

ANÁLISE MICROTOMOGRÁFICA DA MINERALIZAÇÃO INDUZIDA POR CIMENTOS BIOCERÂMICOS REPARADORES APÓS PULPOTOMIA

Data de submissão: 15/03/2024

Data de aceite: 02/05/2024

Carlos Roberto Emerenciano Bueno

Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Odontologia de Araçatuba.
Araçatuba – São Paulo
<https://orcid.org/0000-0002-1897-2823>

Diego Valentim

Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Odontologia de Araçatuba.
Araçatuba – São Paulo
<http://lattes.cnpq.br/7874659721151582>

Ana Maria Veiga Vasques

Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Odontologia de Araçatuba.
Araçatuba – São Paulo
<https://orcid.org/0000-0002-1211-2363>

Ana Cláudia Rodrigues da Silva

Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Odontologia de Araçatuba.
Araçatuba – São Paulo
<https://orcid.org/0000-0002-7570-6126>

Francine Benetti

Universidade Federal de Minas Gerais,
Faculdade de Odontologia.
Belo Horizonte – Minas Gerais
<https://orcid.org/0000-0002-5459-353X>

Marco Antônio Húngaro Duarte

Universidade de São Paulo, Faculdade de
Odontologia de Bauru
Bauru – São Paulo
<https://orcid.org/0000-0003-3051-737X>

Luciano Tavares Angelo Cintra

Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Odontologia de Araçatuba.
Araçatuba – São Paulo
<https://orcid.org/0000-0003-2348-7846>

Eloi Dezan-Júnior

Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Odontologia de Araçatuba.
Araçatuba – São Paulo
<https://orcid.org/0000-0002-5699-6578>

RESUMO: O objetivo deste estudo foi avaliar a capacidade de mineralização do Biodentine e MTA Angelus Branco, quando comparados ao hidróxido de cálcio. Trinta e seis ratos Wistar foram submetidos à pulpotomia dos primeiros molares inferiores direito e esquerdo (n=6). Após anestesia, o acesso à câmara pulpar foi realizado com broca carbide em alta rotação com auxílio de microscópio operatório, seguido do corte da polpa, realizado com uma cureta adaptada. Após a remoção da polpa

coronária, a câmara pulpar foi irrigada com solução salina até hemostasia. O capeamento pulpar foi realizado com Biodentine, MTA Angelus Branco ou pasta de hidróxido de cálcio com veículo aquoso e a coroa restaurada com ionômero de vidro. A análise microtomográfica (SKY SCAN 1174) foi realizada após 7, 15 e 30 dias, onde foram realizados cortes longitudinais e transversais para mensuração da maior área de tecido mineralizado observado na luz do canal distal, por meio do software CTan. Após a obtenção das áreas, os valores foram tabulados e submetidos ao teste estatístico ANOVA e Tukey, com um nível de significância de 5%. Os resultados obtidos mostraram que o Biodentine induziu em média a formação de $0,656 \mu\text{m}^2$ aos 7 dias, $0,705 \mu\text{m}^2$ aos 15 dias e $0,675 \mu\text{m}^2$ aos 30 dias. O hidróxido de cálcio induziu $0,383 \mu\text{m}^2$, $0,556 \mu\text{m}^2$ e $0,533 \mu\text{m}^2$ aos 7, 15 e 30 dias, respectivamente. O MTA Angelus Branco induziu $0,269 \mu\text{m}^2$ aos 7 dias, $0,205 \mu\text{m}^2$ após 15 dias e $0,410 \mu\text{m}^2$ ao final do período experimental. Todos os materiais formaram ponte de tecido biomineralizado. O Biodentine induziu a maior formação de mineralização seguido do hidróxido de cálcio e MTA, podendo ser considerado uma alternativa ao MTA ou hidróxido de cálcio em casos de pulpotomia.

PALAVRAS-CHAVE: Biomineralização; Endodontia; Microtomografia por Raio-X; Pulpotomia

MICROTOMOGRAPHIC ANALYSIS OF MINERALIZATION INDUCED BY BIOCERAMIC REPAIR CEMENTS AFTER PULPOTOMY

ABSTRACT: The aim of this study was to evaluate the mineralization ability of Biodentine and Angelus White MTA when compared to calcium hydroxide. Thirty-six Wistar rats underwent pulpotomy of the lower right and left first molars ($n=6$). After anesthesia, access to the pulp chamber was performed with a carbide bur at high speed with the aid of an operating microscope, followed by pulp removal, performed with an adapted curette. After removing the coronary pulp, the pulp chamber was irrigated with saline solution until hemostasis. Pulp capping was performed with Biodentine, Angelus White MTA or calcium hydroxide paste with aqueous vehicle and the crown was restored with glass ionomer. Microtomographic analysis (SKY SCAN 1174) was performed after 7, 15 and 30 days, where longitudinal and transversal sections were made to measure the largest area of mineralized tissue observed in the distal canal lumen, using the CTan software. After obtaining the areas, the values were tabulated and submitted to the ANOVA and Tukey statistical tests, with a significance level of 5%. The results obtained showed that Biodentine induced on average the formation of $0.656 \mu\text{m}^2$ at 7 days, $0.705 \mu\text{m}^2$ at 15 days and $0.675 \mu\text{m}^2$ at 30 days. Calcium hydroxide induced $0.383 \mu\text{m}^2$, $0.556 \mu\text{m}^2$ and $0.533 \mu\text{m}^2$ at 7, 15 and 30 days, respectively. Angelus White MTA induced $0.269 \mu\text{m}^2$ at 7 days, $0.205 \mu\text{m}^2$ after 15 days and $0.410 \mu\text{m}^2$ at the end of the experimental period. All materials induced the formation of a biomineralized hard tissue bridge. Biodentine induced the largest mineralization area followed by calcium hydroxide and MTA, and can be considered an alternative to MTA or calcium hydroxide in cases of pulpotomy.

KEYWORDS: Biomineralization; Endodontics; Pulpotomy; X-Ray Microtomography.

INTRODUÇÃO

A manutenção da saúde pulpar frente a lesões cariosas, traumáticas ou iatrogênicas continua a ser um desafio e é de primordial importância, especialmente em dentes imaturos permanentes onde a vitalidade pulpar permite a conclusão da formação da raiz (Edwards et al. 2021).

Quando a exposição da polpa ocorre como resultado de cáries profundas, trauma, danos mecânicos, nos casos de lesões pulpares reversíveis, em dentes em desenvolvimento ou maduros, o capeamento pulpar direto e indireto são formas de preservar a vitalidade pulpar via a formação da ponte de dentina. Durante a formação da dentina, células da polpa dentária (DPCs) sofrem proliferação e diferenciação em células odontoblásticas que secretam proteínas da matriz dentinária que induzem a mineralização da dentina (Alex 2018, Edwards et al. 2021).

Diversos materiais são utilizados em terapia conservadora na qual o tecido pulpar encontra-se com vitalidade, sendo o prognóstico do tratamento dependente de fatores como biocompatibilidade (Bueno et al. 2016, Valentim et al. 2021a) e capacidade de prevenir infiltração bacteriana por deposição de tecido mineralizado (Bueno et al. 2019), além do resultado também depender da capacidade de resposta da polpa frente à agressão (Komabayashi et al. 2016, Valentim et al. 2021b).

O material ideal para ser utilizado na proteção do complexo dentino-pulpar deve ser biocompatível (Komabayashi et al. 2016, Valentim et al. 2021b). O hidróxido de cálcio $[Ca(OH)_2]$ é altamente recomendado devido à sua biocompatibilidade e indução da formação de ponte de tecido duro como agente de proteção pulpar (Brizuela et al. 2017), além de aproximadamente 75% dos tratamentos realizados com o hidróxido de cálcio ocorrer a formação total de uma ponte de tecido duro protegendo a polpa vital e não inflamada (Auschill et al. 2003). No entanto, outros estudos sugerem que a infiltração e a porosidade podem ocorrer devido a sua elevada solubilidade em água, o que poderia levar ao fracasso do capeamento pulpar (Schuurs et al., 2000; Al-Hezaimi et al., 2011). Em seu mecanismo de ação, o hidróxido de cálcio destrói uma fina camada do tecido pulpar subjacente, deixando uma camada necrótica devido ao seu pH elevado (Goldberg et al. 2015).

Estudos tem mostrado que o agregado de trióxido mineral (MTA) pode ser empregado como alternativa ao $Ca(OH)_2$ para tratamento de injúrias pulpares, estimulando a formação de pontes de dentina mais rápido que o $Ca(OH)_2$ (Faraco et al., 2001, Aeinehchi et al. 2003, Accorinte et al., 2008; Min et al., 2008; Eskandarizadeh et al., 2011).

O MTA é um material bioativo, biocompatível, antibacteriano, estável e de alta capacidade de vedação (Iwamoto et al., 2006, Nair et al., 2008; Zarrabi et al., 2010, Ramezanali et al. 2017, Bueno et al. 2019). Entretanto, o MTA é difícil de ser manipulado, seu tempo de presa é longo, possui custos elevados e pode causar pigmentação do elemento dental (Parirokh & Torabinejad, 2010).

Outro material no mercado é o Biodentine (Septodont, Saint Maur des Fossés, FR) um cimento à base de silicato de cálcio com propriedades mecânicas semelhantes à da dentina podendo ser utilizado como um substituto da dentina na coroa e tem seu uso similar ao do MTA no canal radicular (Laurent et al., 2012; Zanini et al., 2012; Koubi et al., 2013; Raskin et al., 2012, Tran et al., 2012, Brizuela et al. 2017). Estudos *in vitro* mostraram que em contato com as células da polpa vital tem um efeito positivo estimulando a formação de dentina terciária (Laurent et al., 2012; Zanini et al., 2012; Peng et al., 2011). Ao contrário do MTA, o Biodentine apresenta fácil manipulação e inserção, aplicado diretamente na cavidade sem qualquer condicionamento (Laurent et al., 2012; Koubi et al., 2013).

A tomografia micro-computadorizada (microCT) tem sido muito utilizada nos últimos anos para análise dos procedimentos endodônticos sejam eles estudos anatômicos, de modelagem, obturação e retratamentos do sistema de canais radiculares (Versiani & Keleş 2020). Devido à sua alta resolução, a microCT tem se mostrado eficaz para análises quantitativas e qualitativas *in vivo* e *ex vivo*. (Swain e Xue, 2009, Versiani & Keleş 2020).

Visando o tratamento conservador e a manutenção da vitalidade pulpar, o objetivo deste estudo foi avaliar a capacidade de formação da ponte de tecido duro do Biodentine e MTA Angelus Branco comparados ao hidróxido de cálcio após pulpotomia em molares de ratos através da microtomografia computadorizada. A hipótese nula adotada é que os cimentos biocerâmicos Biodentine e MTA Angelus Branco não induziriam a formação da ponte de tecido duro após pulpotomia, através da análise em microCT.

METODOLOGIA

Animais

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animal (CEUA) da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, (FOA/UNESP, Processo 00452/2014).

O cálculo amostral foi baseado em estudos prévios (Chicarelli et al., 2021, Valentim et al. 2021b): considerando um poder de análise de 0.80, diferença mínima entre as médias de 0.22 e desvio padrão do erro médio de 0.11, mostrou um mínimo amostral de seis (n=6) por grupo experimental.

Foram utilizados 36 ratos machos (*Rattus albinus*, *Wistar*), pesando aproximadamente 250g, provenientes do biotério da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP. Os animais foram mantidos em gaiolas, tipo mini isoladores com quatro ratos, e alimentados durante todo o período experimental com dieta sólida e água *ad libitum*, com temperatura controlada oscilando entre 22 e 24°C, e ciclo de luz controlada (12 horas claro/12 horas escuro).

Pulpotomia

Os animais foram divididos em 4 grupos experimentais: Biodentine, MTA Branco Angelus, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ e grupo controle sem material capeador (apenas selamento). Para cada um dos quatro grupos experimentais, três ratos foram alocados para cada período de tempo (7, 15 e 30 dias). Em cada animal, os dois primeiros molares inferiores (direito e esquerdo) foram utilizados, configurando 6 amostras por material/período experimental.

Previamente à pulpotomia, os animais foram anestesiados com cloridrato de Xilazina 2% (25mg/kg) e Ketamina 10% (50mg/kg), via intramuscular, seguida da antisepsia dos primeiros molares inferiores com 3% de peróxido de hidrogênio e 0,2% de gluconato de clorexidina. O acesso foi realizado com uma broca carbide esférica de 1mm de diâmetro em alta rotação, com auxílio de microscópio operatório, sob constante irrigação com soro fisiológico estéril para evitar a deterioração pelo calor. Após a remoção do teto da câmara pulpar, foi feita a remoção do tecido pulpar com uma cureta de dentina nº 5 (Dentsply Maillefer) modificada para que coubesse no interior da câmara pulpar, permitindo a curetagem. A remoção do tecido pulpar foi realizada até que fossem visualizadas as embocaduras dos canais radiculares. O sangramento foi controlado com irrigação de soro fisiológico e utilização de bolinhas de algodão estéril. O tecido pulpar remanescente na entrada dos canais radiculares foi capeado com os grupos: Biodentine, MTA Angelus, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (veículo água destilada), ou deixado sem material capeador (apenas selado). As cavidades foram posteriormente seladas com cimento de ionômero de vidro quimicamente ativado (Fuji IX, GC, Tokyo, JP).

Decorrido o período pré-determinado de 7, 15 e 30 dias após a pulpotomia, os animais foram eutanasiados por injeção intraperitoneal de Tiopental 30 mg/kg de peso corpóreo (Thiopentax, Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda, Paulínia, SP, Brazil). Após observada morte clínica dos animais, as mandíbulas foram removidas, reduzidas e separadas em direita e esquerda, e colocadas imediatamente em frascos individuais identificados contendo solução de formalina a 10% tamponada com pH neutro por 48 horas. Na sequência foi realizado o escaneamento microtomográfico das peças.

Tomografia Micro Computadorizada (Micro-CT)

A área da ponte de dentina formada no canal distal foi avaliada usando imagens da Micro-CT. Cada espécime foi colocado em microtubos eppendorf contendo formol 10% e foram escaneados usando um computador de mesa acoplado ao microtomógrafo (SkyScan 1174; SkyScan, Kontich, Belgium). O processo de escaneamento procedeu-se utilizando 50kV de voltagem e $800\mu\text{A}$. Uma amostra foi digitalizada por vez. Os parâmetros de captura de imagem utilizados foram: tamanho do voxel de $16.1\mu\text{m}$ com 0.5° de rotação por imagem capturada num total de 180° . Foram obtidas 367 imagens com 652×652 pixels. Em seguida os dados foram inseridos em software para reconstrução das imagens (NRecon v1.6.4.8, SkyScan) e CTan (CTan v1.11.10.0, SkyScan) para a mensuração das áreas de mineralização.

Após observação em cortes longitudinais para localizar altura de ponte de tecido mineralizado no canal distal, cortes transversais (axiais) foram utilizados para medir a maior área (μm^2) de tecido mineralizado na luz do canal distal (Figura 1).

Análise estatística

Os valores da área encontrada foram submetidos ao teste estatístico ANOVA e teste de Tukey, com nível de significância de 5%. Para aplicação dos testes, foi utilizado o software SigmaPlot V 12.1 (Systat Software, San Jose, CA USA).

RESULTADOS

Aos 7, 15 e 30 dias o Biodentine mostrou maior área mineralizada em relação ao MTA Branco ($p < 0.05$), entretanto se mostrou semelhante ao $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Este por sua vez aos 15 dias mostrou maior área mineralizada em relação ao MTA Angelus Branco. (Figura 1, Gráfico 1).

Após 7 dias o Biodentine induziu em média a formação de $0,656 \mu\text{m}^2$ de tecido duro, na área da secção analisada da luz do canal. Aos 15 dias $0,705 \mu\text{m}^2$ e aos 30 dias $0,675 \mu\text{m}^2$. O hidróxido de cálcio induziu aos 7 dias $0,383 \mu\text{m}^2$, $0,556 \mu\text{m}^2$ após 15 dias e $0,533 \mu\text{m}^2$ aos 30 dias. O MTA Angelus Branco induziu $0,269 \mu\text{m}^2$ aos 7 dias, $0,205 \mu\text{m}^2$ após 15 dias e $0,410 \mu\text{m}^2$ ao final do período experimental (Tabela 1).



Figura 1. Cortes transversais (axiais) e longitudinais das imagens de micro tomografia computadorizada, mostrando a formação da ponte de tecido de tecido duro no canal distal. *Setas vermelhas indicam a área mineralizada.

Grupo	7 dias	15 dias	30 dias
Biodentine	0,656 ^a	0,705 ^a	0,675 ^a
Ca(OH) ₂	0,383 ^{ab}	0,556 ^a	0,533 ^{ab}
MTA Angelus Branco	0,269 ^b	0,205 ^b	0,410 ^b

Tabela 1. Média da área de formação da ponte de tecido duro na luz do canal distal. Letras iguais indicam não haver diferença estatística (P<0.05)

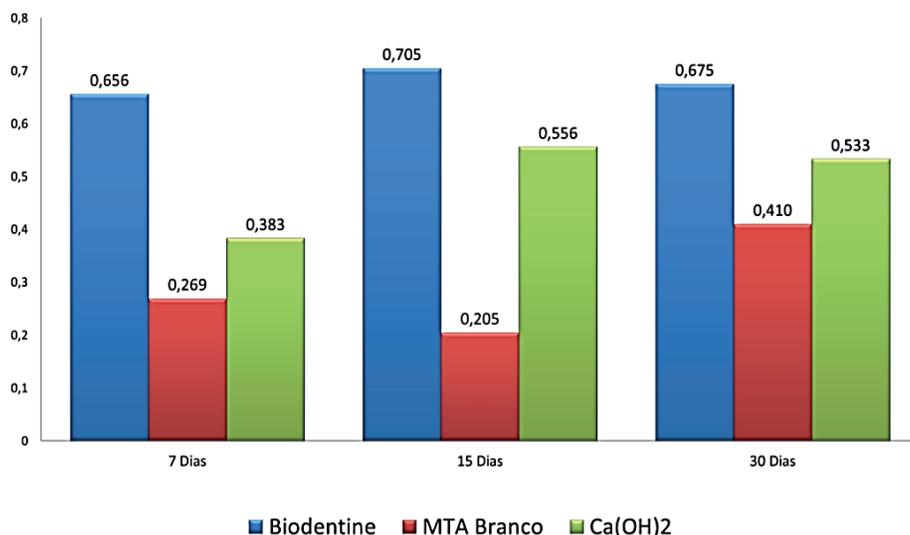


Gráfico 1. Representação gráfica da média da área de formação da ponte de tecido duro.

DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou a presença de ponte de tecido duro após pulpotomia, por meio da microCT, em canais distais de primeiros molares inferiores de ratos. Ambos os cimentos biocerâmicos testados induziram a formação de tecido biomineralizado, rejeitando a hipótese nula.

O uso de microCT possibilita uma visão tridimensional de um mesmo espécime, diferentemente de estudos histológicos, que apesar de serem padrão ouro para visualização da ponte de tecido duro, não torna possível a análise de secções diferentes em um mesmo espécime. (Maret et al., 2010; Maret et al., 2014; Scarfe et al., 2006; Nowicka et al., 2015). O modelo animal escolhido foi rato *Wistar*, previamente utilizado em diversas pesquisas odontológicas, seja em investigações sistêmicas como ratos diabéticos (Bueno et al. 2021) e hipertensos (Martins et al. 2016) ou locais, como análise subcutânea (Bueno et al. 2016, Bueno et al. 2018, Valentim et al. 2021a, Bueno et al. 2023a, Bueno et al. 2023b). A metodologia de pulpotomia em molares de ratos utilizada no presente estudo também foi previamente utilizado na literatura (Lima et al., 2011; Minic et al., 2021, Valentim et al. 2021b).

O hidróxido de cálcio tem sido comumente utilizado para capeamento pulpar direto (Edwards et al. 2021). No presente trabalho, pode-se notar que juntamente com o Biodentine, obteve-se uma maior área de mineralização em relação ao MTA Branco, aos 15 dias. Entretanto aos 7 e 30 dias não houve diferença entre o Ca(OH)_2 e o MTA Branco. Nowicka et al., 2015 obteve resultados semelhantes avaliando o volume de mineralização formada pelo Biodentine, MTA, Ca(OH)_2 e o Single Bond, em dentes humanos, após 45 dias, onde obteve que a melhor ponte de dentina formada com maior volume e homogeneidade foi a promovida pelo Biodentine e MTA, não tendo diferença em relação ao Ca(OH)_2 , mas sim em relação ao Single Bond Universal.

No presente estudo o Biodentine obteve a maior área de mineralização com diferença significativa em relação ao MTA Branco, em todos os tempos experimentais ($p < 0,05$). O que difere de Nowicka et al., 2015, que mostrou que os dois materiais não apresentam diferença quanto ao seu volume. Essa divergência de resultados pode ser devido ao tempo experimental, já que no presente estudo foram realizados 3 períodos mais curtos de tempo (7, 15, 30 dias) enquanto o outro estudo foi realizado em um período de 6 semanas.

Corroborando nossos achados, Brizuela et al. (2017) mostraram resultados clínicos de pulpotomia utilizando Biodentine, MTA e hidróxido de cálcio. Os autores relataram que após 6 meses de controle pós-pulpotomia, houve 1 falha no tratamento no grupo hidróxido de cálcio e 3 no grupo MTA. Contudo, ao final do controle de 1 ano, não houve diferença estatística entre os materiais no sucesso do tratamento.

Valentim et al. (2021b) realizaram o capeamento pulpar com o Biodentine para avaliar inflamação e formação de tecido duro em coloração HE, e visualizaram a ocorrência da formação da ponte de dentina e baixa reação inflamatória, assim como na utilização do MTA e concluíram que possui eficácia semelhante ao MTA na prática clínica e pode ser considerado uma alternativa interessante para o capeamento pulpar direto.

Salako et al., 2003 e Hadeer et al., 2004 mostraram que o MTA Cinza e o MTA Branco formam por completo sua ponte a partir dos 28 dias, pois aos 14 dias o MTA Branco possui um início de mineralização. Apesar destes outros 2 artigos serem análises histológicas o resultado do presente estudo está de acordo, visto que aos 15 dias o MTA Branco possuía menor área de mineralização em relação a ele mesmo aos 30 dias, apesar de não ser significativo, foi notado a crescente no percentual da área ocupada pela ponte de dentina na luz do canal, podendo em períodos maiores a chegar a completa formação da ponte de tecido duro, o que também é relatado em casos onde a preservação vai além dos 30 dias (Eidelman et al., 2001, Holan et al., 2005).

A escolha da metodologia por análise via micro-CT, foi devido ao fato que os exames tomográficos produzem imagens a partir de secção da estrutura de interesse e possuem vantagens básicas em relação às radiografias convencionais: apresenta imagem tridimensional em uma sequência de cortes finos, ausência de sobreposição e possui sensibilidade precisa na identificação de tecidos, permitindo aumento de brilho, nitidez,

realce de bordos e contraste (Patel et al. 2007, Versiani & Keleş 2020). Em ratos *Wistar*, o uso de microCT foi previamente utilizado para avaliar perda óssea periodontal (Bueno et al. 2021), lesão periapical (Cosme-Silva et al. 2020) ou reparo pós pulpotomia (Osuga et al. 2006).

Os achados evidenciaram a formação da ponte de tecido duro dos cimentos biocerâmicos testados, indicando seu uso clínico para pulpotomia. Porém é importante ressaltar as limitações metodológicas que influenciam as correlações com pulpotomias em humanos. O tamanho dos dentes de ratos *Wistar* e o acesso coronário dificultam a visualização, manipulação e inserção dos cimentos sobre o remanescente pulpar, assim como o selamento e cuidados pós-operatórios, ao passo que dentes humanos permitem um melhor acesso e preparo cavitário. Portanto, deve-se correlacionar os presentes resultados com pesquisas clínicas.

CONCLUSÃO

Os três materiais se mostraram eficientes para proteção do remanescente pulpar, uma vez que apresentaram capacidade de formar ponte de tecido duro. Na presente metodologia, o Biodentine induziu maior área de tecido mineralizado nos períodos analisados.

AGRADECIMENTOS

Este estudo teve apoio FAPESP (processo nº 2014/03134-0).

REFERÊNCIAS

ACCORINTE, M.L.; LOGUERCIO, A.D.; REIS, A.; *et al.* Response of human dental pulp capped with MTA and calcium hydroxide powder. *Oper Dent*;33:488–95, 2008.

AEINEHCHI, M.; ESLAMI, B.; GHANBARIHA, M.; SAFFAR, A.S. Mineral trioxide aggregate (MTA) and calcium hydroxide as pulp-capping agents in human teeth: a preliminary report. *Int Endod J.* Mar;36(3):225-31. 2003. doi: 10.1046/j.1365-2591.2003.00652.x.

AGAMY, H.A.; BAKRY, N.S.; MOUNIR, M.M.; AVERY, D.R. Comparison of mineral trioxide aggregate and formocresol as pulp-capping agents in pulpotomized primary teeth. *Pediatr Dent.* Jul-Aug;26(4):302-9, 2004.

AI-HEZAIMI, K.; AI-TAYAR, B.A.; BAJUAIFER, Y.S.; *et al.* A hybrid approach to direct pulp capping by using emdogain with a capping material. *J Endod*;37:667–72, 2011.

ALEX, G. Direct and Indirect Pulp Capping: A Brief History, Material Innovations, and Clinical Case Report. *Compend Contin Educ Dent.* Mar;39(3):182-189, 2018.

AUSCHILL, T.M.; ARWEILER, N.B.; HELLWIG, E.; ZAMANI-ALAEI, A.; SCULEAN, A. Erfolgsrate der direkten Pulpaüberkappung mit Kalziumhydroxid [Success rate of direct pulp capping with calcium hydroxide]. *Schweiz Monatsschr Zahnmed*;113(9):946-52. German, 2003.

BRIZUELA, C.; ORMEÑO, A.; CABRERA, C.; *et al.* Direct Pulp Capping with Calcium Hydroxide, Mineral Trioxide Aggregate, and Biodentine in Permanent Young Teeth with Caries: A Randomized Clinical Trial. *J Endod.* Nov;43(11):1776-1780, 2017. doi: 10.1016/j.joen.2017.06.031

BUENO, C.R.E.; BENETTI, F.; CURY, M.T.S.; VASQUES, A.M.V.; COSME-SILVA, L.; *et al.* Biological investigation of resinous endodontic sealers containing calcium hydroxide. *PLoS One.* Jul 17;18(7):e0287890. 2023a. doi: 10.1371/journal.pone.0287890.

BUENO, C.R.E.; SARMIENTO, J.L.; VASQUES, A.M.V.; DA SILVA, A.C.R.; CINTRA, L.T.A.; SANTOS, J.M.M.; DEZAN-JÚNIOR, E. Biocompatibility, Biomineralization and Induction of Collagen Maturation with the Use of Calcium Hydroxide and Iodoform Intracanal Dressing. *J Funct Biomater.* 2023b; 14(10):507. <https://doi.org/10.3390/jfb14100507>

BUENO, C.R.E.; VALENTIM, D.; JARDIM-JUNIOR, É.G.; *et al.* Tissue reaction to Aroeira (*Myracrodruon urundeuva*) extracts associated with microorganisms: an in vivo study. *Braz Oral Res.* May 24;32:e42. 2018. doi: 10.1590/1807-3107bor-2018.vol32.0042.

BUENO, C. R. E.; SUMIDA, D. H.; DUARTE, M. A. H.; ORDINOLA-ZAPATA, R.; *et al.* Accuracy of radiographic pixel linear analysis in detecting bone loss in periodontal disease: Study in diabetic rats. *Saudi Dent J*, 1-10. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.sdentj.2021.07.004>

BUENO, C. R. E., VASQUES, A. M. V., CURY, M. T. S., SIVIERI-ARAÚJO, G., JACINTO, R. C., GOMES-FILHO, J. E., CINTRA, L., & DEZAN-JÚNIOR, E. Biocompatibility and biomineralization assessment of mineral trioxide aggregate flow. *Clin Oral Investig*, 23(1), 169–177, 2019.

BUENO, C.R.E.; VALENTIM, D.; MARQUES, V.A.; GOMES-FILHO, J.E.; *et al.* Biocompatibility and Biocompatibility and biomineralization assessment of bioceramic-, epoxy-, and calcium hydroxide-based sealers. *Braz Oral Res*, 30(1), S1806-8324201600, 2016.

CHENG, L.; ZHANG, R.; YU, X.; TIAN, Y.; WANG, H.; ZHENG, G.; HU, T. A comparative analysis of periapical radiography and cone-beam computerized tomography for the evaluation of endodontic obturation length. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* Sep;112(3):383-9. 2011. doi: 10.1016/j.tripleo.2011.04.025.

CHICARELLI, L.; WEBBER, M.; AMORIM, J.; RANGEL, A.; *et al.* Effect of Tricalcium Silicate on Direct Pulp Capping: Experimental Study in Rats. *Eur J Dent*, 15(1), 101-108, 2021.

COSME-SILVA, L.; DAL-FABBRO, R.; CINTRA, L.T.A.; ERVOLINO, E.; PLAZZA, F.; *et al.* Reduced bone resorption and inflammation in apical periodontitis evoked by dietary supplementation with probiotics in rats. *Int Endod J.* Aug;53(8):1084-1092, 2020. doi: 10.1111/iej.13311.

EDWARDS, D.; STONE, S.; BAILEY, O.; TOMSON, P. Preserving pulp vitality: part one - strategies for managing deep caries in permanent teeth. *Br Dent J.* Jan;230(2):77-82. 2021. doi: 10.1038/s41415-020-2590-7. Epub 2021 Jan 22.

EIDELMAN, E.; HOLAN, G.; FUKS, A.B. Mineral trioxide aggregate vs. formocresol in pulpotomized primary molars: a preliminary report. *Pediatr Dent*;23: 15-18, 2001.

ESKANDARIZADEH, A.; SHAHPASANDZADEH, M.H.; SHAHPASANDZADEH, M.; *et al.* A comparative study on dental pulp response to calcium hydroxide, white and grey mineral trioxide aggregate as pulp capping agents. *J Conserv Dent*;14:351–5, 2011.

- FARACO, I.M.; HOLLAND, R. Response of the pulp of dogs to capping with mineral trioxide aggregate or a calcium hydroxide cement. *Dent Traumatol*;17: 163–6, 2001.
- GOLDBERG, M.; NJEH, A.; UZUNOGLU, E. Is Pulp Inflammation a Prerequisite for Pulp Healing and Regeneration?. *Mediators Inflamm*, 347649, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/347649>
- HOLAN, G.; EIDELMAN, E.; FUKS, A.B. Long-term Evaluation of pulpotomy in primary molars using mineral trioxide aggregate or formocresol. *Pediatr Dent*; 27:2;129-129-136, 2005.
- IWAMOTO, C.E.; ADACHI, E.; PAMEIJER, C.H.; BARNES, D.; ROMBERG, E.E.; JEFFERIES, S. Clinical and histological evaluation of white ProRoot MTA in direct pulp capping. *Am J Dent*. Apr;19(2):85-90, 2006.
- KOMABAYASHI, T.; ZHU, Q.; EBERHART, R.; IMAI, Y. Current status of direct pulp-capping materials for permanent teeth. *Dent Mater J.*;35(1):1-12. doi: 10.4012/dmj.2015-013, 2016.
- KOUBI, G.; COLON, P.; FRANQUIN, J.C.; *et al.* Clinical evaluation of the performance and safety of a new dentine substitute, Biodentine, in the restoration of posterior teeth: a prospective study. *Clin Oral Investig*;17:243–9, 2013.
- LAURENT, P.; CAMPS, J.; ABOUT, I. Biodentine induces TGF- β 1 release from human pulp cells and early dental pulp mineralization. *Int Endod J*. May;45(5):439-48, 2012
- MARET, D.; MOLINIER, F.; BRAGA, J. *et al.* Accuracy of 3D reconstructions based on one beam computed tomography. *J Dent Res*;89:1465–9, 2010.
- MARET, D.; PETERS, O.A.; GALIBOURG, A. *et al.* Comparison of the accuracy of 3-dimensional cone-beam computed tomography and micro-computed tomography reconstructions by using different voxel sizes. *J Endod*;40:1321–6, 2014.
- MARTINS, C.M.; SASAKI, H.; HIRAI, K.; ANDRADA, A.C.; GOMES-FILHO, J. E. Relationship between hypertension and periapical lesion: an in vitro and in vivo study. *Braz Oral Res*, 30(1), e78, 2016.
- MEDINA, V.O.3RD.; SHINKAI, K.; SHIRONO, M. *et al.* Histopathologic study on pulp response to single-bottle and self-etching adhesive systems. *Oper Dent*;27:330–42, 2002.
- MIN, K.S.; PARK, H.J.; LEE, S.K. *et al.* Effect of mineral trioxide aggregate on dentin bridge formation and expression of dentin sialoprotein and heme oxygenase-1 in human dental pulp. *J Endod*;34:666–70, 2008.
- NAIR, P.N.; DUNCAN, H.F.; PITT FORD, T.R.; LUDER, H.U. Histological, ultrastructural and quantitative investigations on the response of healthy human pulps to experimental capping with mineral trioxide aggregate: a randomized controlled trial. *Int Endod J*. Feb;41(2):128-50, 2008. doi: 10.1111/j.1365-2591.2007.01329.x.
- OSUGA, N.; YANG, J.; YAMAKAWA, Y.; NINOMIYA, T.; ARAI, Y.; RAORAO, W.; IWASAKI, H.; MIYAZAWA, H. Micro-CT observation of rat dental pulp healing after pulpotomy in in vivo study. *Pediatr Dent J*, 16, 132-137, 2006.
- PARANJPE, A.; ZHANG, H.; JOHNSON, J.D. Effects of mineral trioxide aggregate on human dental pulp cells after pulp-capping procedures. *J Endod*;36:1042–7, 2010.

- PARIROKH, M.; TORABINEJAD, M. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review--Part III: Clinical applications, drawbacks, and mechanism of action. *J Endod.* Mar;36(3):400-13, 2010. doi: 10.1016/j.joen.2009.09.009.
- PATEL, S.; DAWOOD, A.; FORD, T.P.; WHAITES, E. The potential applications of cone beam computed tomography in the management of endodontic problems. *Int Endod J*;40:818-30, 2007.
- PENG, W.; LIU, W.; ZHAI, W. *et al.* Effect of tricalcium silicate on the proliferation and odontogenic differentiation of human dental pulp cells. *J Endod*;37: 1260–6, 2011.
- RAMEZANALI, F.; ARYANEZHAD, S.; MOHAMMADIAN, F.; DIBAJI, F.; KHARAZIFARD, M.J. In Vitro Microleakage of Mineral Trioxide Aggregate, Calcium-Enriched Mixture Cement and Biodentine Intra-Orifice Barriers. *Iran Endod J.* Spring;12(2):211-215, 2017. doi: 10.22037/iej.2017.41.
- RASKIN, A.; ESCHRICH, G.; DEJOU, J.; ABOUT, I. In vitro microleakage of Biodentine as a dentin substitute compared to Fuji II LC in cervical lining restorations. *J Adhes Dent*;14:535–42, 2012.
- SALAKO, N.; JOSEPH, B.; RITWIK, P.; SALONEM, J.; JOHN, P.; JUNAID, T.A. Comparasion of bioactive glass, mineral trioxide aggregate, ferric sulfate, and formocresol as pulpotomy agents in rat molar. *Dent Traumatol*;19:314-320, 2003.
- SCARFE, W.C.; FARMAN, A.G.; SUKOVIC, P. Clinical applications of cone-beam computed tomography in dental practice. *J Can Dent Assoc*;72:75–80, 2006.
- SCHUURS, A.H.; GRUYTHUYSEN, R.J.; WESSELINK, P.R. Pulp capping with adhesive resin-based composite vs. calcium hydroxide: a review. *Endod Dent Traumatol.* Dec;16(6):240-50, 2000. doi: 10.1034/j.1600-9657.2000.016006240.x.
- SWAIN, M.V.; XUE, J. State of the art of Micro-CT applications in dental research. *Int J Oral Sci.* Dec;1(4):177-88, 2009. doi: 10.4248/IJOS09031.
- TRAN, X.V.; GORIN, C.; WILLIG, C. *et al.* Effect of a calcium-silicate-based restorative cement on pulp repair. *J Dent Res*;91:1166–71, 2012.
- VALENTIM, D.; BUENO, C.R.E.; MARQUES, V.A.S.; BENETTI, F.; *et al.* Avaliação da biocompatibilidade de cimentos reparadores biocerâmicos: Estudo in vivo em ratos wistar. *Res Soc Dev*, 10(7), 1-10, 2021a.
- VALENTIM, D.; BUENO, C.R.E.; VASQUES, A.M.V.; BENETTI, F. *et al.* Avaliação inflamatória e imunohistoquímica de materiais reparadores biocerâmicos após pulpotomia: estudo em ratos wistar. *Res Soc Dev*, 10(10), 2021b. e424101018480. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i10.18480>
- VERSIANI, M.A.; KELEŞ, A. Applications of Micro-CT Technology in Endodontics. In: Orkhan K (eds) *Micro-computed Tomography (micro-CT) in Medicine and Engineering.* Springer, Cham, 2020. https://doi.org/10.1007/978-3-030-16641-0_12.
- WITHERSPOON, D.E. Vital pulp therapy with new materials: new directions and treatment perspectives—permanent teeth. *J Endod*;34(Suppl):S25–8, 2008.
- ZANINI, M.; SAUTIER, J.M.; BERDAL, A.; SIMON, S. Biodentine induces immortalized murine pulp cell differentiation into odontoblast-like cells and stimulates biomineralization. *J Endod*;38:1220–6, 2012.
- ZARRABI, M.H.; JAVIDI, M.; JAFARIAN, A.H.; JOUSHAN, B. Histologic assessment of human pulp response to capping with mineral trioxide aggregate and a novel endodontic cement. *J Endod*;36:1778–81, 2010.