



**CATÓLICA**  
FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA

---

VISEU

# **AVALIAÇÃO DO POTENCIAL OSTEOGÉNICO DE CIMENTOS BIOCERÂMICOS**

Dissertação apresentada à Universidade Católica Portuguesa  
para obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Por:  
Ana Isabel Flores Oliveira

Viseu, 2023





**CATÓLICA**  
FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA

---

VISEU

# **AVALIAÇÃO DO POTENCIAL OSTEOGÉNICO DE CIMENTOS BIOCERÂMICOS**

Dissertação apresentada à Universidade Católica Portuguesa  
para obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Por:  
Ana Isabel Flores Oliveira

Orientador: Professor Doutor Miguel Cardoso  
Coorientador: Professora Doutora Ana Sofia Duarte  
Coorientador: Professora Doutora Rita Noites

Viseu, 2023



“O homem não teria alcançado o possível se,  
repetidas vezes, não tivesse tentado o impossível.”

**Max Weber**



*Dedico aos meus pais e irmãos*



## **AGRADECIMENTOS**

Neste campo pretendo agradecer a todas as pessoas que acompanharam o meu percurso universitário, e, que de uma forma ou de outra me apoiaram neste período.

Em primeiro lugar, agradeço ao meu orientador, Professor Doutor Miguel Cardoso, pela disponibilidade e por toda a sabedoria que me transmitiu no desenvolver da tese como também ao longo do meu percurso académico.

Em segundo lugar, agradeço à minha co-orientadora Professora Doutora Ana Sofia Duarte pelo conhecimento transmitido na área da biologia e pela disponibilidade.

Aos meus pais, Isabel e Carlos, por apoiarem sempre as minhas decisões e pelo apoio que foi fundamental para o meu progresso académico e crescimento enquanto pessoa.

Aos meus irmãos Carlos e Daniel pela inspiração e motivação.

À minha binómia e amiga Lúcia pela lealdade e pelo conhecimento partilhado.

Aos meus amigos com especial agradecimento ao Rúben pela amizade, companheirismo e incentivo ao longo destes cinco anos que de alguma forma me inspirou.

A todos os funcionários da Universidade Católica Portuguesa e a todas as pessoas que de forma direta ou indireta fizeram parte deste meu trajeto e me ajudaram a superá-lo.



## RESUMO

**INTRODUÇÃO:** Os cimentos de obturação à base de silicato de cálcio têm sido estudados como alternativa à utilização de cimentos de obturação convencionais, uma vez que visam a indução da osteogênese, sendo uma alternativa mais favorável para a prática clínica. Neste estudo, o objetivo principal é analisar a evidência de forma sistemática sobre a avaliação do potencial osteogénico dos cimentos de obturação baseados em silicato de cálcio para que estes materiais sejam utilizados de forma mais segura nos tratamentos endodônticos na prática clínica.

**MATERIAIS E MÉTODOS:** A pesquisa foi realizada nas plataformas Pubmed/MEDLINE, Web of Science e Scopus, foram definidos termos Mesh. De seguida, realizou-se a seleção dos artigos através de critérios de inclusão e exclusão. Os termos MeSH foram interligados com os operadores booleanos AND e OR.

**RESULTADOS:** Foram selecionados 9 artigos neste estudo de revisão sistemática. Foram estudadas várias marcas de cimentos biocerâmicos (iRoot SP, MTA Fillapex, BioRoot RCS, EndoSequence BCS, ProRoot ESS, Endoseal MTA, Nishika Canal Sealer BG, Nano-ceramic Sealer, Wellroot ST) e vários cimentos convencionais (Sealapex, Apatite Root Sealer, Pulp Canal Sealer, Roth Sealer e AH-Plus) utilizando diferentes meios de cultura.

**CONCLUSÃO:** Os cimentos biocerâmicos são uma boa alternativa aos cimentos convencionais, uma vez que apresentam melhor potencial osteogénico que os cimentos convencionais. No entanto, é necessário confirmar estes resultados através da realização de estudos clínicos.

**Palavras-chave:** Cimentos biocerâmicos, formação de osso, expressão génica.



## **ABSTRACT**

**INTRODUCTION:** Calcium silicate-based sealers have been studied as an alternative to the use of conventional sealers because they aim to induce osteogenesis and to be a more favorable alternative for clinical practice. In this study, the main objective is to systematically analyze the evidence on the evaluation of the osteogenic potential of sealers based on calcium silicate so that we can use these materials more safely in clinical practice.

**MATERIALS AND METHODS:** The research was carried out on Pubmed/MEDLINE, Web of Science and Scopus platforms, Mesh terms were defined. Then, the articles were selected using inclusion and exclusion criteria. The MeSH terms were linked with the Boolean operators AND and OR.

**RESULTS:** Nine articles were selected in this systematic review study. Several brands of bioceramic sealers (iRoot SP, MTA Fillapex, BioRoot RCS, EndoSequence BCS, ProRoot ESS, Endoseal MTA, Nishika Canal Sealer BG, Nano-ceramic Sealer, Wellroot ST) and several conventional cements (Sealapex, Apatite Root Sealer, Pulp Canal Sealer, Roth Sealer and AH-Plus) using different culture media.

**CONCLUSION:** Bioceramic sealers are a good alternative to conventional sealers, as they have better osteogenic potential than conventional sealers. However, it is necessary to confirm these results by carrying out clinical studies.

**KEY WORDS:** Bioceramic sealers, bone formation, gene expression



## ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS.....	XV
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. TRATAMENTO ENDODÔNTICO RADICAL.....	2
1.2. CIMENTOS ENDODÔNTICOS.....	3
1.3. OSTEOGÊNESE.....	5
1.4. MÉTODOS MOLECULARES PARA AVALIAÇÃO DE DIFERENCIAÇÃO OSTEOGÊNICA.....	6
1.5. POTENCIAL OSTEOGÊNICO DOS CIMENTOS BIOCERÂMICOS..	7
2. OBJETIVOS.....	11
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	13
3.1. AVALIAÇÃO DO POTENCIAL OSTEOGÊNICO DE CIMENTOS BIOCERÂMICOS-REVISÃO SISTEMÁTICA.....	14
3.1.1. Questão PICO.....	14
3.1.2. Estratégia de Pesquisa.....	14
3.1.3. Critérios de inclusão e exclusão.....	15
3.1.4. Organização e análise dos dados.....	15
4. RESULTADOS.....	17
4.1. RESULTADOS DA PESQUISA.....	18
4.2. CARACTERÍSTICAS DOS ESTUDOS.....	19
4.3. PRINCIPAIS CONCLUSÕES.....	32
5. DISCUSSÃO.....	34
6. CONCLUSÃO.....	42
7. BIBLIOGRAFIA.....	44
8. ANEXO.....	48

## ÍNDICE DE TABELA

Tabela 1 - Metodologia de pesquisa. ....	14
Tabela 2 - Caracterização dos artigos selecionados.....	19
Tabela 3 – Identificação dos modelos celulares e do tipo cimentos avaliados..	22
Tabela 4 – Identificação dos métodos moleculares utilizados para avaliação da expressão gênica .....	25
Tabela 5 - Caracterização dos genes avaliados.....	27
Tabela 6 - Caracterização da atividade de ALP .....	29
Tabela 7 - Caracterização das proteínas expressas por ELISA.....	30
Tabela 8 - Principais conclusões dos artigos selecionados .....	32

## ÍNDICE DE IMAGENS

Figura 1 - Fluxograma do processo de seleção dos artigos usando o PRISMA.....	18
Figura 2 – Modelos celulares usados estudos selecionados.....	23
Figura 3 - Cimentos biocerâmicos usados nos estudos selecionados.....	24
Figura 4 - Cimentos convencionais usados nos estudos selecionados.....	24
Figura 5 - Diferentes métodos moleculares usados nos estudos selecionados.....	26
Figura 6 - Expressão de genes na osteogênese pelo método molecular qRT-PCR usados nos estudos selecionados.....	28
Figura 7 - Expressão de genes na resposta inflamatória pelo método molecular qRT -PCR usados nos estudos selecionados.....	28
Figura 8 - Expressão de proteínas na osteogênese e na resposta inflamatória.....	31

## LISTA DE ABREVIATURAS

**ALP** - *alkaline phosphatase* (fosfatase alcalina)

**ARS** - *Apatite root sealer* (cimento apatite de raiz)

**BMP** - *Bone Morphogenic Protein* (proteína morfogenética óssea)

**BSP** - *Bone Sialoprotein* (Sialoproteína Óssea)

**COL1** - Colagénio tipo 1

**ELISA** - *Enzyme-linked immunosorbent assay*

**hDPCs** - *Human dental pulp cells* (células de polpa dentária humana)

**hSCAPs** - *Human stem cells from apical papilla* (células estaminais humanas da papila apical)

**hTGSCs** - *Human tooth germ stem cells* (células estaminais germinativas de dentes humanos)

**IGF** - *Insulin-like Growth Factor* (fator de crescimento semelhante à insulina)

**MTA** - *Mineral trioxide aggregate* (agregado de trióxido mineral)

**OBL** - Osteoblastos humanos primários

**OCN** - *Osteocalcin* (Osteocalcina)

**ON** - *Osteonectin* (Osteonectina)

**OPG** - *Osteoprotegerin* (Osteoprotegerina)

**OPN** - *Osteopontin* (Osteopontina)

**OSX** - *Osterix*

**PDGF** - *Platelet-derived growth factor* (Fator de crescimento derivado de plaquetas)

**qRT-PCR** - *Quantitative real time polymerase chain reaction*

**RANKL** - *Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand* (O ativador do recetor do ligante do fator nuclear kappa-B)

**Runx2** - *Runt related transcription factors 2* (Fator de transcrição 2 relacionado a runt)

**TER** - Tratamento Endodôntico Radical

**TGF- $\beta$**  - *Transforming Growth Factor-Beta* (Fator de transformação do crescimento beta)



## **1. INTRODUÇÃO**

A perda de dentes é um problema que continua a afetar a população portuguesa. De acordo com o Barómetro de Saúde Oral de 2022 da Ordem dos Médicos Dentistas, quase 70% da população portuguesa tem falta de dentes naturais. A área da endodontia visa a manutenção dos elementos dentários que se encontram comprometidos na polpa e nos tecidos periapicais, evitando a proliferação de microrganismos, e, conseqüentemente, a perda da peça dentária (1).

Os materiais, utilizados no tratamento endodôntico, encontram-se constantemente em evolução, especialmente devido à introdução de novos cimentos no mercado. Estes apresentam biocompatibilidade e propriedades que potenciam a natural regeneração dos tecidos dentários e periapicais do elemento dentário. Neste sentido, é necessário clarificar na literatura o potencial osteogénico dos cimentos biocerâmicos utilizados na obturação (2,3).

### 1.1. TRATAMENTO ENDODÔNTICO RADICAL

O tratamento endodôntico radical (TER) consiste na desinfeção e obturação dos canais principais e acessórios do dente, prevenindo a proliferação de microrganismos entre os canais do dente e o tecido periapical (4).

Segundo a Sociedade Europeia de Endodontia, o tratamento endodôntico é indicado quando existe uma polpa necrosada ou um dano irreversível com ou sem sintomas clínicos ou radiográficos ou procedimentos restauradores que podem levar à exposição pulpar. TER é contraindicado quando: i) não é possível restaurar o dente, ii) existe pouco suporte periodontal, iii) o paciente não colaborante e/ou iv) apresenta uma má condição oral que não permite a recuperação num período razoável (5).

Para o médico dentista obter um sucesso endodôntico é necessária a ausência de sinais e sintomas clínicos, radiográficos e histológicos. No insucesso endodôntico, o clínico pode observar sinais radiográficos, lesão periradicular sem alterações, diminuição da lesão apical, mas que não desapareceu totalmente, aparecimento de uma nova lesão apical ou o aumento da lesão inicial e descontinuidade/pobre definição da lamina dura (4).

O tratamento endodôntico envolve vários procedimentos, nomeadamente, várias radiografias, anestesia local, preparação do dente, isolamento do dente,

preparação da cavidade de acesso, determinação do comprimento de trabalho, preparação canalar, irrigação, medicação intra-canal e obturação do sistema canalar (5).

Contudo, apenas 86-98% dos TERs apresentam sucesso. Um bom selamento em todo o sistema canalar é essencial para que os microrganismos não proliferem e formem uma resposta inflamatória no tecido periapical. Muitas vezes, estamos perante lesões perirradiculares, onde temos a presença de microrganismos e ausência de osso. Os materiais obturadores estão em estreito contacto com os tecidos perirradiculares. Desta forma, usar na prática clínica um cimento que apresente uma boa capacidade de selamento, boa biocompatibilidade e boa capacidade de regeneração de tecidos é essencial para alcançarmos um bom prognóstico (6,7).

## 1.2. CIMENTOS ENDODÔNTICOS

Os cimentos endodônticos são usados na prática clínica como uma pasta fina que apresenta a função de agente cimentador e de lubrificante do canal, permitindo a fixação dos cones de gutta-percha ou outros materiais rígidos (8).

Estes materiais são utilizados entre a dentina e o cone de gutta-percha promovendo o preenchimento canalar, quer seja nas irregularidades anatómicas ou em canais acessórios ou onde o cone da obturação não se consegue inserir (8,9).

Idealmente, o material selador deve apresentar as seguintes propriedades: i) alcançar um selamento hermético; ii) ser pegajoso e adesivo à dentina, ao cone de obturação e à parede canalar; iii) conter pós finos; iv) apresentar radiopacidade; v) ser dimensionalmente estável com alterações limitadas antes e depois da fixação; vi) apresentar uma cor estável; vii) ser bacteriostático ou bactericida; viii) apresentar uma presa lenta o suficiente para o médico dentista realizar todo o procedimento de obturação; ix) ser insolúvel em fluidos teciduais; x) ser biocompatível; não mutagénico; xi) não sensibilizante e não apresentar citotoxicidade após a presa; xii) ser de fácil remoção para retratamento por meios químicos ou mecânicos, e por último, xiii) ser bioativo, estimulando a formação de hidroxiapatite em contacto com fluidos corporais (8).

Segundo a literatura, os cimentos podem ser classificados de acordo com sua composição baseada na reação de presa e composição, nomeadamente, à

base de óxido de zinco e eugenol, ácidos gordos, ionómero de vidro, silicone, resina, silicato de cálcio e hidróxido de cálcio (8).

Os cimentos de óxido de zinco eugenol são constituídos por um pó à base de óxido de zinco e por um líquido formado por eugenol, estes dois reagentes quando misturados formam um gel amorfo. Ao longo da sua história, estes cimentos foram sofrendo algumas alterações na sua composição para ultrapassar questões relacionadas com a toxicidade dos compostos metálicos. Atualmente, são dos seladores mais conhecidos devido às suas propriedades de presa lenta, fácil manuseio e propriedades antibacterianas (8).

Os cimentos de hidróxido de cálcio apresentam algumas propriedades vantajosas: antimicrobiano e alcalino. Porém, não endurecem e são solúveis em água (8).

Os seladores à base de ácidos gordos foram desenvolvidos para substituir o eugenol que apresenta alguma toxicidade aos tecidos. Porém, a sua composição metálica é menos definida (8).

Os cimentos à base de ionómero de vidro são constituídos por pó de vidro de silicato e ácidos poliacrílicos. O ionómero de vidro liberta flúor. Estes são usados como cimentos de obturação, reparadores e como materiais de restauração (8).

Os cimentos endodônticos à base de silicone são formados por composto de polimetilvenilsiloxano platina de sal e polimetilhidrogensiloxano (8).

Os cimentos resinosos são formados por resina epóxi e aminas. Durante a sua reação de presa há a formação de um polímero através da reação dos grupos das resinas epóxi com as aminas. São os cimentos de obturação mais utilizados na europa. No entanto, quando os compostos epóxi não reagem totalmente na reação de presa apresentam um potencial mutagénico (8).

Os cimentos à base de silicato de cálcio apresentam bioatividade e são capazes de formar hidroxiapatite. Esta nova geração de cimentos promove uma boa resposta tecidual devido à sua bioatividade através da libertação de iões de cálcio na reação de presa (8).

Na prática clínica, escolher o selador indicado, contribui para o sucesso a longo prazo (8).

O material selador do canal encontra-se constantemente em contacto com tecidos periapicais através do contacto direto, onde existe a extrusão do cimento

pelo ápice radicular para os tecidos periapicais ou o contacto indireto pela difusão do cimento que se encontra tridimensionalmente dentro do canal do dente. Desta forma, para obtermos uma melhor regeneração dos tecidos periapicais é de interesse clínico que o cimento seja biocompatível e bioativo (10,11).

### 1.3. OSTEOGÉNESE

O osso é constituído por células osteoblásticas, osteoclásticas, osteócitos e pelas células de revestimento ósseo. Estas apresentam ações coordenadas que têm a capacidade de formar osso (12).

A formação do osso divide-se em: (13)

- Produção da matriz osteoide;
  - Maturação da matriz osteoide;
  - Mineralização da matriz osteoide.

A matriz óssea é produzida pelos osteoblastos. Os osteoblastos são células de origem mesenquimal especializadas na formação de osso. Estas células expressam genes específicos determinantes de cada fase da formação óssea (12,14).

Na diferenciação osteoblástica, os osteoblastos progenitores expressam *RUNX2* e *COL1*(12).

O *RUNX2* é considerado por vários investigadores o gene principal da diferenciação osteoblástica. Este gene tem a capacidade de ativar genes que codificam proteínas da matriz óssea, como a *COL I*, *ALP*, *BSP*, *OCN* e *OPN*. Devido à expressão de *ALP* os osteoblastos passam a se denominar pré-osteoblastos(12,15,16).

De seguida, os osteoblastos são considerados maduros quando há o aumento de expressão de *OSX* e a secreção de BMPs como *OCN*, *BSP I*, *BSP II*, *COL I* (12).

Na maturação da matriz óssea os osteoblastos secretam proteínas colagénicas e não colagénicas, nomeadamente: *OCN*, *ON*, *BSP II* e *OPN* (12).

Na mineralização da matriz óssea, há a libertação de iões de cálcio e de fosfato através de vários mecanismos por ação dos osteoblastos. Desta forma, os iões fosfato e de cálcio nucleiam e formam os cristais de hidroxiapatite. Ainda

na fase de mineralização, os cristais de hidroxiapatite espalham-se por toda a matriz. A mineralização da matriz continua até que a matriz osteoide fique totalmente mineralizada (12,13).

Os osteócitos são derivados da linhagem de MSCs. No final de cada ciclo de formação óssea, uma subpopulação de osteoblastos maduros transforma-se em osteócitos incorporados na matriz mineralizada através de alterações morfológicas e estruturais, provocando a diminuição de síntese e secreção de proteínas. Deste modo, há o aumento da expressão de marcadores osteócitos como DMP1 e a diminuição de expressão de marcadores osteoblásticos. Os osteócitos têm a capacidade de se conectarem entre si, através dos seus prolongamentos citoplasmáticos. Além disto, também se interligam com os prolongamentos citoplasmáticos de osteoblastos e com as células de revestimento ósseo na superfície óssea. Além disto, os osteócitos têm a capacidade de produzir prostaglandinas (PGE2 e PGI2) (12,17).

Osteoclastos são células encarregues pela reabsorção de osso (14).

Na literatura é descrito que as células de revestimento ósseo são células que têm como função prevenir a interação entre os osteoclastos e a matriz óssea, bem como participar na diferenciação osteoclástica, havendo a expressão de OPG e RANKL (12).

#### 1.4. MÉTODOS MOLECULARES PARA AVALIAÇÃO DE DIFERENCIAÇÃO OSTEOGÉNICA

Para avaliar a diferenciação osteogénica existem vários tipos de métodos. No princípio utilizavam-se métodos qualitativos que consistiam na avaliação dos constituintes da matriz extracelular, através da aplicação de corantes que se ligavam a estes componentes. A atividade da (ALP) fosfatase alcalina também foi muito utilizada, no entanto, estes métodos dependem da visualização e da objetividade do investigador, tornando-os limitados. Na atualidade, novos métodos mais rigorosos e sensíveis foram implementados para a deteção da osteogénese. A análise da expressão génica é uma abordagem importante para avaliar a diferenciação osteogénica. A técnica mais utilizada é a reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR), que permite quantificar a expressão de genes específicos relacionados à osteogénese, como RUNX2,

COL1A1 e ALP (18) Alternativamente, as técnicas de Western blotting, Imunocitoquímica e ELISA permitem a detecção e quantificação de proteínas específicas de uma amostra. Podem ser utilizadas para analisar a expressão de proteínas relacionadas à diferenciação osteogênica, como RUNX2, OCN, OPN e outros marcadores de osteogênese (17–19).

## 1.5. POTENCIAL OSTEOGÊNICO DOS CIMENTOS BIOCERÂMICOS

Os materiais à base de cerâmica são os materiais mais recentemente introduzidos em endodontia. Nos anos de 1960 e 1970, os materiais à base de cerâmica foram desenvolvidos principalmente na medicina para uso cirúrgico, no sentido de mimetizar articulações, preencher defeitos ósseos cirúrgicos, aumentar o rebordo alveolar e reparar as perfurações do seio maxilar. Apenas mais tarde, se desenvolveram na medicina dentária na área de dentisteria, como protetores pulpares, e na área de endodontia, usados em pulpotomias, na reparação de perfurações, apexificações, selamento retrógrado e na endodontia regenerativa. Apenas no ano 2007 foi criado o primeiro cimento selador biocerâmico (2,4,19).

Os cimentos biocerâmicos ou cimentos hidráulicos ou cimentos à base de silicato de cálcio são compostos por alumina e zircônia, vidro bioativo, vidro cerâmico, silicato de cálcio, hidroxiapatite ou fosfatos de cálcio reabsorvíveis e vidros radiográficos (19).

Drukteinis e Camilleri (20) classificaram os cimentos hidráulicos para uso em endodontia como:

- Uso intra-coronal: protetores pulpares, cimentos regenerativos endodônticos.
- Uso intra-radicular: cimentos obturadores, cimentos para plug apical, cimentos para reparação de perfurações.
- Uso extra-radicular: materiais para selamento apical, cimentos para reparação de perfurações.

Os materiais biocerâmicos podem ser classificados: (2)

- Bioinertes: não interagem com os sistemas biológicos.
- Bioativos: interagem com os tecidos à sua volta.

- Biodegradáveis: materiais solúveis ou reabsorvíveis, eventualmente substituídos por tecidos.

Na literatura, o termo «biocerâmicos» refere-se a materiais protéticos restauradores e não especificamente a cimentos seladores. O pouco rigor, na terminologia dificulta a pesquisa científica, prática clínica e a qualidade de comunicação científica. Deste modo, Global System for the Nomenclature of Medical Devices (GMDN) recomenda que os materiais biocerâmicos seladores devem ser designados como seladores hidros cópicos de silicato de tricálcio (21).

Zhekov definiu «Cimentos biocerâmicos endodônticos» como uma substância não estéril, para uso profissional, no qual a reação de presa se baseia em componentes inorgânicos hidros cópicos e água (21).

Donnermeyer afirmou que os cimentos podem apresentar-se como: (21)

- Um componente: o cimento precisa de uma fonte externa de água (túbulos dentinários).
- Dois componentes: antes de inserir no canal é necessário misturar o pó com uma solução aquosa.

Os dois tipos de cimentos apresentam a mesma reação quando colocados no canal dentário. Primeiro, ocorre a hidratação que dependendo do tipo de pó pode ter duas reações diferentes: (21)

- $2[3\text{CaO} \cdot \text{SiO}_2] + 6\text{H}_2\text{O} \rightarrow 3\text{CaO} \cdot 2\text{SiO}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O} + 3\text{Ca}(\text{OH})_2$
- $2[2\text{CaO} \cdot \text{SiO}_2] + 4\text{H}_2\text{O} \rightarrow 3\text{CaO} \cdot 2\text{SiO}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O} + \text{Ca}(\text{OH})_2$

Seguidamente, ocorre a precipitação onde o hidróxido de cálcio reage com o fosfato de cálcio e forma hidroxiapatite (21).

- $7\text{Ca}(\text{OH})_2 + 3\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 12\text{H}_2\text{O}$

A hidroxiapatite  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  é um fosfato de cálcio à base de material biocerâmico que está presente nos componentes inorgânicos dos ossos e dentes humanos (22).

Os íons de cálcio e hidróxido são libertados durante um mês após a sua inserção (8). Estes íons são essenciais na mineralização e formação de osso, cimento, dentina e esmalte. Eles estimulam a expressão de proteínas associadas à formação do osso que permitem a diferenciação e mineralização das células. A constante formação de apatite estimula a diferenciação e

colonização das células mesenquimais e de osteoblastos, e conseqüentemente, a formação de osso pela deposição dos cristais de apatite (23,24).

Após o tratamento endodôntico, há formação de uma resposta anti-inflamatória que visa a eliminação das bactérias que sobreviveram e que ainda se podem encontrar nos canais ou no tecido periapical. Assim, há o aumento de produção de citocinas anti-inflamatórias e fatores de crescimento pelas células mesenquimais, pelos linfócitos T regulares e pela dissolução de dentina, ajudando na cicatrização (25).

Por vezes, a extrusão do material obturador para o tecido periapical é notável. A extrusão provoca o atraso na resposta de cicatrização devido aos elementos químicos de alguns cimentos. No entanto, a nova geração de cimentos à base de silicato de cálcio, para além de apresentarem algumas características dos cimentos convencionais, podem apresentar a capacidade de modular o meio, ajudando na proliferação de células-tronco da medula óssea e precursores de osteoblastos em osteoblastos maduros, levando à remineralização dos tecidos apicais (11).

Assim sendo, a escolha dos cimentos torna-se importante, uma vez que, têm a capacidade de acelerar a cicatrização da lesão (11).



## **2. OBJETIVOS**

Esta revisão sistemática tem como objetivo principal analisar a evidência de forma sistemática sobre a avaliação do potencial osteogénico dos cimentos de obturação baseados em silicato de cálcio, através de métodos moleculares.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

Segundo Cochrane Handbook, uma revisão sistemática apresenta todos os estudos relatados baseados nos critérios de exclusão e inclusão que respondem a uma questão de investigação. Estes critérios têm em vista a diminuição do viés que possa ocorrer durante a pesquisa. Deste modo, esta revisão sistemática seguirá a metodologia PRISMA (26).

Esta revisão sistemática foi submetida na plataforma *Prospero* com o número CRD42023422165 e com o título *Evaluation of the osteogenic potencial of bioceramic sealers – a systematic review*.

### 3.1. AVALIAÇÃO DO POTENCIAL OSTEOGÉNICO DE CIMENTOS BIOCERÂMICOS-REVISÃO SISTEMÁTICA

#### 3.1.1. Questão PICO

A revisão sistemática foi orientada com base na questão PICO (*Population, Intervention, comparison and outcomes*). A questão de investigação foi:

Cimentos de obturação baseados em silicato de cálcio (I) induzem maior osteogénese (O) do que cimentos de obturação convencionais (C) em estudos experimentais(P)?

#### 3.1.2. Estratégia de Pesquisa

Na tabela 1 estão descritas as bases de dados utilizadas: Pubmed, Web of Science e Scopus. Foram usados os seguintes termos MeSH de escrita livre “sealers”, “sealer”, usando o operador booleano “OR” entre os termos. Foram também usados os termos “bone”, “osteogenesis” e “osteogenic” com o operador booleano “OR”. De seguida, ligaram-se os termos MeSH com o operador booleano “AND”.

Tabela 1 - Metodologia de pesquisa.

<b>Pubmed, Web of Science® e Scopus</b>
Estratégia de pesquisa
(“sealers” OR “sealer”) AND (bone OR osteogenesis OR osteogenic)

### 3.1.3. Critérios de inclusão e exclusão

Na seleção dos critérios de inclusão e exclusão foram definidos os seguintes critérios:

#### **Critérios de inclusão:**

- Artigos que mencionem os cimentos biocerâmicos;
- Artigos que apresentem texto integral;
- Artigos que refiram o potencial osteogénico dos cimentos biocerâmicos;
- Artigos que refiram a expressão de genes e/ou proteínas na formação de osso.

#### **Critérios de exclusão:**

- Artigos sem dados moleculares sobre o potencial osteogénico;
- Revisões;
- Casos clínicos;
- Artigos relacionados com outro tipo de cimentos que não falem de cimentos seladores.
- Artigos que não comparam os cimentos biocerâmicos com os convencionais na avaliação da atividade osteogénica

Em primeiro lugar, realizou-se a exclusão dos artigos duplicados e triplicados. Posteriormente, foram avaliados os títulos, assim como os resumos de todos os artigos. De seguida, analisou-se a leitura completa dos artigos. Esta foi feita por dois investigadores independentes. De formar a avaliar o nível de concordância dos investigadores, o coeficiente de Kappa de Cohen foi utilizado (27).

### 3.1.4. Organização e análise dos dados

#### **Os dados serão organizados por:**

- Data e nome do autor;
- Tipo de estudo;
- Ano da publicação;
- Cimento biocerâmico;
- Outro tipo de cimento;

- Métodos de análise do potencial osteogénico
- Conclusões do estudo

## **4. RESULTADOS**

#### 4.1. RESULTADOS DA PESQUISA

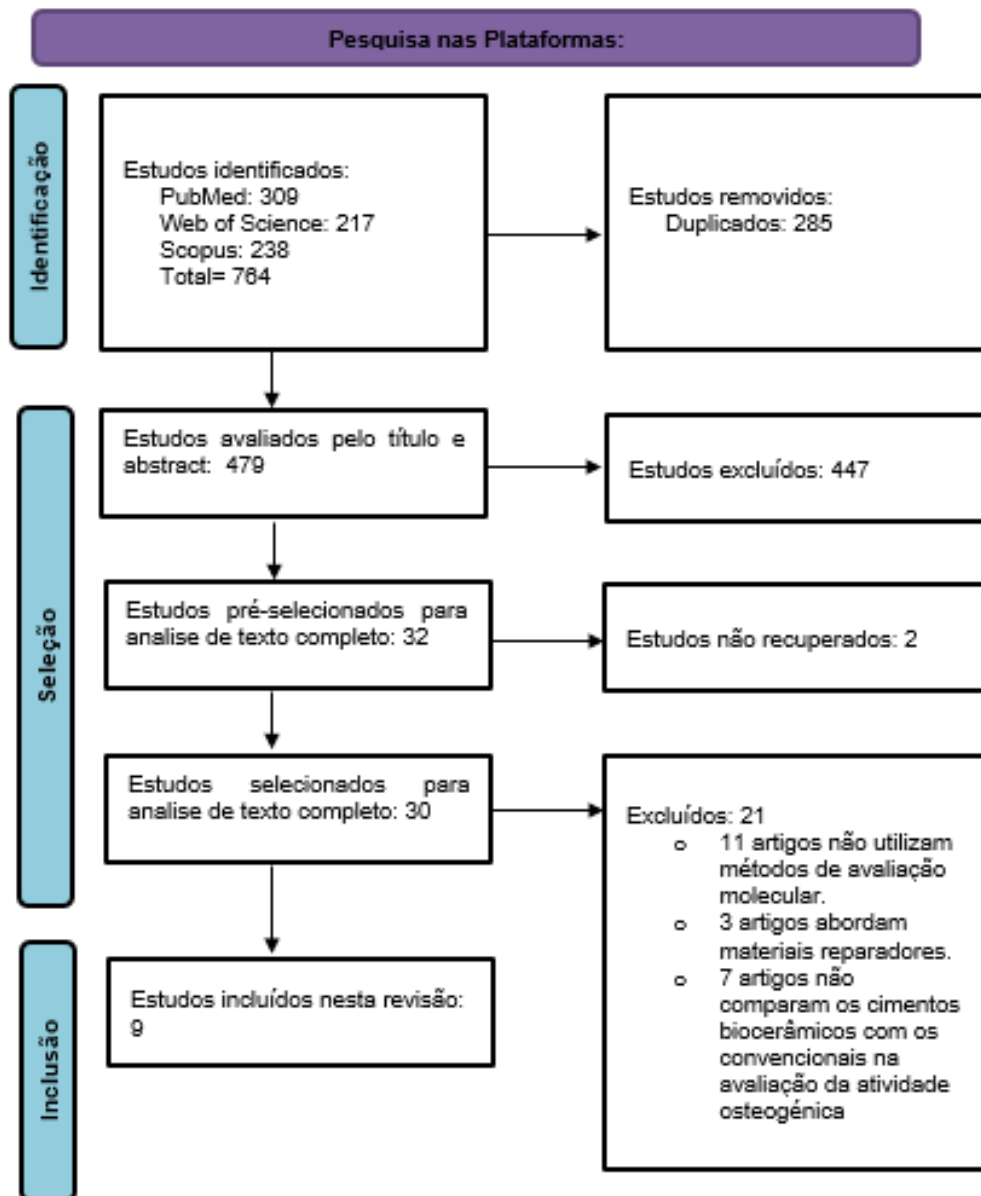


Figure 1 - Fluxograma do processo de seleção dos artigos usando o PRISMA

#### 4.2. CARACTERÍSTICAS DOS ESTUDOS

Neste estudo foram incluídos nove artigos científicos, que foram organizados por ordem alfabética do nome do primeiro autor. Foram recolhidos outros dados gerais, como o ano de publicação, o título do artigo e a revista no qual foi publicado, que se encontram descritos na tabela 2. A tabela 2 inclui também os objetivos de cada artigo selecionado. Resumidamente, os estudos têm como objetivo comparar os efeitos de cimentos de silicato de cálcio com um cimento convencional em vários meios de cultura.

No que diz respeito ao desenho de estudo, todos os artigos selecionados são estudos *in vitro*.

Tabela 2 - Caracterização dos artigos selecionados

<b>Autor, ano</b>	<b>Título</b>	<b>Revista</b>	<b>Objetivos</b>
Camps <i>et al.</i> , 2015 (28)	Bioactivity of a Calcium Silicate-based Endodontic Cement (BioRoot RCS): Interactions with Human Periodontal Ligament Cells <i>In Vitro</i>	Journal of Endodontics	Avaliar um cimento biocerâmico em células PDL humanas, e compará-lo com um cimento convencional.
Chang <i>et al.</i> , 2014 (29)	<i>In vitro</i> biocompatibility, inflammatory response, and osteogenic potential of 4 root canal sealers: sealapex, sankin apatite root sealer, MTA Fillapex, and <i>iRoot SP</i> root canal sealer	Journal of Endodontics	Comparar a citotoxicidade, a resposta inflamatória, o potencial osteogénico e os mecanismos de sinalização de 2 cimentos biocerâmicos e 2 cimentos convencionais em PDLCs.
Dimitrova-Nakov <i>et al.</i> , 2015 (30)	<i>In vitro</i> bioactivity of BiorootTM RCS, via A4 mouse pulpal stem cells	Dental Materials	Avaliar a biocompatibilidade e as propriedades osteoindutoras de um cimento biocerâmico em comparação com um cimento convencional

			em células-tronco derivadas de polpa de camundongo A4.
Giacomino <i>et al.</i> , 2019 (31)	Comparative Biocompatibility and Osteogenic Potential of Two Bioceramic Sealers	Journal of Endodontics	Testar a biocompatibilidade e bioatividade de 2 cimentos biocerâmicos com 2 cimentos convencionais.
Jing <i>et al.</i> , 2019 (32)	<i>In vitro</i> cytocompatibility and osteogenic potential of calcium silicate-based dental cements in a root canal-filling model	Journal of International Medical Research	Investigar a citocompatibilidade <i>in vitro</i> e o potencial osteogénico de um cimento experimental à base de silicato de cálcio e a resposta inflamatória em hPDLSCs.
Jo <i>et al.</i> , 2020 (33)	Physical Properties and Biofunctionalities of Bioactive Root Canal Sealers <i>In Vitro</i>	Nanomaterials	Verificar as propriedades físicas e biofuncionalidades de três cimentos bioativos, comparando-os com um cimento convencional
Lee <i>et al.</i> , 2019 (34)	Anti-inflammatory and osteogenic effects of calcium Silicate-based root canal sealers	Journal of Endodontics	Avaliar os efeitos de 3 cimentos na viabilidade celular, na resposta inflamatória e no potencial osteogénico em células MC3T3-E1.
Kyung Lee <i>et al.</i> , 2019 (35)	<i>In Vitro</i> Comparison of Biocompatibility of Calcium Silicate-Based Root Canal Sealers	Materials	Avaliar o efeito de dois cimentos biocerâmicos e dois cimentos convencionais na viabilidade celular, na resposta inflamatória, e

			no potencial osteogénico em hPDLSCs.
Zhang <i>et al.</i> , 2010 (36)	Effects of iRoot SP on mineralization-related genes expression in MG63 Cells	Journal of Endodontics	Avaliar a biocompatibilidade e os efeitos de um cimento biocerâmico na expressão de genes durante a formação de tecido duro em células MG63 e comparando-o com um cimento convencional.

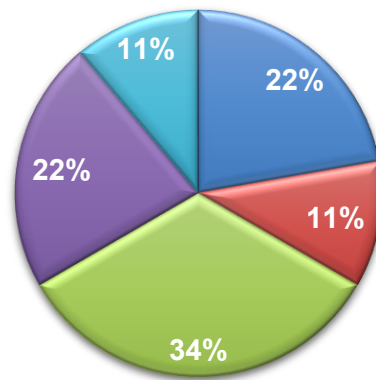
A tabela 3 refere-se aos modelos celulares, utilizados nos estudos *in vitro*, e aos tipos de cimentos biocerâmicos e convencionais avaliados nos estudos. No que concerne ao tipo de culturas de células utilizadas, foram estudadas seis modelos celulares diferentes, sendo que dois artigos utilizaram hPDLCs, três estudos hPDLSCs, e os restantes artigos analisados usaram diferentes modelos celulares, como: *mouse pulp-derived stem cell line A4*, MC3T3-E1 (*murine osteoblast precursor cell line*), *Human MG63 osteoblast-like cells*. Relativamente aos cimentos biocerâmicos, foram estudados dez cimentos biocerâmicos, particularmente o cimento iRoot SP, MTA Fillapex, BioRoot RCS, Endosequence BC, ProRoot ESS, experimental bioactive material C-R, Well-Root ST, Endoseal MTA, Nishika Canal sealer BG, Nano-ceramic sealer. Todos estes cimentos foram comparados com cimentos convencionais, o cimento convencional mais estudado foi o AH Plus®.

As figuras 2, 3, 4 dizem respeito aos modelos celulares, cimentos Biocerâmicos, cimentos convencionais usados nos estudos selecionados, respetivamente.

Tabela 3 - Identificação dos modelos celulares e do tipo cimentos avaliados

<b>Artigo</b>	<b>Modelo celular</b>	<b>Cimento biocerâmico</b>	<b>Cimento convencional</b>
<i>Camps et al., 2015 (28)</i>	hPDLCs	BioRoot RCS	Pulp canal sealer
<i>Chang et al., 2014 (29)</i>	hPDLCs	iRoot SP MTA Fillapex	Sealapex Apatite root sealer
<i>Dimitrova-Nakov et al., 2015 (30)</i>	<i>Mouse pulp-derived stem cell line A4</i>	Bioroot RCS	Pulp Canal Sealer
<i>Giacomino et al., 2019 (31)</i>	MC3T3-E1	EndoSequence BCS® ProRoot ESS®	Roth sealer AH Plus®
<i>Jing et al., 2019 (32)</i>	hPDLSCs	experimental bioactive material C-R BioRoot RCS	AH Plus®
<i>Jo et al., 2020 (33)</i>	hPDLSCs	Well-Root ST Endoseal MTA Nishika Canal Sealer BG	AH Plus®

<i>Lee et al., 2019 (34)</i>	MC3T3-E1	EndoSequence BCS MTA Fillapex	AH Plus®
<i>Kyung Lee et al., 2019 (35)</i>	hPDLSCs	EndoSeal MTA, Nano-ceramic Sealer Wellroot ST	AH-Plus®
<i>Zhang et al., 2010 (36)</i>	Human MG63 osteoblast- like cells	iRoot SP	AH Plus®



- MC3T3-E1
- Human MG63 osteoblast-like cells
- hPDLSCs
- hPDLSCs
- Mouse pulp-derived stem cell line A4

Figure 2 - Modelos celulares usados nos estudos selecionados

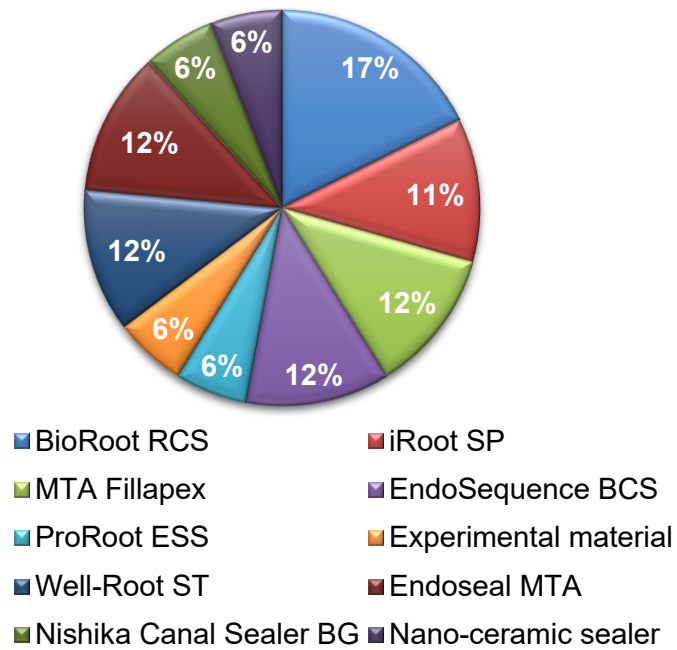


Figure 3 - Cimentos Biocerâmicos usados nos estudos selecionados

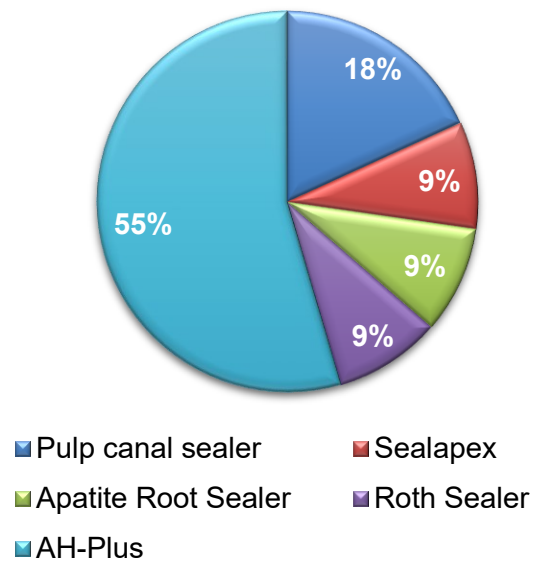


Figure 4 - Cimentos convencionais usados nos estudos selecionados

No que diz respeito aos métodos moleculares de avaliação da diferenciação osteoblástica, três estudos avaliaram a atividade da ALP, seis estudos utilizaram qRT-PCR e cinco, o método ELISA. Todos estes resultados encontram-se descritos na tabela 4 e no diagrama de Venn na Figura 5.

Tabela 4 – Identificação dos métodos moleculares utilizados para avaliação da expressão génica

<b>Artigo</b>	<b>Métodos moleculares</b>
Camps <i>et al.</i> , 2015 (28)	ELISA
Chang <i>et al.</i> , 2014 (29)	Atividade de ALP qRT-PCR ELISA
Dimitrova-Nakov <i>et al.</i> , 2015 (30)	Imunocitoquímico
Giacomino <i>et al.</i> , 2019 (31)	qRT-PCR
Jing <i>et al.</i> , 2019 (32)	Atividade de ALP qRT-PCR ELISA
Jo <i>et al.</i> , 2020 (33)	qRT-PCR
Lee <i>et al.</i> , 2018 (34)	qRT-PCR
Kyung Lee <i>et al.</i> , 2019 (35)	Atividade de ALP ELISA qRT-PCR
Zhang <i>et al.</i> , 2010 (36)	qRT-PCR ELISA

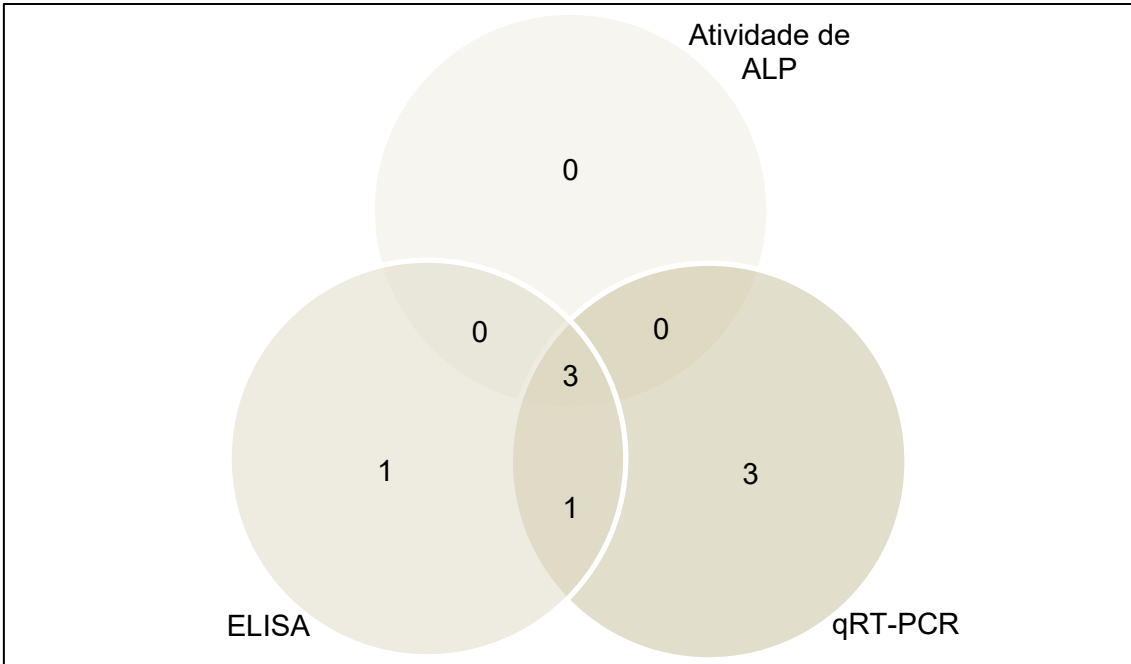


Figure 5 - Diferentes métodos moleculares usados nos estudos selecionados

A tabela 5 reúne os artigos científicos em que foi avaliada expressão génica, por qRT-PCR, e inclui informação sobre o tipo de genes avaliados, e momentos de avaliação da expressão génica. É identificada uma variedade de genes associados à osteogénese, inflamação e outros como os genes relacionados com a angiogénese. Os genes mais estudados foram o *OCN*, *RUNX2*, *DMP1*, *ALP*, *IL-6*. O tempo de avaliação é muito variável, no entanto, há dois estudos que apresentam a sua avaliação no mesmo período, ao sétimo dia e ao décimo quarto dia.

A figura 6 diz respeito à expressão de genes na osteogénese, enquanto a figura 7 diz respeito à expressão de genes na resposta inflamatória pelo método molecular qRT-PCR usados nos estudos selecionados.

Tabela 5 - Caracterização dos genes avaliados

Artigo	Momento(s) de avaliação (dias)	Genes avaliados		
		Osteogénese	Inflamação	Outros
Chang <i>et al.</i> , 2014 (29)	7, 14	OCN, OPN, ON, OSX, Runx2	TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8,	$\beta$ -actin
Giacomino <i>et al.</i> , 2019 (31)	7	DMP-1, ALP, Phex	Não avaliado	Não avaliado
Jing <i>et al.</i> , 2019 (32)	7, 14	ALP, OCN, Runx2, DMP-1	Não avaliado	Não avaliado
Jo <i>et al.</i> , 2020 (33)	3, 7, 21	DMP-1, Runx2, OSX,	TNF- $\alpha$ , IL- $\beta$ , IL-6, IL-17	VEGF, PDGFBB, bFGF
Lee <i>et al.</i> , 2019 (34)	0, 1, 2	ALP, OCN	IL-6, TNF- $\alpha$	Não avaliado
Kyung Lee <i>et al.</i> , 2019 (35)	3, 6, 9	Runx2, ALP	Não avaliado	Não avaliado
Zhang <i>et al.</i> , 2010 (36)	1, 3, 6	COL I, OCN, BSP, OPN,	Não avaliado	$\beta$ -actin

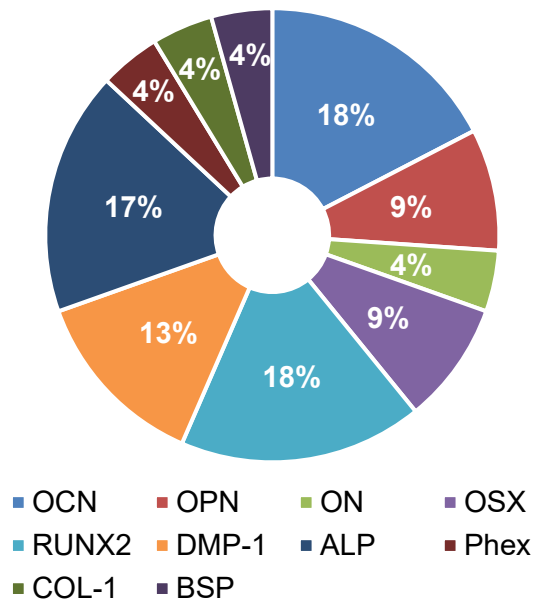


Figure 6 - Expressão de genes na osteogênese pelo método molecular qRT-PCR usados nos estudos selecionados

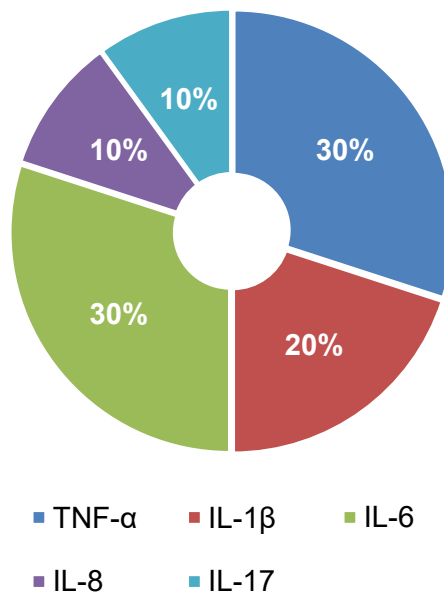


Figure 7 - Expressão de genes na resposta inflamatória pelo método molecular qRT-PCR usados nos estudos selecionados

A tabela 6 reúne os artigos que mediram a concentração de ALP, que se encontra associada à diferenciação dos osteoblastos. A concentração de ALP foi estudada através do método de atividade de ALP nos momentos de avaliação identificados na tabela 6. É descrito o aumento de concentração de ALP na cultura de células de todos os cimentos biocerâmicos nos dias de avaliação (1 e 14) e ao longo do tempo (7-14).

Tabela 6 - Caracterização da atividade de ALP

<b>Artigo</b>	<b>Atividade de ALP</b>	<b>Momento(s) de avaliação (dias)</b>
Chang <i>et al.</i> , 2014 (29)	Aumento semelhante na atividade ALP no cimento MTA Fillapex, ARS e iRoot SP, mas não por Sealapex	7,14
Jing <i>et al.</i> , 2019 (32)	A atividade de ALP foi maior no cimento experimental bioativo C-R e no BioRoot RCS em comparação com o grupo AH-Plus	14
Lee <i>et al.</i> , 2019 (34)	A atividade de ALP foi mais alta nos grupos com os cimentos biocerâmicos que nos grupos tratados com LPS	1

Relativamente à avaliação por ELISA, os resultados estão apresentados na tabela 7. Este método de avaliação de expressão de proteínas foi utilizado por cinco autores, que avaliaram as proteínas PGE2, BMP-2, IL-6, IL-8, COL-1 e BSP.

A figura 8 diz respeito à expressão de proteínas na osteogénese e na resposta inflamatória pelo método molecular ELISA usados nos estudos selecionados.

Tabela 7 - Caracterização das proteínas expressas por ELISA

Identificação de artigo	Momento(s) de avaliação (dias)	Proteínas expressas	Resultados
Camps <i>et al.</i> , 2015 (28)	1	BMP-2	BMP-2 foi significativamente maior com o cimento BioRoot RCS comparando com pulp canal sealer
Chang <i>et al.</i> , 2014 (29)		PGE2	A produção de NO e PGE2 foi maior nas células tratadas com Sealapex do que nas células tratadas com discos MTA Fillapex, ARS ou iRoot SP
Jing <i>et al.</i> , 2019 (32)	1, 3,7 ,14	IL-6, IL-8	A expressão de IL-6 não diferiu nos dias 1 e 3, enquanto que no dia 7 foi mais alta no grupo AH-Plus e no grupo C-R no dia 14. IL-8 os níveis de IL-8 foram mais altos no grupo BioRoot
Kyung Lee <i>et al.</i> , 2019 (35)	1	IL-6, IL-8,	AH-Plus representa um aumento de expressão de IL-6 e IL-8 que os outros cimentos avaliados
Zhang <i>et al.</i> , 2010 (36)	3,6	COL I, BSP	iRoot SP aumentou a expressão de COL I e BSP comparando com o AH-Plus e o controlo no dia 6

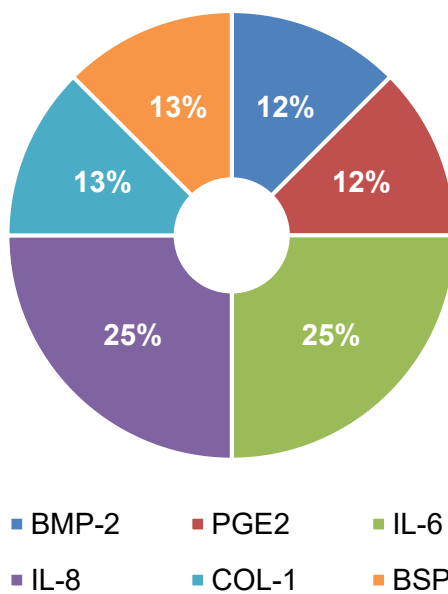


Figure 8 - Expressão de proteínas na osteogénese e na resposta inflamatória pelo método molecular ELISA usados nos estudos selecionados

### 4.3. PRINCIPAIS CONCLUSÕES

Na tabela 8 é possível observar as principais conclusões dos artigos analisados nesta revisão sistemática. Todos os artigos incluídos nesta revisão apoiam que os cimentos biocerâmicos apresentam um potencial osteogénico superior aos cimentos convencionais estudados.

Tabela 8 - Principais conclusões dos artigos selecionados

<b>Artigo</b>	<b>Conclusões</b>
<i>Camps et al., 2015 (28)</i>	BioRoot pode apresentar potencial de induzir osteogénese e angiogénese.
<i>Chang et al., 2014 (29)</i>	MTA Fillapex, iRoot e ARSS induzem uma superior diferenciação osteoblástica e uma menor resposta inflamatória do que com Sealapex em PDLCs.
<i>Dimitrova-Nakov et al., 2015 (30)</i>	BioRoot pode fornecer um ambiente adequado para induzir células-tronco para deposição de tecido duro.
<i>Giacomino et al., 2019 (31)</i>	Os cimentos biocerâmicos podem ser adjuvantes no processo cicatrização, uma vez que, favorecem a diferenciação osteoblástica.
<i>Jing et al., 2019 (32)</i>	O material experimental biocerâmicos apresenta idêntica capacidade de diferenciação osteogénica ao BioRoot.
<i>Jo et al., 2020 (33)</i>	Os meios de cultura com os cimentos endodônticos bioativos apresentaram intensa capacidade osteogénica e alta atividade angiogénica.
<i>Lee et al., 2019 (34)</i>	Os cimentos à base de silicato de cálcio estudados exibiram atividade anti-inflamatória e promoveram diferenciação osteogénica.
<i>Kyung Lee et al., 2019 (35)</i>	Os cimentos à base de silicato de cálcio

	parecem ser mais biocompatíveis e menos citotóxicos do que os cimentos à base de resina epóxi.
<i>Zhang et al., 2010 (36)</i>	iRoot SP permitiu a expressão de genes de matriz envolvidos na mineralização.

## **5. DISCUSSÃO**

Os cimentos biocerâmicos são materiais utilizados na área da medicina, especialmente na medicina dentária, devido à sua biocompatibilidade. Na literatura, eles têm sido amplamente estudados quanto ao seu potencial osteogénico, ou seja, a sua capacidade de estimular o crescimento e a remodelação óssea (37).

Alguns estudos têm sugerido que os cimentos biocerâmicos podem promover a formação de novo tecido ósseo e a adesão de células osteogénicas, auxiliando na regeneração de defeitos ósseos. Estes materiais podem libertar iões bioativos, como cálcio, silicato e fósforo, que interagem com as células e estimulam a atividade osteoblástica, levando à formação de osso (37).

A metodologia utilizada neste estudo foi estabelecida com base no PRISMA, de forma a obter uma revisão sistemática com o mínimo de viés possível. Primeiro, foram selecionadas três bases de dados, todas elas adequadas à temática do estudo, como a PubMed/MEDLINE, Web of Science e Scopus. De seguida, os estudos duplicados e triplicados foram eliminados. Posteriormente, realizou-se a análise dos artigos pelo título e resumo. Subsequentemente, realizou-se a leitura completa dos artigos, obtendo nove artigos para análise.

Tal como esperado, esta análise permitiu selecionar artigos que avaliam as propriedades dos cimentos endodônticos quanto ao potencial osteogénico, através da análise de mecanismos moleculares em diferentes modelos celulares. Esta estratégia permitiu criar evidência sobre o potencial dos cimentos biocerâmicos na formação de osso, melhorando o desempenho clínico.

O cimento biocerâmico mais estudado foi o cimento BioRoot RCS devido ao facto de apresentar maior capacidade de mineralização de estruturas dentárias e por induzir a expressão de fatores de crescimento osteogénicos (38).

O cimento convencional mais estudado foi o AH-Plus. De acordo com a literatura, este tipo de cimento é o cimento mais usado na prática comum em endodontia devido às suas propriedades radiopacas e antimicrobianas (8).

Nas tabelas 5, 6 e 7 é possível observar os métodos moleculares de avaliação osteogénica utilizados nos artigos selecionados nesta revisão sistemática, de forma a estudar se os cimentos biocerâmicos apresentam maior potencial osteogénico do que os cimentos convencionais, aumentando o sucesso da prática clínica. Vários modelos celulares foram usados para avaliar o efeito de cimentos biocerâmicos ou cimentos convencionais na formação

óssea, através de diferentes métodos moleculares como: qRT-PCR, atividade de ALP e ELISA.

É descrito na literatura que o gene *RUNX2* é o principal gene regulador na diferenciação osteoblástica. É referido que o gene *OCN* também está associado à regulação da formação óssea. Os autores *Chang et al.* e *Jing et al.* (29,32) estudaram a expressão destes genes por qPCR no mesmo intervalo de tempo (7 e 14 dias). Os autores *Chang et al.* e *Jing et al.* (29,32) observaram uma significativa maior expressão de *OCN* nas células expostas aos cimentos biocerâmicos (MTA Fillapex, iRoot SP, BioRoot RCS, cimento experimental) quando comparados com cimentos convencionais (Sealapex e AH-plus) nos dias 7 e 14. Quanto ao gene *RUNX2*, estes mesmos autores obtiveram resultados contraditórios. *Jing et al.* (32) verificaram no 7º dia uma sobreexpressão de *RUNX2* nas culturas expostas aos cimentos biocerâmicos (cimento experimental e BioRoot), enquanto ao 14º dia verificaram uma diminuição da expressão nos mesmos grupos de culturas. Contrariamente, *Chang et al.* (29) não verificaram alterações na expressão de *RUNX2* ao 7º dia nas células expostas a cimentos biocerâmicos (MTA Fillapex, iRoot SP) comparativamente ao grupo de controlo (células não expostas a cimentos nem suplementos osteoblásticos), enquanto no 14º dia obtiveram uma sobre expressão de *RUNX2* nas culturas expostas a cimentos biocerâmicos (MTA Fillapex, iRoot SP). Estes resultados contraditórios podem estar associados às diferentes metodologias de exposição da cultura de células aos cimentos usados nos dois estudos: *Jing et al.* (32) utilizaram um modelo de obturação de canal radicular enquanto *Chang et al.* (29) usaram uma sementeira sobre os cimentos avaliados. Mesmo assim, ambos os estudos (29,32) mostram uma maior expressão de *RUNX2* nas culturas expostas aos cimentos biocerâmicos (cimento experimental, BioRoot RCS, MTA Fillapex e iRoot SP) que os grupos de controlo (células não expostas a cimentos nem a suplementos osteogénicos).

Os investigadores *Jo et al.* (33) analisaram a expressão de *RUNX2* em células expostas a cimentos biocerâmicos no 7º dia em cultura comparando-os a grupos de controlo (células não expostas a cimentos biocerâmicos). Estes detetaram o aumento de expressão de *RUNX2* em células expostas a cimentos biocerâmicos (Well-Root ST, Endoseal MTA e Nishika Canal Sealer BG) corroborando os estudos anteriormente mencionados.

Outro gene expresso na diferenciação osteogénica é *OSX*. Os autores *Chang et al.* e *Jo et al.* (29,33) estudaram a expressão de *OSX* ao 7º dia. Estes autores (29,33) constataram o aumento significativo de expressão de *OSX* em células expostas a materiais biocerâmicos (Endoseal MTA, Well-Root, Nishika Canal Sealer) comparativamente com o grupo de controlo (células sem exposição aos cimentos biocerâmicos nem suplementos osteogénicos). Só houve uma sobreexpressão na cultura de células do cimento biocerâmico Endoseal MTA.

*Giacomino et al.* (31) avaliaram a expressão de genes *DMP-1* no dia 7. Foi observado o aumento significativo da expressão deste gene em células expostas a cimentos biocerâmicos (ProRoot ESS e a Endosequence BCS), o que não aconteceu com as células expostas ao cimento convencional (AH Plus). Estes resultados também foram validados pelos autores *Jo et al.* que verificaram uma maior expressão de *DMP-1* nos grupos de cimentos biocerâmicos (Well-Root ST e Nishika Canal Sealer BG). *Jing et al.* (32) observaram uma maior expressão de *DMP-1* nos grupos de células expostas ao cimento biocerâmico experimental comparativamente ao grupo de controlo (células não expostas a cimentos nem a suplementos osteoblásticos) o que evidencia a mineralização da matriz óssea.

Segundo *Florencio-Silva* a enzima ALP está associada à diferenciação osteoblástica. *Kyung Lee et al.* (35) estudaram a expressão de ALP mRNA e observaram um aumento da expressão deste gene ao longo dos dias 3, 4 e 9 em todos os grupos de cimentos biocerâmicos (12).

Estes resultados são corroborados pelos autores *Chang et al.* (29) através da avaliação da atividade desta enzima. Os autores observaram um aumento da atividade de ALP ao longo dos dias 7 e 14 nos cimentos biocerâmicos (MTA Fillapex, iRoot SP) comparativamente ao grupo do cimento convencional Sealapex, o qual não sofreu qualquer alteração na atividade de ALP (12).

*Jing et al.* (32) estudaram a expressão de mRNA *ALP* e a atividade de ALP no dia 14 de estudo. Observaram os mesmos níveis de expressão de *ALP* em todas as células dos cimentos estudados (AH-Plus, BioRoot RCS e o cimento biocerâmico experimental). De referir também que, aquando do estudo da atividade da fosfatase alcalina, observou-se o seu aumento nos grupos com

cimentos biocerâmicos (BioRoot RCS e o cimento experimental) comparativamente ao grupo de cimento convencional (AH-Plus).

*Lee et al.* (34) avaliaram a expressão de ALP mRNA e a atividade de ALP. Estes autores referiram menor expressão de ALP mRNA pelas células expostas ao cimento convencional (AH-Plus) comparando aos cimentos biocerâmicos. Também na atividade de ALP os autores obtiveram menor atividade no grupo de células AH-Plus comparativamente aos materiais de silicato de cálcio.

Os autores *Zhang et al.* (36) avaliaram a expressão de *COL-1* e *BSP* e os níveis de proteína COL-1 e BSP por ELISA.

Os níveis de expressão de *COL-1* e *BSP* observaram-se mais altos nas células expostas ao cimento biocerâmico (iRoot SP) no dia 6 em relação ao grupo de controlo (células não expostas a cimentos) e ao grupo com o cimento AH-Plus.

Estes dados são corroborados por ELISA, onde identificaram, ao 6º dia, o aumento dos níveis de expressão destas proteínas em células tratados com iRoot SP.

Idealmente, um cimento quando em contacto com os tecidos periapicais, não deve originar uma resposta inflamatória nestes tecidos. Contudo, ao longo dos anos a literatura tem vindo a referir que há a formação de uma resposta inflamatória quando o cimento entra em contacto com os tecidos periapicais.

Vários autores constataram que durante a resposta inflamatória há a estimulação de citocinas inflamatórias, como IL-6, IL-8. Os autores *Chang et al.* em 2014, *Jo et al.* em 2020 e *Lee et al.* (29,33,34) em 2018 estudaram os níveis de mRNA de IL-6 e IL-8 (8).

Comparando os resultados destes 3 estudos, verificou-se menor expressão de genes inflamatórios nas células expostas aos cimentos biocerâmicos do que nos grupos de controlo (células não expostas a materiais biocerâmicos e a suplementos osteoblásticos e células expostas a peróxido de hidrogénio).

Através do estudo de IL-6 pelo método ELISA, *Kyung Lee et al.* em 2019 (35) verificaram o aumento desta citocina no grupo tratado com AH-Plus, contrariamente ao grupo tratado com cimentos biocerâmicos (EndoSeal MTA, Nano-ceramic Sealer, Wellroot ST) que não evidenciaram este aumento.

Por outro lado, os autores *Chang et al. em 2014 (29)* afirmaram que a expressão de mRNA destas interleucinas foi idêntica entre os grupos constituídos pelos cimentos biocerâmicos e cimentos convencionais.

*Jing et al.(32)* observou através de ELISA a secreção de IL-6 e IL-8. Os autores referem que não encontraram diferenças na secreção destas interleucinas nos dias 1 e 3, contrariamente ao 14º dia em que houve um aumento da secreção destas citocinas nos casos tratados com cimentos biocerâmicos (cimento experimental biocerâmicos e BioRoot RCS).

O fator TNF- $\alpha$  expresso na resposta inflamatória, também foi analisado em vários estudos desta revisão sistemática. Contrariamente aos produtos génicos anteriormente discutidos, este fator foi estudado por diferentes autores em diferentes momentos.

*Chang et al. Jing et al. e Lee et al. (32)* verificaram uma menor expressão de TNF- $\alpha$  nos grupos de estudo constituídos pelos cimentos biocerâmicos relativamente ao grupo de controlo (células sem exposição a biomateriais), a grupos de células expostas a bactérias e aos grupos de cimentos convencionais (Sealapex).

Para além dos métodos moleculares referidos anteriormente, outros tipos de métodos de avaliação foram utilizados para avaliar o potencial osteogénico dos cimentos biocerâmicos nomeadamente a avaliação da deposição de cálcio. Esta deposição nas células expostas aos cimentos biocerâmicos foi avaliada através da *Alizarin Red S Staining* e da *Von Kossa staining*.

Em geral as experiências de *Chang et al., Giacomino et al., Jo et al., Lee et al. e Zhang et al. (29,31,33,34,36)* permitiram verificar uma maior quantidade de nódulos de mineralização nos grupos que apresentam materiais biocerâmicos do que nos grupos com cimentos convencionais. Apenas *Jing et al. (32)* deteram maior número de nódulos mineralizados nos três grupos experimentais, BioRoot RCS, cimento experimental e AH-Plus, comparativamente ao grupo de controlo negativo (células não expostas a cimentos nem a suplementos osteogénicos). No entanto, neste artigo os autores mostram um aumento significativo do número de nódulos mineralizados no grupo de cimento convencional (AH-Plus) comparativamente ao grupo de cimentos biocerâmicos (BioRoot RCS e cimento experimental). Estas diferenças puderam estar relacionadas com as diferentes metodologias de exposição da cultura de células aos cimentos usados nos

estudos: *Jing et al.* (32) utilizaram um modelo de obturação de canal radicular enquanto os restantes autores *Chang et al.*, *Giocomino et al.*, *Jo et al.*, *Lee et al.* e *Zhang et al.* (29,31,33,34,36) usaram uma sementeira sobre os cimentos avaliados.

A avaliação da deposição de cálcio foi publicada em outros artigos, que foram excluídos desta revisão sistemática por não apresentarem dados moleculares. Nestes estudos (39–43), também foram verificadas uma maior mineralização nos grupos de cultura com cimentos biocerâmicos.

Esta revisão sistemática inclui um número reduzido de artigos que pode ser justificado pelo facto de os cimentos biocerâmicos serem um material relativamente recente e, por isso, ainda com poucos estudos de caracterização.

Os artigos seleccionados referem-se a estudos *in vitro*, que não permite uma real avaliação da mimetização própria deste tipo de tecidos. Assim, a realização de estudos *in vivo* para que se obtenham resultados mais conclusivos sobre o efeito dos cimentos biocerâmicos seriam úteis.

Na literatura foi observada uma confusão na terminologia entre os cimentos endodônticos e os materiais reparadores endodônticos. Este facto, para além de constituir um constrangimento para a qualidade de comunicação entre investigadores, poderia ter levado à exclusão de artigos com interesse para esta revisão sistemática. Assim, foi necessário redefinir a estratégia de pesquisa através da seleção de palavras-chaves mais gerais, de forma a poder reunir o maior número de artigos sobre os cimentos biocerâmicos e não materiais reparadores.

Diferentes estudos analisaram vários biomarcadores associados à osteogénese, que podem ser utilizados para avaliar a formação óssea. Alguns dos principais biomarcadores de osteogénese incluem, RUNX2, OCN, OPN, ALP, mas nem todos os artigos seleccionados os avaliaram e por isso, mais investigação é necessária para construir e propor um painel de marcadores moleculares robusto que permita avaliar e monitorizar o efeito osteogénico de novos cimentos.



## **6. CONCLUSÃO**

Segundo esta revisão sistemática, e de modo a responder à questão de pesquisa Cimentos de obturação baseados em silicato de cálcio (I) induzem maior osteogénese (O) do que cimentos de obturação convencionais (C) em estudos experimentais (P)? foi possível concluir:

- Todos os estudos observaram maior estimulação dos genes, enzimas e proteínas presentes na diferenciação de osteoblastos, nas culturas de células de cimentos biocerâmicos, permitindo a formação de osso, confirmando o seu potencial osteogénico em relação aos cimentos convencionais.
- Foi possível observar a estimulação de várias proteínas como OCN, OSX, DMP1, enzimas como a ALP e fatores de transcrição RUNX2, que permitem a diferenciação de osteoblastos, permitindo a formação de novo osso.
- Todos os estudos que avaliam a resposta inflamatória, apontam para uma maior biocompatibilidade dos cimentos biocerâmicos relativamente aos cimentos convencionais.

As principais conclusões dos estudos foram unânimes, concordando que os cimentos biocerâmicos são uma mais-valia na área da endodontia, para o preenchimento dos canais radiculares.

Em suma, os cimentos biocerâmicos apresentam uma resposta osteogénica promissora em relação aos cimentos convencionais. Contudo, estudos *in vivo* serão necessários para que se possa estudar o efeito destes cimentos e permitir a sua aplicação mais segura.

## **7. BIBLIOGRAFIA**

1. Carneiro P, Carvalho R. Barómetro da saúde oral – Ordem dos médicos dentistas. 7ª Edição, 2022. p.1-54.
2. Surya Raghavendra S, Jadhav GR, Gathani KM, Kotadia P. BIOCERAMICS IN ENDODONTICS – A REVIEW. J Istanbul Univ Fac Dent. 2017 Nov 17;51(0).
3. Estivalet MS, de Araújo LP, Immich F, da Silva AF, Ferreira N de S, da Rosa WL de O, et al. Bioactivity Potential of Bioceramic-Based Root Canal Sealers: A Scoping Review. Life. 2022 Nov 11;12(11):1853.
4. Chugal N, Mallya SM, Kahler B, Lin LM. Endodontic Treatment Outcomes. Vol. 61, Dental Clinics of North America. W.B. Saunders; 2017. p. 59–80.
5. Löst C. Quality guidelines for endodontic treatment: Consensus report of the European Society of Endodontology. Vol. 39, International Endodontic Journal. 2006. p. 921–30.
6. Song W, Li S, Tang Q, Chen L, Yuan Z. In vitro biocompatibility and bioactivity of calcium silicate-based bioceramics in endodontics (Review). Int J Mol Med. 2021 Jul 1;48(1).
7. Song M, Kim HC, Lee W, Kim E. Analysis of the cause of failure in nonsurgical endodontic treatment by microscopic inspection during endodontic microsurgery. J Endod. 2011 Nov;37(11):1516–9.
8. Komabayashi T, Colmenar D, Cvach N, Bhat A, Primus C, Imai Y. Comprehensive review of current endodontic sealers. Vol. 39, Dental Materials Journal. Japanese Society for Dental Materials and Devices; 2020. p. 703–20.
9. Lyu WJ, Bai W, Wang XY, Liang YH. Physicochemical properties of a novel bioceramic silicone-based root canal sealer. J Dent Sci. 2022 Apr 1;17(2):831–5.
10. Brackett MG, Marshall A, Lockwood PE, Lewis JB, Messer RLW, Bouillaguet S, et al. Inflammatory suppression by endodontic sealers after aging 12 weeks in vitro. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2009 Nov;91(2):839–44.
11. Giacomino CM, Wealleans JA, Kuhn N, Diogenes A. Comparative Biocompatibility and Osteogenic Potential of Two Bioceramic Sealers. J Endod. 2019 Jan 1;45(1):51–6.
12. Florencio-Silva R, Sasso GRDS, Sasso-Cerri E, Simões MJ, Cerri PS. Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells. Vol. 2015, BioMed Research International. Hindawi Publishing Corporation; 2015.
13. Hadjidakis DJ, Androulakis II. Bone remodeling. In: Annals of the New York Academy of Sciences. Blackwell Publishing Inc.; 2006. p. 385–96.
14. Mizoguchi T, Ono N. The diverse origin of bone-forming osteoblasts. Vol. 36, Journal of Bone and Mineral Research. John Wiley and Sons Inc; 2021. p. 1432–47.
15. Andrade, Carvalho V. mecanismos moleculares envolvidos na diferenciação osteoblástica estimulada pelo Laser de baixa intensidade: uma revisão sistemática integrativa da literatura 2022.
16. Jensen ED, Gopalakrishnan R, Westendorf JJ. Regulation of gene expression in osteoblasts. Vol. 36, BioFactors. 2010. p. 25–32.

17. Komori T. Regulation of proliferation, differentiation and functions of osteoblasts by runx2. Vol. 20, International Journal of Molecular Sciences. MDPI AG; 2019.
18. Krause U, Seckinger A, Gregory CA. Assays of osteogenic differentiation by cultured human mesenchymal stem cells. *Methods Mol Biol.* 2011;698:215–30.
19. Donnermeyer D, Bürklein S, Dammaschke T, Schäfer E. Endodontic sealers based on calcium silicates: a systematic review. Vol. 107, *Odontology.* Springer Tokyo; 2019. p. 421–36.
20. Drukteinis Josette, Camilleri Josette. Bioceramic Materials in Clinical Endodontics. *Bioceramic Materials in Clinical Endodontics.* Springer International Publishing; 2021.
21. Zhekov KI, Stefanova VP. Definition and Classification of Bioceramic Endodontic Sealers. *Folia Med (Plovdiv).* 2021 Dec 31;63(6):901–4.
22. Bogdanoviciene I, Beganskiene A, Tõnsuaadu K, Glaser J, Meyer HJ, Kareiva A. Calcium hydroxyapatite, Ca<sub>10</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>(OH)<sub>2</sub> ceramics prepared by aqueous sol-gel processing. *Mater Res Bull.* 2006 Sep 14;41(9):1754–62.
23. Pan H, Zhao X, Darvell BW, Lu WW. Apatite-formation ability - Predictor of “bioactivity”? Vol. 6, *Acta Biomaterialia.* Elsevier Ltd; 2010. p. 4181–8.
24. Lee BN, Hong JU, Kim SM, Jang JH, Chang HS, Hwang YC, et al. Anti-inflammatory and Osteogenic Effects of Calcium Silicate-based Root Canal Sealers. *J Endod.* 2019 Jan 1;45(1):73–8.
25. Leprince JG, Zeitlin BD, Tolar M, Peters OA. Interactions between immune system and mesenchymal stem cells in dental pulp and periapical tissues. Vol. 45, *International Endodontic Journal.* 2012. p. 689–701.
26. Donato H, Donato M. Stages for undertaking a systematic review. Vol. 32, *Acta Medica Portuguesa.* CELOM; 2019. p. 227–35.
27. McHugh ML. Interrater reliability: the kappa statistic. *Biochem Med (Zagreb).* 2012;22(3):276-82.
28. Camps J, Jeanneau C, El Ayachi I, Laurent P, About I. Bioactivity of a Calcium Silicate-based Endodontic Cement (BioRoot RCS): Interactions with Human Periodontal Ligament Cells In Vitro. *J Endod.* 2015 Sep 1;41(9):1469–73.
29. Chang SW, Lee SY, Kang SK, Kum KY, Kim EC. In vitro biocompatibility, inflammatory response, and osteogenic potential of 4 root canal sealers: Sealapex, sankin apatite root sealer, MTA Fillapex, and iroot SP root canal sealer. *J Endod.* 2014 Oct 1;40(10):1642–8.
30. Dimitrova-Nakov S, Uzunoglu E, Ardila-Osorio H, Baudry A, Richard G, Kellermann O, et al. In vitro bioactivity of Bioroot™ RCS, via A4 mouse pulpal stem cells. *Dental Materials.* 2015 Nov 1;31(11):1290–7.
31. Giacomino CM, Wealleans JA, Kuhn N, Diogenes A. Comparative Biocompatibility and Osteogenic Potential of Two Bioceramic Sealers. *J Endod.* 2019 Jan 1;45(1):51–6.
32. Jing Y, Gong T, Duan C, Wang H, Zhang C, Neelakantan P. In vitro cytocompatibility and osteogenic potential of calcium silicate-based dental cements in a root canal-filling model. *Journal of International Medical Research.* 2019;48(4).

33. Jo S Bin, Kim HK, Lee HN, Kim YJ, Patel KD, Knowles JC, et al. Physical properties and biofunctionalities of bioactive root canal sealers in vitro. *Nanomaterials*. 2020 Sep 1;10(9):1–19.
34. Lee BN, Hong JU, Kim SM, Jang JH, Chang HS, Hwang YC, et al. Anti-inflammatory and Osteogenic Effects of Calcium Silicate-based Root Canal Sealers. *J Endod*. 2019 Jan 1;45(1):73–8.
35. Lee JK, Kim S, Lee S, Kim HC, Kim E. In vitro comparison of biocompatibility of calcium silicate-based root canal sealers. *Materials*. 2019 Aug 1;12(15).
36. Zhang W, Li Z, Peng B. Effects of iRoot SP on mineralization-related genes expression in MG63 Cells. *J Endod*. 2010 Dec;36(12):1978–82.
37. Garrido De Lima ANDRADE K, Livia GOMES-CORNÉLIO A. CIMENTOS BIOCERÂMICOS NA ENDODONTIA.
38. Jing Y, Gong T, Duan C, Wang H, Zhang C, Neelakantan P. In vitro cytocompatibility and osteogenic potential of calcium silicate-based dental cements in a root canal-filling model. *Journal of International Medical Research*. 2019;48(4).
39. Sheela S, Nassar M, Alghalban FM, Gorduysus MO. In Vitro Cytotoxicity and Mineralization Potential of an Endodontic Bioceramic Material. *Eur J Dent*. 2022;
40. Wuerschling SN, Diegritz C, Hickel R, Huth KC, Kollmuss M. A comprehensive in vitro comparison of the biological and physicochemical properties of bioactive root canal sealers. *Clin Oral Investig*. 2022 Oct 1;26(10):6209–22.
41. Almeida LH, Gomes APN, Gastmann AH, Pola NM, Moraes RR, Morgental RD, et al. Bone tissue response to an MTA-based endodontic sealer, and the effect of the addition of calcium aluminate and silver particles. *Int Endod J*. 2019 Oct 1;52(10):1446–56.
42. Wu X, Yan M, Lu J, Ge X, Li Y, Bian M, et al. IRoot SP Promotes Osteo/Odontogenesis of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells via Activation of NF- $\kappa$ B and MAPK Signaling Pathways. *Stem Cells Int*. 2020;2020.
43. Gandolfi MG, Siboni F, Prati C. Properties of a novel polysiloxane-guttapercha calcium silicate-bioglass-containing root canal sealer. *Dental Materials*. 2016 May 1;32(5):e113–26.

## **8. ANEXO**

ID	Title	Status	Last edited
CRD42023422165	Evaluation of the osteogenic potential of bioceramic sealers – a systematic review.	Registered	01/07/2023 