergold ST, Goetz-Neunhoffer F, Neubauer J. Mechanically activated alite: New insights into alite hydration. *Cem. Concr. Res*. 2015; 76, 202–211. doi. org/ 10. 1016/ j. cem conres. 2015.06.005.
- [94] Choi HW, Um S.-H.; Rhee S.-H. Synthesis of a Ca_3SiO_5 - Ca_2SiO_4 - $\text{Ca}_3\text{Al}_2\text{O}_6$ cement system with rapid setting capacity by spray-pyrolysis coupled with sol-gel method. *J. Biomed. Mater. Res. Part B*. 2019; 107(5): 1440–1451. doi: 10.1002/jbm. b.34236.
- [95] Hirschberg CS, Patel NS, Patel LM, Kadouri DE, Hartwell GR. Comparison of sealing ability of MTA and endosequence bioceramic root repair material: A bacterial leakage study. *Quintessence Int*. 2013; 44(5): e157-62. doi:10.3290/j.gi.a29399.
- [96] Shokouhinejad N, Nekoofar MH, Razmi H, Sajadi S, Davies TE, Saghir MA. Bioactivity of endosequence root repair material and bioaggregate. *Int Endod J* 2012; 45(12): 1127-34. doi: 10.1111/j. 1365-2591.2012.02083.x
- [97] Gupta G, Kirakodu S, El-Ghannam A. Effects of exogenous phosphorus and silicon on osteoblast differentiation at the interface with bioactive ceramics. *J. Biomed. Mater. Res*. 2010; 95A(3): 882-890. doi.org/10.1002/jbm. a.32915.
- [98] Jung GY, Park YJ, Han JS. Effects of HA released calcium ion on osteoblast differentiation. *J. Mater. Sci. Mater. Med*. 2010; 21 (5): 1649-1654. doi:10.1007/s10856-010-4011-y.

- [99] Kokubo AYT, Yamamuro T. Apatite coating on ceramics, metals and polymers utilizing a biological process. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 1990; 1(4): 233–238. doi:10.1007/bf00701082.
- [100] Leu A, Stieger SM, Daytin P, Ferrara KW & Leach JK. Angiogenic Response to Bioactive Glass Promotes Bone Healing in an Irradiated Calvarial Defect. *Tissue Engineering Part A*. 2009; 15(4): 877–885. doi: 10.1089/tem. tea.2008.0018.
- [101] Dsouki NA, de Lima NA, Corazzini MP, Gáscon R, Azzalis LA, Juqueira LA. Cytotoxic, hematologic and histologic effects of niobium pentoxide in swissmice. *J Mater Med*. 2014; 25(5):1301-1305.doi.org/10.1007/s10856-014-5153-0.
- [102] Mestieri LB, Gomes-Cornélio AL, Rodrigues EM, Gisele Faria, Guerreiro-Tanomaru JM, Tanomaru-Filho M. Cytotoxicity and Bioactivity of Calcium Silicate Cements Combined with Niobium Oxide in Different Cell Lines. *Brazilian Dental Journal*. 2017; 28(1): 65-71. doi.org/10.1590/0103-6440201700525.