

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

RAMIRO MARTINS QUINTANA

ANÁLISE COMPARATIVA DA RESPOSTA DO TECIDO ÓSSEO DE RATOS FRENTE AO  
IMPLANTE DE UM NOVO CIMENTO QUE CONTÉM SILICATO TRICÁLCICO

Porto Alegre

2016

RAMIRO MARTINS QUINTANA

ANÁLISE COMPARATIVA DA RESPOSTA DO TECIDO ÓSSEO DE RATOS FRENTE AO  
IMPLANTE DE UM NOVO CIMENTO QUE CONTÉM SILICATO TRICÁLCICO

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

Linha de Pesquisa: Biomateriais e Técnicas Terapêuticas em Odontologia.

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Patrícia Maria Poli Kopper Móra

Porto Alegre

2016

## AGRADECIMENTOS

---

Aos meus pais, **Ane Beatriz Martins Quintana e Reginaldo Brito Quintana**, por serem meus exemplos. Por me mostrarem a paixão de trabalhar na área da saúde. Pelo apoio incondicional.

À minha namorada **Isadora**, sempre presente, nas horas boas e ruins.

À minha orientadora, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. **Patrícia Maria Poli Kopper Móra**, a quem devo grande parte da minha formação. Por ter acreditado em mim desde a graduação até hoje. Pelos conselhos e orientações constantes.

Ao **grupo de professores da Endodontia da UFRGS** por transmitirem o amor pela Endodontia e pelo convívio sempre agradável.

Aos meus colegas e amigos do mestrado, **Alexander, Lucas, Júlia, Camila e Luciana**, pela amizade e ajuda durante esses anos.

Aos colegas de pesquisa **Alexander e Ivana** pela ajuda incondicional.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, pela concessão de bolsa de mestrado.

À **Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)**, pela oportunidade de aprendizado por meio da pós-graduação.

A todos que direta, ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigado.

## RESUMO

---

**Introdução:** Materiais com modificações na formulação original do MTA, incluindo o NeoMTA Plus, têm sido desenvolvidos buscando melhorar suas propriedades físico-químicas. O objetivo do presente estudo foi analisar a resposta do tecido ósseo de ratos Wistar frente ao implante de NeoMTA Plus em comparação com o MTA Angelus. **Metodologia:** 24 ratos foram anestesiados e uma broca de baixa rotação foi empregada para confeccionar três cavidades cirúrgicas no fêmur direito. As cavidades cirúrgicas foram preenchidas aleatoriamente com os materiais teste NeoMTA Plus e MTA Angelus ou deixada vazia (controle negativo). Após 7, 30 e 90 dias as características do reparo ósseo foram classificadas em escores com o auxílio de microscópio óptico. As comparações entre os grupos foram realizadas pelo teste de Friedman e as comparações entre os três períodos experimentais em cada grupo foram realizadas pelo teste de Kruskal-wallis, seguido pelo teste de Dunn. O nível de significância foi estabelecido em  $P < .05$ . **Resultados:** Não foram observadas diferenças estatísticas entre os materiais e o grupo controle nos 3 tempos experimentais. Em todos os grupos houve diferença estatisticamente significativa entre os tempos de 7 e 30 dias e nenhuma diferença foi observada entre os tempos de 30 e 90 dias. Além disso, o reparo em 90 dias foi significativamente melhor do que em 7 dias nos grupos NeoMTA Plus e controle. **Conclusões:** O NeoMTA Plus demonstrou comportamento biológico satisfatório em contato direto com o tecido ósseo de ratos Wistar, apresentando resultados semelhantes aos grupos MTA Angelus e controle.

**Palavras-Chave:** Biocompatibilidade, Reparadores Endodônticos, Endodontia, NeoMTA Plus, Tecido Ósseo.

## ABSTRACT

---

**Introduction:** Materials that alter the original formulation of MTA have been developed to improve physical-chemical properties, including NeoMTA Plus (NMTAP). The aim of the present study was to analyze bone tissue reactions to NMTAP compared to MTA Angelus (MTA-A). **Methods:** 24 animals were anesthetized and a slow-rotation bur was used to create three surgical cavities in their right femur. Surgical cavities were randomly designated to NMTAP, MTA-A and negative control (empty cavity) groups. After 7, 30, and 90 days histological analysis of the characteristics of bone repair were classified in scores. Friedman's test performed intergroup comparisons and Kruskal-Wallis test, followed by the Dunn's post hoc test, compared the three experimental periods in each group. The significance level was set at  $P < .05$ . **Results:** No differences were found between the materials and control group in each experimental period. In all groups, the bone tissue repair improved from 7 to 30 days and there was no difference from 30 to 90 days. Moreover, the repair at 90 days was significantly better than at 7 in NMTAP and control groups. **Conclusions:** NeoMTA Plus showed satisfactory biological behavior when in direct contact with rat bone tissue, presenting repair characteristics similar to those produced by MTA Angelus and by the control group.

**Keywords:** Biocompatibility, Bone tissue, Endodontics, Endodontic repair materials, NeoMTA Plus, Silicate based materials.

## SUMÁRIO

---

1	APRESENTAÇÃO .....	6
2	INTRODUÇÃO .....	7
3	ARTIGO CIENTÍFICO .....	14
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	27
	REFERÊNCIAS .....	28
	ANEXOS .....	36

## 1 APRESENTAÇÃO

---

A presente dissertação teve como foco de estudo avaliar o comportamento biológico do cimento endodôntico Neo MTA Plus em tecido ósseo de ratos em comparação com o MTA Angelus pelos tempos de 7, 30 e 90 dias.

Esta dissertação de mestrado está estruturada da seguinte maneira:

- Introdução, enfatizando os pontos principais deste estudo;
- Artigo: O desenvolvimento do trabalho está apresentado na forma de artigo científico de periódico em inglês, a ser enviado para publicação na revista Journal of Endodontics, fator de impacto 2.904 (Qualis A1, CAPES);
- Considerações finais.

## 2 INTRODUÇÃO

---

A polpa dentária se comunica com o periodonto via forames apical e laterais e está separada do meio bucal por esmalte e dentina. O periodonto é composto pelo osso alveolar, ligamento periodontal e cimento radicular. A exposição do tecido pulpar à microrganismos, causada por diferentes fatores, desencadeia patologias pulpares e periapicais, podendo ser necessário, para a resolução do caso, o tratamento endodôntico (KAKEHASHI S et al., 1965; MÜLLER AJR et al., 1981; ENKEL B et al., 2008; INGLE JI, BAKLAND LK, 2008) O prognóstico de tal terapia é influenciado pelo estado dos tecidos periapicais antes e depois do tratamento, depende de uma correta desinfecção do sistema de canais e de um preparo químico-mecânico adequado para proporcionar uma correta obturação do sistema de canais e posteriormente a restauração (HAAPASALO M et al., 2005). Um selamento adequado do sistema de canais radiculares é necessário para que não ocorra uma reinfecção com o consequente insucesso do tratamento (SAUNDERS WP, SAUNDERS EM, 1994).

Um reparador endodôntico ideal deve bloquear a comunicação entre o sistema de canais radiculares e o periodonto, dessa forma ele deve ter adesão às paredes dentinárias, ser biocompatível, insolúvel aos tecidos periapicais, dimensionalmente estável mesmo na presença de umidade, fácil de usar, radiopaco e se possível indutor de tecido mineralizado (TORABINEJAD M & PARIROKH M, 2010; JOHNSON BR; 1999; MAIN C et al, 2004). Esses materiais, também conhecidos como cimentos de uso endodôntico, além de serem necessários para a obturação do sistema de canais radiculares, também são imprescindíveis em situações clínicas como capeamento pulpar, selamento de perfurações radiculares, apicificação da raiz dentária e retro-obturação do canal radicular.

Em todos os casos acima citados, a biocompatibilidade e a bioatividade do material influenciam diretamente no processo de reparo. A biocompatibilidade é definida como a capacidade de um material em permitir uma resposta biológica apropriada quando aplicado em um corpo. O fato de um material ser biocompatível ou não depende da resposta biológica frente a ele de acordo com o local onde será empregado, dependendo dos tecidos com os quais entrará em contato (CRAIG RG; POWERS JM, 2004). A bioatividade, por sua vez é a capacidade de um material se



ligar a um tecido vivo, induzindo sua proliferação (HANAWA T, 1991). Essa característica é muito importante quando trata-se de materiais odontológicos que ficam em íntimo contato com o tecido vivo. Nos procedimentos endodônticos, os materiais empregados para o selamento de perfurações e os retrobturadores ficam em contato direto com os tecidos periapicais. Sendo assim, além de ser biocompatível, é importante que o material a ser empregado seja bioativo, tendo a capacidade de induzir a formação de tecido vivo (CRAIG RG; POWERS JM, 2004).

Durante o processo de reparo ósseo, o tecido destruído é inicialmente substituído por um tecido conjuntivo neoformado com algumas diferenças relação ao tecido normal. Após, este é substituído por tecido fibroso e, então, por tecido ósseo primário. Este se caracteriza pela presença de fibras colágenas, dispostas de forma desordenada, com grande quantidade de osteócitos aprisionados na matriz secretada pelos osteoblastos e poucas áreas de tecido mineralizado. A seguir, o osso primário passa a ser substituído por osso secundário, formado em lamelas, com colágeno orientado e menor número de células aprisionadas na matriz, além de uma mineralização plena (SOARES, IJ; GOLDBERG, F, 2011).

Alguns materiais utilizados durante o tratamento endodôntico são irritantes aos tecidos vivos e, conseqüentemente, na análise histológica, células de defesa são facilmente observadas nas regiões próximas à esses materiais. Quando um material reparador não se comporta de forma biológica, ele tende a perpetuar o processo inflamatório já estabelecido na região, retardando ou impossibilitando o desejado reparo (LEONARDO, ML, 2012).

Já em 1962, Nicholls relatou que para ocorrer um adequado processo de reparo no tratamento de perfurações a irritação dos tecidos periodontais deve ser prevenida ou eliminada e que isso depende da localização, da extensão e do tempo da ocorrência da perfuração (NICHOLLS E, 1962). Além disso, em 1970, Seltzer (SELTZER S et al., 1970) afirmou que, para um melhor prognóstico, o tratamento imediato da perfuração deve ser realizado por meio do selamento na mesma consulta. Neste mesmo trabalho, Seltzer relatou que o prognóstico para o reparo histológico das perfurações seladas com amálgama é duvidoso (SELTZER S et al., 1970). Historicamente diversos materiais, como o amálgama, o cimento de ionômero de vidro e o cimento de óxido de zinco e eugenol, foram utilizados para o selamento de perfurações. Entretanto, nenhum deles possuía as características ideais para o tratamento desses acidentes.

Buscando superar as limitações dos referidos materiais, em 1993, Lee, Monsef e Torabinejad apresentaram um novo material, capaz de ter um selamento marginal estatisticamente melhor que os materiais até então estudados (LEE SJ et al., 1993; TORABINEJAD M et al., 1993). A partir de então, o agregado trióxido mineral (MTA) vem sendo muito estudado. É um pó constituído por partículas hidrofílicas, composto por um cimento de Portland refinado somado ao óxido de bismuto. Além desses compostos, é relatado na literatura conter traços de SiO<sub>2</sub>, CaO, MgO, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. O cimento de Portland é constituído por silicato dicalcico, silicato tricálcico, aluminato tricálcico, gesso e aluminoferrato tetracálcico (CAMILLERI J, 2004; SARKAR NK, 2005). Este material é indicado para tratamentos pulpares, tais como pulpotomias e capeamentos pulpares em dentes com rizogênese incompleta e sem sinais de pulpites irreversíveis, além de ser um reparador endodôntico, usado para selamento de perfurações, apicificações e como cimento retrobturador (TORABINEJAD M et al., 1999). Quando misturado com água, o MTA se torna um gel coloidal, que cristaliza e depois expande, proporcionando um adequado selamento marginal (STORM B et al., 2008).

A adaptação marginal do MTA foi testada em perfurações laterais por Lee et al. que demonstraram que o MTA proporciona um melhor vedamento em comparação com o amálgama e o IRM (LEE et al. 1993). Nakata et al provaram que o MTA possui um melhor selamento em reparo de perfurações de furca quando comparado com o amálgama (NAKATA et al., 1998). Quando utilizado para retrobturações, o MTA apresentou melhor adaptação do que o amálgama (TORABINEJAD M et al., 1993; TORABINEJAD M, 1993; AQRABAWI J. 2000; BATES CF et al., 1996), o óxido de zinco e eugenol (TORABINEJAD M et al., 1993; TORABINEJAD M, 1993; AQRABAWI J. 2000) e o ionômero de vidro convencional (DE BRUYNE MAA et al., 2005). Contraditoriamente, alguns estudos não mostraram diferença entre o MTA e óxido de zinco e eugenol e entre o MTA e o ionômero de vidro convencional (WU MK et al., 1998; BATES CF et al., 1996; ROY CO et al., 2001).

Além de proporcionar um adequado selamento marginal, quando utilizado para em casos de perfurações e retrobturações, o MTA apresenta compatibilidade biológica. O MTA se mostrou com maior biocompatibilidade do que o Super EBA, IRM e Amálgama em casos de retrobturações (FERNANDEZ YANEZ SANCHEZ A et al, 2008). Diversos estudos demonstraram biocompatibilidade do MTA em cultura

de células (TORABINEJAD M, et al 1995; KEISER K et al., 2000; YASUDA Y et al., 2008) e em estudos em animais (HOLLAND R et al., 1999; SUMMER M et al., 2006; TORABINEJAD M et al., 1998).

Para investigar a biocompatibilidade dos materiais endodônticos, diversos métodos *in vitro* e *in vivo* têm sido empregados. Dentre eles, destacam-se os testes *in vivo* de implantação subcutânea e intraóssea que permitem uma aproximação da realidade clínica, reproduzindo a reação tecidual que ocorre nos tecidos envolvidos no processo de reparo do tratamento endodôntico (SCARPARO; FACHIN; GRECCA, 2009; TORABINEJAD; PARIROKH, 2010).

O método de avaliação da resposta tecidual *in vivo*, é considerado um modelo apropriado para avaliar a biocompatibilidade de materiais de uso odontológico (OLSEN FK et al., 1994; ZMENER O et al., 2005). O teste em ratos é uma forma econômica de testar efeitos biológicos dos cimentos endodônticos (MITTAL M et al., 1995). As semelhanças entre ratos e humanos ficou melhor entendida após o mapeamento da maior parte do seu genoma, em 2004, o que é muito útil para estudos farmacológicos e fisiológicos. O rato é o animal mais empregado nesse tipo de estudo e, apesar da alta variabilidade de espécies, todas possibilitam a comparação dos resultados obtidos com os seres humanos (KOLA I, 2004).

Em 1998 Torabinejad e colaboradores avaliaram a resposta tecidual frente ao implante de MTA, amálgama, IRM e Super-EBA na tíbia e mandíbula de porcos da Índia. Os materiais foram inseridos em tubos de Teflon que foram encaixados em uma perfuração de 2mm de diâmetro e 2mm de profundidade com a extremidade aberta voltada para a medula óssea. Os animais foram mortos 80 dias após a colocação dos implantes e os resultados foram analisados histologicamente por dois examinadores cegados. O tipo de tecido adjacente aos materiais, presença de inflamação, tipo celular predominante e a espessura do tecido conjuntivo próximo ao implante foram avaliados. A resposta do tecido frente ao MTA foi a mais favorável dentre os materiais testados, sendo estatisticamente significativo. Nas amostras contendo MTA não foi observada inflamação.

Cintra e colaboradores em 2006 avaliaram a resposta do tecido ósseo alveolar de ratos frente ao implante do MTA e constataram que ele induz formação de tecido mineralizado. Da mesma forma, Yaltrik e colaboradores, em 2004, avaliaram a resposta do tecido conjuntivo de ratos frente ao implante de MTA e amálgama, e observaram a presença de formação de tecido mineralizado apenas no

grupo MTA a partir de 60 e 90 dias, também foi observado ausência de tecido inflamatório para os dois grupos em 90 dias após os procedimentos.

Gomes-Filho observou a resposta do MTA Angelus em implantes alveolares feitos em ratos do tipo Wistar. O autor constatou que o material induziu calcificação distrófica em 30, 60 e 90 dias pós-operatórios, além disso, o infiltrado inflamatório foi semelhante ao encontrado no grupo com cavidades vazias (controle) (GOMES-FILHO, JE, 2010)

Em estudo publicado em 2005, Yildirim e colaboradores avaliaram histologicamente perfurações tratadas com Super-EBA e MTA em dentes de cães. Nesse trabalho 90 pré-molares e molares foram perfurados e preenchidos com material selador, os dentes foram divididos em três grupos, MTA, Super-EBA e controle negativo (sem preenchimento). Os animais foram mortos após os tempos experimentais de 1, 3 e 6 meses, e os resultados foram avaliados histologicamente por dois examinadores de acordo com o tipo de reparo. Observou-se que o MTA foi superior ao Super-EBA quanto à resposta inflamatória e também quanto à formação de tecido cementóide.

Apesar do MTA apresentar propriedades favoráveis que justificam seu uso, há algumas limitações em relação às suas características físicas, o que dificulta a sua utilização como reparador endodôntico. Ele é um material de difícil manipulação, apresenta consistência granular, tempo de presa extenso e pode causar manchamento da estrutura dentária (TORABINEJAD M et al., 1995; MARCIANO MA et al., 2014; IOANNIDIS K et al., 2013; CAMILLERI J, 2014; CHNG, HK et al., 2005; KOGAN P et al., 2006; ISLAM I; CHNG HK; YAP AU, 2006).

Buscando um material que supere tais limitações do MTA, o MTA Plus foi desenvolvido e lançado no mercado pela Avalon Biomed (Avalon Biomed Inc, Bradenton, FL). Esse material é similar ao MTA branco, porém, suas partículas são mais finas. O kit do MTA Plus é composto por um pó de partículas finas, água destilada ou e um polímero gel (Primus C. Dental material. Patent US 7,892,342 B2, 2011.) Guven e colaboradores (2014) avaliou os componentes presentes no MTA Plus em comparação com o MTA Angelus e DiaRoot BioAggregate e observou que o MTA Plus era composto por óxido de bismuto, portlandite, silicato dicalcico e silicato tricalcico.

Gandolfi e colaboradores (2014) pesquisaram sobre propriedades do MTA Plus. Esse material mostrou-se bioativo, com uma maior capacidade de liberar íons

cálcio no meio em comparação com o ProRoot MTA branco, e foi capaz de aumentar o pH local para valores alcalinos. Os autores concluíram que o MTA Plus se mostra uma alternativa ao MTA com propriedades físico-químicas adequadas.

Formosa e colaboradores (2013) avaliaram as propriedades e microestrutura do MTA Plus misturado com a água destilada ou com o polímero gel. Quando misturado ao gel, o MTA Plus aumentou a resistência à lavagem e aprimorou pontos fracos do MTA convencional. Houve redução no tempo de presa, aumento da resistência à compressão e diminuiu a absorção de fluidos e porosidade.

Camilleri e colaboradores (2013) avaliaram as características de presa do MTA Plus em contato com água, solução salina balanceada de Hank (HBSS) e em ambiente seco. Para o preparo dos corpos de prova, o MTA Plus foi manipulado com água destilada e, após, colocado em contato com água, HBSS ou deixado em ambiente seco por 28 dias. Ao longo deste período, o tempo de presa foi avaliado. Os autores concluíram que o tempo de presa foi aumentado na presença de umidade, sendo que na presença de HBSS o tempo foi significativamente maior quando comparado com água. Além disso, os autores observaram a presença de microfissuras quando o material ficou em ambiente úmido. Segundo os autores, tal fato poderia causar falhas no selamento.

Quanto à citotoxicidade e biocompatibilidade do MTA Plus, alguns artigos foram publicados. Eid e colaboradores (2014) observaram que o MTA Plus tem baixos índices de citotoxicidade, e que essa toxicidade é dependente do tempo e da concentração. Diversos autores avaliaram a bioatividade, citotoxicidade do MTA Plus, sendo que todos verificaram que este é um material bioativo e com baixa citotoxicidade (EID, AA et al., 2014; MESTIERI, LB et al., 2015; RODRIGUES, EM et al., 2016; GOMES-CORNELIO, AL et al., 2016; COSTA, F et al., 2016).

Walsh e colaboradores (2014) avaliaram a resistência a compressão do ProRoot MTA, MTA Plus, QuickSet e Endosequence Root Repair Material na presença de umidade. O autor observou que o MTA Plus tem resistência similar à observada para o ProRoot MTA. Quando manipulado juntamente com o gel anti lavagem, o MTA Plus manteve sua resistência à compressão. Formosa e colaboradores (2014) avaliaram a resistência a tração do MTA Plus e concluíram que o material possui uma adequada resistência a tração, além de tomar presa mais rapidamente que o MTA convencional e ser resistente a lavagem.

Hiremath e colaboradores (2015) avaliaram o efeito antimicrobiano do MTA Plus, Biodentine e ProRoot MTA frente a *Candida albicans* e *Enterococcus faecalis*. O MTA Plus apenas teve efeito antifúngico, enquanto outros materiais estudados tiveram efeito antibacteriano também.

Como citado anteriormente, os principais componentes do MTA Plus são o óxido de bismuto, o silicato tricálcico e o silicato dicálcico. O óxido de bismuto é conhecido por ser um agente de manchamento dentário (MARCIANO 2014). Sendo assim, o Neo MTA Plus (Avalon Biomed Inc, Bradenton, FL) foi lançado havendo a substituição do óxido de bismuto por óxido de tântalo.

Camilleri (2015), em um estudo *in vitro*, avaliou o potencial de manchamento do Neo MTA Plus, MTA Plus e Biodentine empregados em procedimentos de Pulpotomia. Nesse estudo, os cimentos foram hidratados em solução salina balanceada de Hank (HBSS) durante os períodos de 1 dia e 28 dias. A estabilidade de coloração foi avaliada por fotografias, espectrofotometria e análise de difração de raios x. O único material que sofreu alteração na coloração foi o MTA Plus. Todos os materiais apresentaram hidratação e liberação de hidróxido de cálcio.

Govindaraju e colaboradores (2014) avaliaram o efeito das soluções irrigadoras na resistência a compressão do MTA Angelus, ProRoot MTA Neo MTA Plus e Biodentine. O Neo MTA Plus teve sua resistência reduzida em contato com EDTA. Quando em contato com NaOCl nenhuma mudança significativa foi observada. Tran e colaboradores (2016) avaliaram o selamento marginal do Neo MTA Plus, ProRoot MTA, Endosequence BC RRM-Fast set puppy em casos de ápices abertos. Não foi observada diferença estatística entre os materiais utilizados.

A aceitação do uso de um determinado material deve ser baseada em trabalhos experimentais e laboratoriais que comprovem, entre outras propriedades, a sua biocompatibilidade. No que tange ao Neo MTA Plus, a resposta tecidual quando em contato direto com o tecido ósseo ainda não foi investigada. Para que um material seja considerado mais vantajoso em relação aos já estabelecidos no mercado suas propriedades e indicações devem ser investigadas. Sendo assim, cabe investigar a biocompatibilidade e bioatividade do Neo MTA Plus em comparação com o MTA Angelus em tecido ósseo de ratos, empregando um modelo de estudo *in vivo*.

### 3 ARTIGO CIENTÍFICO

---

#### Tilte

Evaluation of bone tissue response to Neo MTA Plus

#### Abstract

**Introduction:** Materials that alter the original formulation of MTA have been developed to improve physical-chemical properties, including NeoMTA Plus (NMTAP). The aim of the present study was to analyze bone tissue reactions to NMTAP compared to MTA Angelus (MTA-A). **Methods:** 24 animals were anesthetized and a slow-rotation bur was used to create three surgical cavities in their right femur. Surgical cavities were randomly designated to NMTAP, MTA-A and negative control (empty cavity) groups. After 7, 30, and 90 days histological analysis of the characteristics of bone repair were classified in scores. Friedman's test performed intergroup comparisons and Kruskal-Wallis test, followed by the Dunn's post hoc test, compared the three experimental periods in each group. The significance level was set at  $P < .05$ . **Results:** No differences were found between the materials and control group in each experimental period. In all groups, the bone tissue repair improved from 7 to 30 days and there was no difference from 30 to 90 days. Moreover, the repair at 90 days was significantly better than at 7 in NMTAP and control groups. **Conclusions:** NeoMTA Plus showed satisfactory biological behavior when in direct contact with rat bone tissue, presenting repair characteristics similar to those produced by MTA Angelus and by the control group.

**Keywords:** Biocompatibility, Bone tissue, Endodontics, Endodontic repair materials, NeoMTA Plus, Silicate based materials.

## Introduction

MTA is a repair material that consists of fine hydrophilic particles of tricalcium silicate, tricalcium aluminate, tricalcium oxide, and silicate oxide and has provided an improvement in the prognosis on these treatments outcomes<sup>1,2,3</sup>. Due to its sealing ability, biocompatibility, bioactivity and antibacterial activity<sup>2,3,4,5,6</sup>, besides being considered the gold standard material for sealing root perforations<sup>1</sup> and being widely used as a root-end filling material<sup>8</sup>, it is also employed in vital pulp therapy<sup>8</sup>. However, long setting time, difficult in handling and capacity of causing tooth discoloration are some of the drawbacks of this material<sup>1,8,9,10</sup>.

To overcome these limitations, modifications on MTA formulation have been suggested, resulting in other calcium silicate based materials such as MTA Plus (Avalon Biomed Inc, Bradenton, FL). MTA Plus presents finer particles compared to the original MTA, and it may be mixed with water or with an anti-washout gel. The gel reduces the setting time and improves the handling of the material<sup>11</sup>. According to Gandolfi et al, MTA Plus showed better reactivity and prolonged capability to release calcium and increase the local pH to alkaline values in comparison with ProRoot MTA<sup>12</sup>. Recently, Mestieri et al<sup>13</sup> and Eid et al<sup>14</sup> showed, in an *in vitro* study using cell culture, that MTA Plus is a biocompatible and a bioactive material. On the other hand, this material is still prone to cause tooth discoloration, due the potential of the radiopacify agent (bismuth oxide) interact with dentin collagen<sup>15</sup>.

For this reason, NeoMTA Plus (Avalon Biomed Inc, Bradenton, FL) was developed. It presents basically the same compounds of MTA Plus, but uses tantalum oxide as the radiopacify agent<sup>15</sup>. The manufacturer indicates NeoMTA Plus for the same clinical situations for which the original MTA is employed, including vital pulp treatments, perforation repair, root-end filling<sup>16</sup>. Nonetheless, the literature still lacks information about this material and, to date, no studies have been conducted to analyze histologically the effect of this material in direct contact with bone tissue. Therefore, the aim of the present study was to analyze bone tissue reactions to NeoMTA Plus compared to MTA (Angelus Industria de Produtos Odontologicos Ltda, Londrina, Brazil) in the femurs of Wistar rats.

## Materials and Methods

The present study was approved by the Research and Ethics Committee of the Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil (no. 30488).



Bone tissue reactions to NeoMTA Plus and MTA Angelus were evaluated in 24 animals after 3 experimental periods (ie, 7, 30, and 90 days; n=8 per period). Surgical procedures were conducted similarly as described by Assman et al<sup>17</sup>. Briefly, the animals were anesthetized with 0.008 mL/100g ketamine (Virbac do Brasil Industria e Comércio Ltda, São Paulo, Brazil) and 0.004 mL/100g 2% xylazine hydrochloride (Virbac do Brasil Industria e Comércio Ltda). Trichotomy in the right leg was performed, and a 4-cm-long incision was made on the skin, tissues were separated by layers, and the periosteum was incised with a scalpel. With a slow-rotation trephine number 4 bur, under constant irrigation with saline and aspiration, positioned perpendicularly to the cortical surface of femur and triggered until bone disruption was verified. Thus, three 4-mm-diameter cavities were prepared leaving approximately 4 mm apart from one another. In each animal, surgical cavities were randomly designated to NeoMTA Plus, MTA Angelus and negative control (empty cavity) groups.

The repair materials were prepared according to the manufacturers' instructions and introduced into insulin syringes (Injex Industria Cirurgica Ltda, Ourinhos, Brazil); 0.2 mL was immediately inserted into the respective cavity. The wound was sutured in layers (Vicryl Ethicon; Johnson & Johnson, São José dos Campos, SP, Brazil). After experimental procedures, 50 mg/kg opioid analgesic (Tramal 50; Pfizer Indústria Farmacêutica, Guarulhos, Brazil) was injected intramuscularly.

By the end of each experimental period, 8 animals were randomly euthanized by intraperitoneal thiopental 120mg/kg in mixed solution with anesthetic (lidocaine 10 mg/ml). The operated leg was disarticulated and dissected to isolate the femur. Then, with a slow-rotation diamond disc, the bone was transversally sectioned to separate the region of surgical cavities. Each fragment was individually stored in 10% neutral-buffered formalin for 48 hours. After decalcification with 5% nitric acid, the samples were set in paraffin blocks and processed for histologic analysis. Sections with 3 $\mu$ m thickness were cut transversely to the long axis of the femur, mounted on slides, and stained with hematoxylin-eosin. Slices were analyzed with a light microscope (Model Lambda LQT 2; ATTO Instruments Co, Hong Kong, China), using 40x, 100x, 300x, and 400X magnification.

One blinded and calibrated examiner (k=0.748, P<0.001) analyzed the histologic features of the samples. The characteristics of the repair at the bone defect

area were analyzed qualitatively as follow: (1) Partial closure of the bone defect area by large amount of fibrous connective tissue and few areas of mineralized tissue (2) Partial closure of the bone defect area by mineralized tissue with fibrous connective tissue interspersed (trabecular bone). (3) Complete closure of the bone defect area by trabecular bone. (4) Complete closure of the bone defect area by large amount of mineralized tissue with several incremental lines (lamellar bone) and few areas of trabecular bone. (5) Complete closure of the defect by lamellar bone, demonstrating a complete regeneration.

Data from bone tissue repair was analyzed using GraphPad Prism 7.0 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA). Friedman's test performed intergroup comparisons and Kruskal-Wallis test, followed by the Dunn's post hoc test, compared the three experimental periods in each group. The significance level was set at  $P < .05$ .

## Results

Eleven samples, from a total of 72, were excluded from statistical analysis due to the occurrence of bone marrow invasion during the surgical procedures, verified in the histological analysis by the observation of the tested materials inside bone marrow, together with an increased number of inflammatory cells (Figure 1Aa). In the other samples, in which cavity preparation was properly performed, absence or presence of isolated inflammatory cells was verified.

The histologic parameters used for assessing the bone tissue repair over the experimental periods are shown in Figure 1 (Bb, Cc, Dd, Ee, Ff). No differences were found between the materials and control group in each experimental period ( $P > .05$ ). In all groups, the bone tissue repair improved from 7 to 30 days ( $P < .05$ ) and there were no difference from 30 to 90 days ( $P > .05$ ). Moreover, the repair at 90 days was significantly better than at 7 in NeoMTA Plus and control groups ( $P < .05$ ) (Figure 2).

## Discussion

In the present study, the rat bone healing was evaluated when in contact with NeoMTA Plus and MTA Angelus. In this regard, the analysis of Wistar rat tissues responses to endodontic cements has been considered an appropriate method<sup>18,19</sup>. Taken into account that tricalcium silicate based cements are indicated both for

sealing root perforations and as a root-end filling material<sup>7</sup>, it is expected that it come in close contact with soft and hard tissues of the periodontium<sup>20</sup>.

Thus, to simulate these clinical situations, after the conduction of initial tests (ie. cytotoxicity and mutagenicity), preliminary tests evaluating bone repair must complement the analysis of subcutaneous connective tissue reactions<sup>17,21,22,23,24</sup>. According to Figueiredo et al.<sup>25</sup> the deposit of the tested materials directly in contact with the tissues, appears to be the best way to simulate a clinical situation. Considering this assumption, in the current investigation, the cements were injected directly in the bone cavity to simulate contact of the sealing material with the periodontal tissues and alveolar bone, as also employed by others<sup>17</sup>.

When compared to the control, the tested cements showed similar results in all experimental periods, so they can be considered compatible. As expected for a non-toxic material, and demonstrated in a previous investigation, the closure of bone defect improved over time<sup>17</sup>.

Regarding the original formulation of mineral trioxide aggregate (MTA) the present investigation confirmed the results of several other studies that demonstrated its biocompatibility<sup>20,26,,27,28,29</sup>. Even though, some samples of this group presented lower scores for repair of the bone defects than the control and the samples of NeoMTA Plus groups, suggesting a slight slowly, but still adequate, tissue regeneration.

Although, up to date, NeoMTA Plus biocompatibility has not been tested, the current outcomes are in line with favorable biological features demonstrated in several investigations testing MTA Plus<sup>13,14,30,31,32</sup>. Since NeoMTA Plus differs from MTA Plus only by its radiopacifier it was expected that favorable reactions were observed. In this regard, higher alkaline phosphatase activity was evidenced for MTA Plus in comparison to MTA Angelus<sup>30</sup>. This enzyme is expressed during the early maturation of osteoblasts and plays an important role in mineral deposition<sup>33</sup>. So, it may have influenced on the differences observed between NeoMTA Plus and the control, which was not observed for MTA Angelus.

The reduced number of inflammatory cells observed in all groups and experimental periods could be associated with the standardization of surgical procedures during bone cavity preparation. Care was taken to avoid bone marrow invasion, reproducing a clinical situation without cement overfilling. Agreeing with this guess Holland et al<sup>34</sup> reported better response of apical tissues of dogs' teeth after

root canal filling without overfilling. Corroborating with the present findings, the literature also described no inflammatory infiltrate when MTA stayed in contact with animals bone tissue<sup>26,28</sup>. Studies that observed an intense and long-lasting inflammatory response<sup>17,20,29,35</sup> probably allowed the extrusion of the materials beyond the surgical cavity, resulting in greater tissue reactions. The current investigation aimed to simulate an ideal placement of tricalcium silicate cements, avoiding overfilling. Thus, samples in which accidental material extrusion was detected were excluded from statistical analysis.

These methodological differences, can also explain the faster bone regeneration observed here in comparison with previous investigations<sup>17,26,27</sup>. MTA Angelus and NeoMTA Plus induced the repair of the bone defect area already from the seventh day, being similar to the control group. All the groups showed statistical differences between 7 and 30 days after procedure, demonstrating capacity of allow fast regeneration. At 90 days, all groups presented lamellar bone tissue, suggesting complete regeneration of the defect in most of the samples, also similarly with other studies<sup>17,20,28,29</sup>.

Based on the results and methods used can be concluded that Neo MTA Plus showed satisfactory biological behaviour when in direct contact with rat bone tissue, presenting repair characteristics similar to those produced by MTA Angelus and by the control group.

### **Acknowledgments**

The authors deny any conflict of interest.

## References

1. Torabinejad M, Hong CU, McDonald F et al. Physical and chemical properties of a new root-end filling material. *J Endod* 1995;21:349–53.
2. Parirokh M, Torabinejad M. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review—part I: chemical, physical and antibacterial properties. *J Endod* 2010;36:16–27.
3. Torabinejad M, Parirokh M. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review—part II: leakage and biocompatibility investigations. *J Endod* 2010;36:190–202.
4. Torabinejad M, Higa RK, McKendry DJ et al. Dye leakage of four root end filling materials: effect of blood contamination. *J Endod* 1993;20:159–63.
5. Torabinejad M, Watson TF, Pitt Ford TR. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate when used as a root end filling material. *J Endod* 1993;19:591–5.
6. Guzeler I, Uysal S, Cehreli ZC. Management of trauma-induced inflammatory root resorption using mineral trioxide aggregate obturation: two-year follow up. *Dent Traumatol* 2010;26:501–4.
7. Parirokh M, Torabinejad M. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review—part III: clinical applications, drawbacks, and mechanism of action. *J Endod* 2010;36:400–13.
8. Ioannidis K, Mistakidis I, Beltes P et al. Spectrophotometric analysis of coronal discoloration induced by grey and white MTA. *Int Endod J* 2013;46:137–44.
9. Camilleri J. Color stability of white mineral trioxide aggregate in contact with hypochlorite solution. *J Endod* 2014;40:436–40.
10. Marciano MA, Costa RM, Camilleri J, et al. Assessment of color stability of white mineral trioxide aggregate angelus and bismuth oxide in contact with tooth structure. *J Endod* 2014;40:1235–40.
11. Camilleri J, Formosa L, Damidot D. et al. Setting characteristics of MTA Plus in different environmental conditions. *Int Endod J* 2013;46:831–840.
12. Gandolfi MG, Siboni F, Primus CM et al. Ion release, porosity, solubility, and bioactivity of mta plus tricalcium silicate. *J Endod*. 2014;40:1632-7.
13. Mestieri LB, Gomes-Cornélio AL, Rodrigues EM et al. Biocompatibility and bioactivity of calcium silicate-based endodontic sealers in human dental pulp cells. *J Appl Oral Sci*. 2015;23:467-71.

14. Eid AA, Gosier, JL, Primus, CM et al. In vitro biocompatibility and oxidative stress profiles of different hydraulic calcium silicate cements. *J Endod.* 2014;40:255-60.
15. Camilleri J. Staining potential of Neo MTA Plus, MTA Plus, and Biodentine used for pulpotomy procedures. *J Endod* 2015;41:1139-45.
16. <http://avalonbiomed.com/neomta/> (accessed in 10/21/2016 08:13 am).
17. Assman E et al. Evaluation of Bone Tissue Response to a Sealer Containing Mineral Trioxide Aggregate. *J Endod* 2015;41:62-6.
18. Mittal, M.; Chandra, S.; Chandra, S. Comparative tissue toxicity evaluation of four endodontic sealers. *J. Endod* 1995;21:622-4.
19. Kola, I. Putting the rat on the map. *Nat. Biotechnol.*, 2004.;22:529-531.
20. Rahimi S, Mokhtari H, Shahi S et al. Osseous reaction to implantation of two endodontic cements: Mineral trioxide aggregate (MTA) and calcium enriched mixture (CEM). *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2012;17:907-11.
21. ADA Biological Evaluation of Dental Materials. American Dental Association, New York 1982;41
22. FDI Recommended Standard Practices for the Biological Evaluation of Dental Materials. Federation Dentaire Internationale, London, 1980;9
23. Zmener, O, Banegas, G, Pameijer, CH. Bone tissue response to a methacrylate-based endodontic sealer: a histological and histometric study. *J. Endod.*, 2005;31:457-9.
24. Olsen FK, Austin BP, Walia H. Osseous reaction to implanted ZOE retrograde filling materials in the tibia rats. *J. Endod.*1994;20:389-94.
25. Figueiredo JA, Pesce HF, Gioso MA et al. The histological effects of four endodontic sealers implanted in the oral mucosa: submucous injection versus implant in polyethylene tubes. *Int Endod J.* 2001;34:377-85.
26. Sousa CJ, Loyola AM, Versiani MA et al. A comparative histological evaluation of the biocompatibility of materials used in apical surgery. *Int Endod J.* 2004;37:738-48.
27. Saidon J, He J, Zhu Q et al. Cell and tissue reactions to mineral trioxide aggregate and Portland cement. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2003;95:483-9.

28. Torabinejad M, Ford TR, Abedi HR et al. Tissue reaction to implanted root-end filling materials in the tibia and mandible of guinea pigs. *J Endod* 1998;24:468–71.
29. Zhang W1, Peng B. Tissue reactions after subcutaneous and intraosseous implantation of iRoot SP, MTA and AH Plus. *Dent Mater J*. 2015;34:774-80
30. Rodrigues EM, Cornélio AL, Mestieri, LB et al. Human dental pulp cells response to mineral trioxide aggregate(MTA) and MTA Plus: cytotoxicity and gene expression analysis. *Int Endod J* 2016; epub ahead of print
31. Costa F, Sousa Gomes P, Fernandes MH. Osteogenic and angiogenic response to calcium silicate-based endodontic sealers. *J Endod*. 2016;42:113-9.
32. Gomes-Cornélio AL, Rodrigues EM, Salles LP et al. Bioactivity of MTA Plus, Biodentine and experimental calcium silicate-based cements in human osteoblast-like cells. *Int Endod J*. 2015; epub ahead of print
33. Lee HS, Jung EY, Bae SH et al. Stimulation of osteoblastic differentiation and mineralization in MC3T3-E1 cells by yeast hydrolysate, *Phytother Res*. 2011;25:716-23
34. Holland R, Mazuqueli L, de Souza V, et al. Influence of the type of vehicle and limit of obturation on apical and periapical tissue response in dogs' teeth after root canal filling with mineral trioxide aggregate. *J Endod*. 2007;33:693–697.
35. McNamara RP, Henry MA, Schindler WG et al. Biocompatibility of accelerated mineral trioxide aggregate in a rat model. *J Endod*. 2010;36:1851-5.

## Figure Legends

**Figure 1.** Histologic parameters for bone tissue repair (A) 40X, (a) 100X – MTA Angelus (7 days), score 1: partial closure of the bone defect area by large amount of fibrous connective tissue and few areas of mineralized tissue; (B) 40X, (b) 100X – NeoMTA Plus (7 days), score 2: partial closure of the bone defect area by trabecular bone; (C) 40X, (c) 100X – Control (7 days), score 3: complete closure of the bone defect area by trabecular bone; (D) 40X, (d) 100X – MTA Angelus (30 days), score 4: complete closure of the bone defect area by lamellar bone and few areas of trabecular bone; (E) 40X, (e) 100X – Control (90 days) score 5: complete closure of the defect by lamellar bone.

**Figure 2.** Median, 25 and 75 percentiles of bone tissue repair for control, MTA Angelus and NeoMTA Plus groups. The three groups presented an increased tissue repair comparing the 7 and the 30-days experimental period (\*). Higher scores were also observed from the 7 to the 90 days period for NeoMTA Plus and control groups (\*).



Figure 1

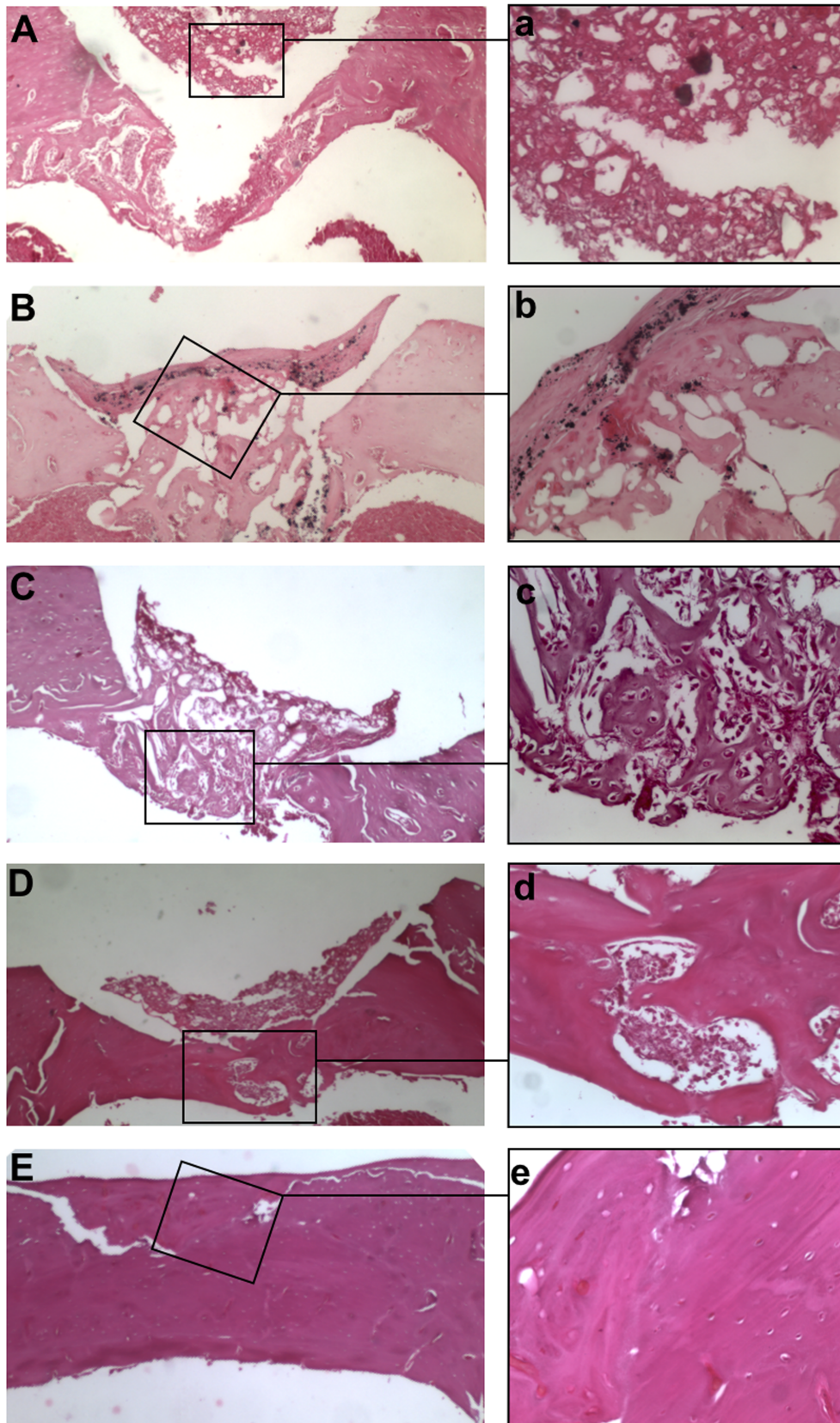
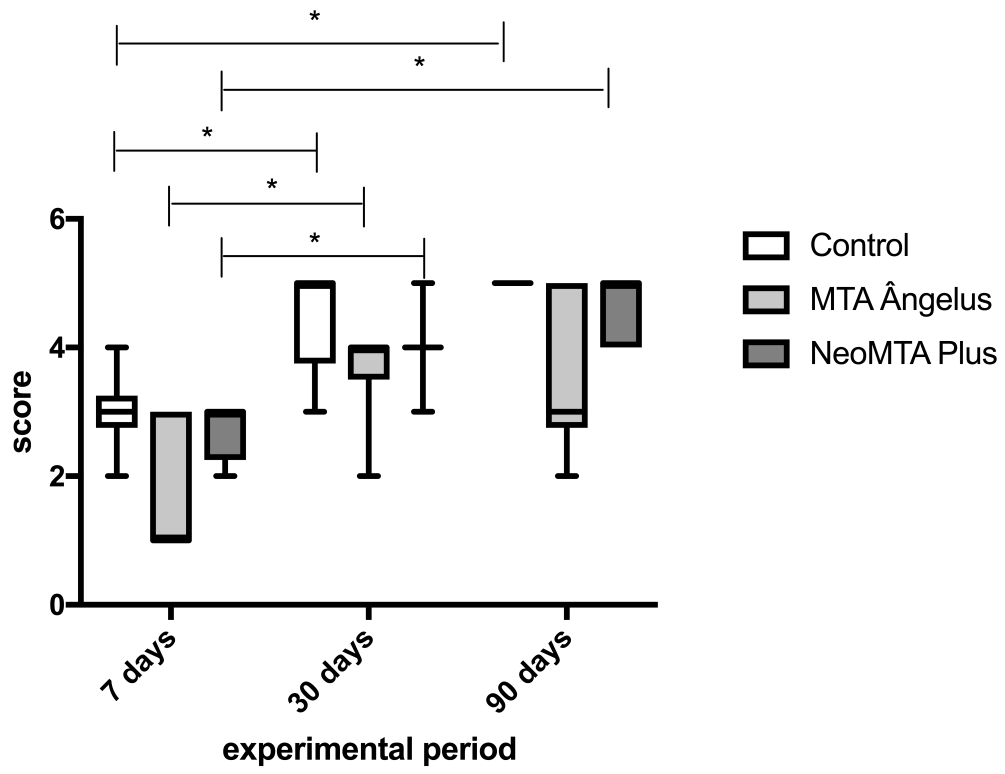


Figure 2



## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O presente estudo confirmou resultados prévios constatando compatibilidade biológica do MTA Angelus em contato com o tecido ósseo. Além disso, foi demonstrado que o NeoMTA Plus apresenta resposta biológica semelhante, sendo considerado, dentro das limitações do presente modelo de estudo, biocompatível. Novos trabalhos envolvendo resposta em tecido conjuntivo, bem como testes que simulam a aplicação clínica em animais e, posteriormente, ensaios clínicos randomizados em humanos são necessários para consolidar o emprego do NeoMTA Plus.

## REFERÊNCIAS

---

- ADA. Biological evaluation of dental materials, **American Dental Association**. New York, v. 41, 1982.
- AQRABAWI, J. Sealing ability of amalgam, super EBA cement, and MTA when used as retrograde filling materials, **Brazilian Dental Journal**, v.188, p.266–268, 2000.
- ASSMAN, E; [BÖTTCHER, D.E.](#); [HOPPE, C.B.](#); [GRECCA, F.S.](#); [KOPPER, P.M.](#) Evaluation of bone tissue response to a sealer containing mineral trioxide aggregate, **Journal of Endodontics** v.41, n.1, p.62-66, 2015
- BATES, C.F.; CARNES, D.L.; DEL RIO, C.E. Longitudinal sealing ability of mineral trioxide aggregate as a root-end filling material, **Journal of Endodontics**, v.22, p.575–578, 1996.
- BORTOLUZZI, E.A.; BROON, N.J.; BRAMANTE, C.M.; FELIPPE, W.T.; TANOMARU FILHO, M.; ESBERARD, R.M. The influence of calcium chloride on the setting time, solubility, disintegration, and pH of mineral trioxide aggregate and white portland cement with a radiopacifier, **Journal of Endodontics**, v.35, p.550-554, 2009.
- BORTOLUZZI, E.A.; BROON, N.J.; BRAMANTE, C.M.; CONSOLARO, A.; GARCIA, R.B.; DE MORAES, I.G.; BERNADINELI, N. Mineral trioxide aggregate with or without calcium chloride in pulpotomy. **Journal of Endodontics**, v.34, p. 172-175, 2008.
- BORTOLUZZI, E.A.; BROON, N.J.; BRAMANTE, C.M.; GARCIA, R.B.; DE MORAES, I.G.; BERNADINELI, N. Sealing ability of MTA and radiopaque portland cement with or without calcium chloride for root-end filling, **Journal of Endodontics** v.32, n.9, p.897-900, 2006.
- CAMILLERI, J.; FORMOSA, L.; DAMIDOT, D. The setting characteristics of MTA Plus in different environmental conditions, **International Endodontic Journal**, v.46, n.9, p.831-840, 2013.
- CAMILLERI, J.; MONTESIN, F.E.; BRADY, K.; SWEENEY, R.; CURTIS, R.V.; PITT FORD, T.R, The constitution of mineral trioxide aggregate, **Dental Materials**, v.21, p.297-303, 2005.
- CAMILLERI J. Color stability of white mineral trioxide aggregate in contact with hypochlorite solution, **Journal of Endodontics**, v.40, p.436-440, 2014.
- CAMILLERI J. Staining potential of Neo MTA Plus, MTA Plus, and Biodentine used for pulpotomy procedures, **Journal of Endodontics**, v.41, n.7, p.1139-1145, 2015.

CHNG H.K., ISLAM I., YAP A.U., TONG Y.W., KOH E.T.. Properties of a new root-end filling material, **Journal of Endodontics**, v.31, n.9, p. 665-668, 2005.

CINTRA L.T., DE MORAES I.G., ESTRADA B.P., GOMES-FILHO J.E., BRAMANTE C.M., GARCIA R.B., BERNARDINELLI N.. Evaluation of the tissue response to MTA and MBPC: microscopic analysis of implants in alveolar bone of rats, **Journal of Endodontics**, v.33, p. 556-559, 2006.

COSTA, F.; SOUSA GOMES, P.; FERNANDES, M.H. Osteogenic and angiogenic response to calcium silicate-based endodontic sealers, **Journal of Endodontics**, v.42, n.1, p. 113-119, 2016.

CRAIG, R.G.; POWERS, J.M. **Materiais dentários restauradores**. 11.ed. São Paulo: Santos, 2004.

DE BRUYNE, M.A.A.; DE BRUYNE, R.J.E.; ROSIERS, L.; DE MOOR, R.J.G. Longitudinal study on microleakage of three root-end filling materials by the fluid transport method and by capillary flow porometry. **International Endodontic Journal**, v.38, p. 129-136, 2005.

EID, A. A.; GOSIER, J. L.; PRIMUS, C. M.; HAMMOND, B. D.; SUSIN, L. F.; PASHLEY, D. G.; TAY, F. R. In vitro biocompatibility and oxidative stress profiles of different hydraulic calcium silicate cements. **Journal of Endodontics**, v.40, n.2, p.255-260, 2014.

ENKEL, B.; DUPAS, C.; ARMENGOL, V.; AKPE ADOU, J.; BOSCO, J.; DACULSI, G.; JEAN, A.; LABOUX, O.; LEGEROS, R.Z.; WEISS, P. Bioactive materials in endodontics. **Expert Rev Med Devices**, v.5, p.475-494, 2008.

FDI, Recommended Standard Practices for the Biological Evaluation of Dental Materials. **Federation Dentaire Internationale**, London, Technical Report no. 9, 1980

FERNANDEZ YANEZ SANCHEZ, A.; LECO-BERROCAL, M.I.; MARTINEZ GONZALEZ, J.M. Metaanalysis of filler materials in periapical surgery. **Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal**, v. 13, p. 180-185, 2008.

FIGUEIREDO, J. A. P.; PESCE, H. F.; GIOSO, M. A.; FIGUEIREDO, M. A. Z. The histological effects of four endodontic sealers implanted in the oral mucosa: submucous injection versus implant in polyethylene tubes. **International Endodontic Journal**, v.34, n.5, p.377-385, 2001.

FORMOSA, L.M.; MALLIA, B.; CAMILLERI, J. A quantitative method for determining the antiwashout characteristics of cement-based dental materials including mineral trioxide aggregate. **International Endodontic Journal**. v.46, p.179–186, 2013.

FORMOSA, L.M.; MALLIA, B.; CAMILLERI, J. Mineral trioxide aggregate with anti-washout gel – Properties and microstructure. **Dental Materials**, v.29 p.294-306, 2013

FORMOSA, L.M.; MALLIA, B.; CAMILLERI, J. Push-out bond strength of MTA with antiwashout gel or resins. **International Endodontic Journal**, v.47, p.454–462, 2014

GANDOLFI, M. G.; SIBONI, F.; PRIMUS, C. M.; PRATI, C. Ion release, porosity, solubility, and bioactivity of MTA Plus tricalcium silicate. **Journal of Endodontics**, v.40, n.10, p.1632-1637, 2014.

GOMES-CORNÉLIO, A.L.; RODRIGUES, E.M.; SALLES, L.P.; MESTIERI, L.B.; FARIA, G.; GUERREIRO-TANOMARU, J.M.; TANOMARU-FILHO, M. Bioactivity of MTA Plus, Biodentine and experimental calcium silicate-based cements in human osteoblast-like cells. . **International Endodontic Journal**, epub ahead of print, 2015.

GOMES-FILHO, J.E.; COSTA, M.T.M.; CINTRA, L.T.A., LODI, C.S.; DUARTE, P.C.T.; NERY, M.J.; CANNON, M. Evaluation of alveolar socket response to Angelus MTA and experimental light-cure MTA. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology**. v.110, n.5, p.93-97, 2010.

GUVEN, Y.; TUNA, E.B.; DINCOL, M.E.; AKTOREN, O. X-ray diffraction analysis of MTA-Plus, MTA-Angelus and DiaRoot BioAggregate. **European Journal of Dentistry**, v.8, n.2, p. 211-215, 2014.

GUZELER, I.; UYSAL, S.; CEHRELI, Z.C.; Management of trauma-induced inflammatory root resorption using mineral trioxide aggregate obturation: two-year follow up. **Dental Traumatology**, v.26, p.501-504, 2010.

HAAPASALO, M.; ENDAL, U.; ZANDI, H.; COIL, J.M. Eradication of endodontic infection by instrumentation and irrigation solutions. **Endodontic Topics**, v.10, p.77-122, 2005.

HANAWA, T. Em: **The bone-biomaterial interface**; Davies, J. E., ed.; University of Toronto Press: Toronto, 1991, cap. 2.

HIREMATH, G.S.; KULKARNI, R.D.; NAIK, B.D. Evaluation of minimal inhibitory concentration of two new materials using tube dilution method: An in vitro study. **Journal of Conservative Dentistry**, v.18, n.2, p. 159-162, 2015.

HOLLAND, R.; DE SOUZA, V.; NERY, M.J.; OTOBONI FILHO, J.A.; BERNABE, P.F.; DEZAN JUNIOR, E. Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tubes filled with mineral trioxide aggregate or calcium hydroxide. **Journal of Endodontics**, v.25, p. 161-166, 1999.

HOLLAND, R.; MAZUQUELI, L.; DE SOUZA, V.; MURATA, S.S.; DEZAN JÚNIOR, E.; SUZUKI, P. Influence of the type of vehicle and limit of obturation on apical and

periapical tissue response in dogs' teeth after root canal filling with mineral trioxide aggregate. **Journal of Endodontics**, v.33, n.6, p. 693-697, 2007.

HOLLAND, R.; SOUZA, V.D.; NERY, M.J.; FARACO JÚNIOR, I.M.; BERNABÉ, P.F.; OTOBONI FILHO, J.A.; DEZAN JÚNIOR, E. Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tubes filled with a white mineral trioxide aggregate. **Brazilian Dental Journal**, v.13, p.23-26, 2002.

<http://avalonbiomed.com/neomta/> (accessed in 10/21/2016 08:13 am)

INGLE, J.I.; BAKLAND, L.K. **Endodontics**. People's Medical Publishing House USA Ltd, 2008

IOANNIDIS, K.; MISTAKIDIS, I.; BELTES, P.; KARAGIANNIS, V. Spectrophotometric analysis of coronal discoloration induced by grey and white MTA. . **International Endodontic Journal**, v.46, p.137-144, 2013.

ISLAM, I.; CHNG, H.K.; YAP, A.U. Comparison of the physical and mechanical properties of MTA and portland cement. **Journal of Endodontics**. v.32, n.3, p.193-197, 2006.

JOHNSON, B.R. Considerations in the selection of a root-end filling material. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology**, v.87, n.4, p.398-404, 1999.

KAKEHASHI, S.; STANLEY, H.R.; FITZGERALD, R.J. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology**, v.20, p.340-349, 1965.

KEISER, K.; JOHNSON, C.C.; TIPTON, D.A. Cytotoxicity of mineral trioxide aggregate using human periodontal ligament fibroblasts. **Journal of Endodontics**, v.26, p.288-291, 2000.

KOGAN, P.; HE, J.; GLICKMAN, G.N.; WATANABE, I. The effects of various additives on setting properties of MTA. **Journal of Endodontics**, v.32, p.259-72. 2006.

KOLA, I. Putting the rat on the map. **Nature Biotechnology**, v.22, n.5, p.529-531, 2004.

LEE, H.S.; JUNG, E.Y.; BAE, S.H.; KNOWN, K.H.; KIM, J.M.; SUH, H.J. Stimulation of osteoblastic differentiation and mineralization in MC3T3-E1 cells by yeast hydrolysate, [Phytotherapy Research](#), v.25, n.5, 716-723, 2011.

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

LEONARDO, M.R.; LEONARDO, RT. **Tratamento de canais radiculares: avanços tecnológicos de uma endodontia minimamente invasiva e reparadora.** São Paulo: Artes Médicas, 2012. 472p.

MAIN, C.; MIRZAYAN, N.; SHABAHANG, S.; TORABINEJAD, M. Repair of Root Perforations Using Mineral Trioxide Aggregate: A Long-term Study. **Journal of Endodontics**, v.30, n.2, p.80-83, 2004.

MARCIANO, M. A; GUIMARÃES, M. M; AMOROSO-SILVA, P; CAMILLERI, J; DUARTE, M. A. H. Physical and chemical properties and subcutaneous implantation of mineral trioxide aggregate mixed with propylene glycol. **Journal of Endodontics**, v.42, n.3, p.474-479, 2016.

MCNAMARA, R.P.; HENRY, M.A.; SCHINDLER, W.G.; HARGREAVES, K.M. Biocompatibility of accelerated mineral trioxide aggregate in a rat model. **Journal of Endodontics**.v.36, n.11, p.1851-1855, 2010.

MESTIERI, L.B.; GOMES-CORNÉLIO, A.L.; RODRIGUES, E.M.; SALLES, L.P.; BOSSO-MARTELO, R.; GUERREIRO-TANOMARU, J.M.; TANOMARU-FILHO, M. Biocompatibility and bioactivity of calcium silicate-based endodontic sealers in human dental pulp cells. **Journal of Applied Oral Science**. v.23, n.5, p.467-471, 2015.

MITTAL, M.; CHANDRA, S.; CHANDRA, S. Comparative tissue toxicity evaluation of four endodontic sealers. **Journal of Endodontics**, v.21, n.12, p.622-624, 1995.

MÜLLER, A.J.R.; FABRICIUS, L.; DAHLEN, G.; OHRNAN, A.; HEYDEN, G. Influence of periapical tissues of indigenous oral bacterial and necrotic pulp tissue in monkeys. **Scandinavian Journal of Dental Research**. v.89, p.475-484, 1981.

NAKATA, T.T.; BAE, K.S.; BAUMGARTNER, J.C. Perforation repair comparing mineral trioxide aggregate and amalgam using an anaerobic bacterial leakage model. **Journal of Endodontics**. v.24, n.3, p.184-186, 1998.

NICHOLLS, E. Treatment of Traumatic Perforations of the Pulp Cavity, **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology**. v.15, p.603-612, 1962.

OLSEN, F.K.; AUSTIN, B.P.; WALIA, H. Osseous reaction to implanted ZOE retrograde filling materials in the tibia rats. **Journal of Endodontics**. v.20, n.8, p. 389-94, 1994.

PARIROKH, M.; TORABINEJAD, M. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review-Part III: Clinical applications,drawbacks, and mechanism of action. **Journal of Endodontics**, v. 36, n. 3, p. 400-413, 2010b.

PARIROKH, M.; TORABINEJAD, M. Mineral trioxide aggregate: a Comprehensive Literature Review part I: Chemical, Physical and Antibacterial properties. **Journal of Endodontics**, v. 36, n. 1, p. 16-27, 2010a.

PRIMUS, C. Dental material. Patent US 7,892,342 B2, 2011. (MTA PLUS)



RAHIMI, S.; MOKHTARI, H.; SHAHI, S.; KAZEMI, A.; ASGARY, S.; EGHBAL, M.J.; MESGARIABBASI, M.; MOHAJERI, D. Osseous reaction to implantation of two endodontic cements: Mineral trioxide aggregate (MTA) and calcium enriched mixture (CEM). **Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal**. v.17,n.5, p.907-911, 2012.

RODRIGUES, E.M.; CORNÉLIO, A.L.; MESTIERI, L.B.; FUENTES, A.S.; SALLES, L.P.; ROSSA-JUNIOR, C.; FARIA, G.; GUERREIRO-TANOMARU, J.M.; TANOMARU-FILHO, M. Human dental pulp cells response to mineral trioxide aggregate(MTA) and MTA Plus: cytotoxicity and gene expression analysis. . **International Endodontic Journal**. doi: 10.1111/iej.12683. [Epub ahead of print] 2016

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

SAIDON, J.; HE, J.; ZHU, Q.; SAFAVI K.; SPÅNGBERG, L.S. Cell and tissue reactions to mineral trioxide aggregate and Portland cement. , **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology**. v.95, n.4, p.483-489, 2003.

SARKAR, N.K.; CAICEDO, R.; RITWIK, P.; MOISEYEVA, R.; KAWASHIMA, I. Physicochemical basis of the biologic properties of mineral trioxide aggregate. **Journal of Endodontics**. v.31, n.2, p.97-100, 2005.

SAUNDERS, W.P.; SAUNDERS, E.M. Coronal leakage as a cause of failure in root-canal therapy: a review. **Endodontic Dental Traumatology**. v.10, p.105-108, 1994.

SCARPARO, R.K.; GRECCA, F.S.; FACHIN, E.V. Analysis of tissue reactions to methacrylate resin-based, epoxy resin-based, and zinc oxide-eugenol endodontic sealers. **Journal of Endodontics**. v.35, n.2, p.229-232, 2009.

SELTZER, S.; SINAI, I.; AUGUST, D. Periodontal effects of root perforations before and during endodontic procedures. **Journal of Dental Research** v.49, p. 332-339, 1970.

SINAI, I.H. Endodontic perforations: their prognosis and treatment. **Journal of American Dental Association**. v.95, p.90-95, 1977.

SOARES,, I.J.; GOLDBERG, F. **Endodontia: técnicas e fundamentos**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2011. 524p

SOUSA, C.J.; LOYOLA, A.M.; VERSIANI, M.A.; BIFFI, J.C.; OLIVEIRA, R.P.; PASCON, E.A. A comparative histological evaluation of the biocompatibility of materials used in apical surgery. **International Endodontic Journal**. v.37, n.11, p.738-748, 2004.

STORM, B.; EICHMILLER, F.C.; TORDIK, P.; GOODELL, G.G. Setting expansion of gray and White mineral trioxide aggregate and Portland cement. **Journal of Endodontics**, v.34, p.80-82, 2008.

SUMER, M.; MUGLALI, M.; BODRUMLU, E.; GUVENC, T. Reactions of connective tissue to amalgam, intermediate restorative material, mineral trioxide aggregate, and mineral trioxide aggregate mixed with chlorhexidine. **Journal of Endodontics**. v.32, p.1094-1096, 2006.

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

TORABINEJAD, M.; FORD, T.R.; ABEDI, H.R.; KARIYAWASAM, S.P.; TANG, H.M. Tissue reaction to implanted root-end filling materials in the tibia and mandible of guinea pigs. **Journal of Endodontics**. v.24, p.468-471, 1998.

TORABINEJAD, M.; HIGA, R.K.; MCKENDRY, D.J.; PITT FORD, T.R. Dye leakage of four root end filling materials: effect of blood contamination. **Journal of Endodontics**. v.20, p.159-163, 1993.

TORABINEJAD, M.; HONG, C.U.; MCDONALD, F.; PITT FORD, T.R. Physical and chemical properties of a new root-end filling material. **Journal of Endodontics**. v.21, p.349-353, 1995.

TORABINEJAD, M.; HONG, C.U.; PITT FORD, T.R.; KETTERING, J.D. Cytotoxicity of four root end filling materials. **Journal of Endodontics**. v.21, p.489-92, 1995.

TORABINEJAD, M.; PARIROKH, M. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review—part II: leakage and biocompatibility investigations. **Journal of Endodontics**. v.36, p.190-202, 2010.

TORABINEJAD, M.; SMITH, P.W.; KETTERING, J.D.; PITT FORD, T.R. Comparative investigation of marginal adaptation of mineral trioxide aggregate and other commonly used root- end filling materials. **Journal of Endodontics**. v.21, p.295-299, 1995.

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

TRAN, D.; HE, J.; GLICKMAN, G. N.; WOODMANSEY, K. F. Comparative analysis of calcium silicate–based root filling materials using an open apex model. **Journal of Endodontics**, v.42, n.4, p.654-658, 2016

WALSH, R.M.; WOODMANSEY, K.F.; GLICKMAN, G.N.; HE, J. Evaluation of Compressive strength of hydraulic silicate-based root-end filling materials. **Journal of Endodontics**. v.40, n.7, p.969-972, 2014.

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

YALTIRIK, M.; OZBAS, H.; BILGIC, B.; ISSEVER, H. Reactions of connective tissue to mineral trioxide aggregate and amalgam. **Journal of Endodontics**, v.30, n.2, p.95-99, 2004.

YASUDA, Y.; OGAWA, M.; ARAKAWA, T.; KADOWAKI, T.; SAITO, T. The effect of mineral trioxide aggregate on the mineralization ability of rat dental pulp cells: an in vitro study. **Journal of Endodontics**, v.34, p.1057-1060, 2008.

ZHANG, W.; PENG, B. Tissue reactions after subcutaneous and intraosseous implantation of iRoot SP, MTA and AH Plus. **Dental Materials**. v.34, n.6, p.774-780, 2015.

ZMENER, O.; GUGLIELMOTTI, M. B.; CABRINI, R. L. Biocompatibility of two calcium hydroxide-based endodontic sealers: a quantitative study in the subcutaneous connective tissue of the rat. **Journal of Endodontics**, v.14, n.5, p.229-235, 1988.

## ANEXO 1 – Carta de aprovação no CEUA



**U F R G S**  
UNIVERSIDADE FEDERAL  
DO RIO GRANDE DO SUL

**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA**

Comissão De Ética No Uso De Animais



**CARTA DE APROVAÇÃO**

**Comissão De Ética No Uso De Animais analisou o projeto:**

**Número:** 30488

**Título:** ANÁLISE COMPARATIVA DA RESPOSTA DO TECIDO OSSEO DE RATOS FRENTE AO IMPLANTE DE UM NOVO CIMENTO QUE CONTEM SILICATO TRICALCICO

**Vigência:** 04/01/2016 à 04/01/2019

**Pesquisadores:**

**Equipe UFRGS:**

PATRICIA MARIA POLI KOPPER MORA - coordenador desde 04/01/2016  
FABIANA SOARES GRECCA VILELLA - pesquisador desde 04/01/2016  
RAMIRO MARTINS QUINTANA - Aluno de Mestrado desde 04/01/2016  
ALEXANDER POMPERMAYER JARDINE - Aluno de Mestrado desde 04/01/2016

**Comissão De Ética No Uso De Animais aprovou o projeto de pesquisa 30488 intitulado "Análise comparativa da resposta do tecido ósseo de ratos frente ao implante de um novo cimento que contém silicato tricálcico", em reunião realizada em 25/04/2016 - Sala 330 do Anexo 1 da Reitoria - Campus Centro - Porto Alegre - RS, em seus aspectos éticos e metodológicos, para a utilização de 24 ratos fêmeas (Wistar) pesando entre 200 e 250 gramas, com 8 semanas de idade, provenientes do CREAL UFRGS, de acordo com os preceitos das Diretrizes e Normas Nacionais e Internacionais, especialmente a Lei 11.794 de 08 de novembro de 2008, o Decreto 6899 de 15 de julho de 2009, e as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), que disciplinam a produção, manutenção e/ou utilização de animais do filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) em atividade de ensino ou pesquisa. O período de execução do projeto está previsto para janeiro de 2016 a janeiro de 2019.**

Porto Alegre, Quinta-Feira, 28 de Abril de 2016

MARCELO MELLER ALIEVI  
Coordenador da comissão de ética

## CIP - Catalogação na Publicação

Quintana, Ramiro Martins  
ANÁLISE COMPARATIVA DA RESPOSTA DO TECIDO ÓSSEO DE  
RATOS FRENTE AO IMPLANTE DE UM NOVO CIMENTO QUE  
CONTÉM SILICATO TRICÁLCICO / Ramiro Martins  
Quintana. -- 2016.  
36 f.

Orientador: Patrícia Maria Poli Kopper Móra.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Odontologia,  
Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Porto  
Alegre, BR-RS, 2016.

1. biocompatibilidade. 2. reparadores  
endodônticos. 3. endodontia. 4. NeoMTA Plus. 5.  
Tecido ósseo. I. Poli Kopper Móra, Patrícia Maria,  
orient. II. Título.