

## Propiedades fisicoquímicas de TheraCal, un nuevo material de agregado de trióxido mineral (MAT) fotopolimerizable para el recubrimiento pulpar.

M. G. Gandolfi, F. Siboni y C. Prati

Laboratorio de Biomateriales y Patología Oral, Departamento de Ciencias Odontostomatológicas, Universidad de Bolonia, Bolonia, Italia

### Resumen

Gandolfi MG, Siboni F, Prati C. Propiedades fisicoquímicas de TheraCal, un nuevo material de agregado de trióxido mineral fotopolimerizable para el recubrimiento pulpar. *International Endodontic Journal*.

**Objetivo:** Evaluar las propiedades fisicoquímicas de TheraCal, un nuevo material de recubrimiento pulpar fotopolimerizable compuesto de resina y silicato de calcio (cemento Portland), en comparación con materiales de referencia para el recubrimiento pulpar (ProRoot MTA y Dycal).

**Metodología:** Se evaluó la liberación de calcio (Ca) e iones de hidroxilo (OH) durante 28 días, la solubilidad y la absorción de agua (variación porcentual de peso, D%) a las 24 h, la profundidad de polimerización y radiopacidad de TheraCal, ProRoot MTA y Dycal. El análisis estadístico ( $P < 0,05$ ) de liberación de iones se llevó a cabo mediante ANOVA con Tukey de medidas repetidas por dos vías, mientras que para el resto de pruebas se utilizó la prueba de ANOVA con Tukey de una vía. **Resultados:** TheraCal liberó una cantidad de calcio considerablemente mayor que ProRoot MTA y Dycal durante todo el período de prueba. TheraCal pudo

alcalinizar inicialmente el líquido circundante a un pH de 10-11 (3 h-3 días) y posteriormente a un pH de 8-8,5 (7-14 días). TheraCal presentó una profundidad de polimerización de 1,7 mm. La solubilidad de TheraCal (D) 1,58 %) fue baja y considerablemente menor que la de Dycal (D) 4,58 %) y ProRoot MTA (D) 18,34 %). La cantidad de agua absorbida por TheraCal (D +10,42 %) fue considerablemente mayor que la de Dycal (D +4,87 %) y considerablemente menor que la de ProRoot MTA (D +13,96 %).

**Conclusiones:** TheraCal muestra una mayor capacidad de liberación de calcio y una solubilidad más baja que ProRoot MTA o Dycal. La capacidad de polimerización de TheraCal a una profundidad de 1,7 mm puede evitar el riesgo de disolución prematura. Gracias a estas propiedades, ofrece grandes ventajas en los tratamientos de recubrimiento pulpar directo.

**Palabras clave:** liberación de iones hidroxilo e iones calcio, hidróxido de calcio, Dycal, ProRoot MTA, materiales para recubrimiento pulpar, silicato de calcio modificado con resina, TheraCal.

Recibido el 14 de julio de 2011; aceptado el 29 de diciembre de 2011

### Introducción

El recubrimiento pulpar directo implica la aplicación de un material dental en la pulpa expuesta en un intento de actuar como barrera, proteger el complejo de la pulpa dental y mantener su vitalidad (Sociedad Europea de Endodoncia 2006). Los materiales de hidróxido de calcio  $[Ca(OH)_2]$  y de óxido de calcio (CaO) son las sustancias más populares para el recubrimiento pulpar directo o indirecto por su capacidad de liberar iones hidroxilo (OH) e iones calcio (Ca)

Correspondencia: Maria Giovanna Gandolfi, Jefe del Laboratorio de Biomateriales y Patología Oral, Departamento de Ciencias Odontostomatológicas, Universidad de Bolonia, Via San Vitale

después de su disolución (Horsted-Bindslev & Lovshall 2002, Desai & Chandler 2009, Mohammadi & Dummer 2011). Por desgracia, estos materiales son solubles y elevan el pH local con la formación de una capa necrótica en la interfaz del material de pulpa.

Dycal (Dentsply, Milford, DE, EE.UU.) (Dougherty 1962) es un material de fraguado automático (2,5-3,5 min) (Shen *et al.* 2010) a base de hidróxido de calcio radiopaco empleado en las intervenciones directas e indirectas de recubrimiento pulpar y como material de revestimiento en restauraciones, cementos

59, 40125 Bolonia, Italia (correo electrónico: mgiovanna.gandolfi@unibo.it).

y otros materiales de base. La alcalinidad de su pH (pH 9-11)

estimula la formación de dentina secundaria cuando el material se encuentra en contacto directo con la pulpa. Su toxicidad para las células de la pulpa está bien documentada (Furey *et al.* 2010, Shen *et al.* 2010).

Los cementos radiopacos Portland, frecuentemente denominados agregados de trióxido mineral (MTA) (como ProRoot MTA, MTA-Angelus, Tech Biosealer y otros), son materiales terapéuticos de silicato de calcio para reparaciones endodónticas que se introdujeron en un principio como cemento gris (Torabinejad & White 1995). Los cementos MTA presentan actividad conductora del tejido calcificado y favorecen la diferenciación de las células madre mesenquimatosas orofaciales humanas (Gandolfi *et al.* 2011a) y el proceso de mineralización de las células de la pulpa dental humana; también pueden utilizarse como material de recubrimiento pulpar (Min *et al.* 2009).

El cemento blanco ProRoot MTA (Dentsply, Johnson City, TN, EE. UU.) es bioactivo (Gandolfi *et al.* 2009, 2010a,b,c, 2011b,c, Taddei *et al.* 2009), biocompatible (Torabinejad & Parirokh 2010) y un cemento de silicato de calcio hidrófilo de fraguado automático (Gandolfi *et al.* 2008, Parirokh & Torabinejad 2010a) que actualmente se utiliza de forma satisfactoria para el recubrimiento pulpar directo (Tuna & Olmez 2008, Parirokh &

Torabinejad 2010b). El MTA es más eficaz y mejor que los materiales de hidróxido de calcio, ya que presenta mayor interacción con el tejido de la pulpa dental (Takita *et al.* 2006) con necrosis limitada del tejido de la pulpa (con menor efecto cáustico) poco después de su aplicación y provoca menor inflamación pulpar (Moghaddame-Jafari *et al.* 2005). El MTA favoreció la proliferación / diferenciación de las células de la pulpa dental humana (Takita *et al.* 2006 Sawicki *et al.* 2008) y mostró actividad conductora del tejido calcificado conductor con capacidad para estimular más y más rápido la formación completa de puentes de dentina y la formación de tejido duro nuevo (Moghaddame-Jafari *et al.* 2005, Bogen *et al.* 2008, Okiji & Yoshida 2009).

TheraCal (Bisco Inc, Schamburg, IL, EE.UU.) es un nuevo material de base / revestimiento relleno de silicato de calcio modificado con resina fotopolimerizable, diseñado con recubrimiento pulpar directo e indirecto, aproximadamente con un 45 % en peso de material mineral (cemento Portland de tipo III), un 10 % en peso de componente radiopaco, un 5 % en peso de sustancia hidrófila espesante (sílice pirogenada) y aproximadamente un 45 % de resina (Suh *et al.* 2008). La patente indicaba que la resina consta de un componente hidrófobo (que comprende monómeros hidrófobos) como dimetacrilato de uretano (UDMA), metacrilato de bisfenol A-

glicidilo (BisGMA), dimetacrilato de trietilenglicol (TriEDMA o TEGDMA) y un componente hidrófilo (que contiene monómeros hidrófilos) como metacrilato de hidroxietilo (HEMA) y dimetacrilato de polietilenglicol (PEGDMA) (Suh *et al.* 2008). TheraCal tiene buena capacidad de sellado (Suh *et al.* 2008) y fue bien tolerado por las células inmortales de odontoblastos (Hebling *et al.* 2009).

El objetivo de este estudio fue evaluar la liberación de calcio e iones hidroxilo, la profundidad de polimerización, la solubilidad, la absorción de agua y la radiopacidad de TheraCal en comparación con los materiales de recubrimiento pulpar de referencia (ProRoot MTA y Dycal).

## Materiales y métodos

### Materiales

TheraCal (Bisco Inc, lote. 603-189-A) consta de una única pasta que contiene CaO, partículas de silicato de calcio (cemento Portland de tipo III), vidrio sr, sílice pirogenada, sulfato de bario, circonato de bario y resina que contiene BisGMA y PEGDMA (Suh *et al.* 2008).

El cemento blanco ProRoot MTA (Dentsply, lote 09001920) está compuesto por cemento blanco Portland y óxido de bismuto (Parirokh & Torabinejad 2010a). ProRoot MTA se preparó siguiendo las instrucciones del fabricante con una proporción de polvo a líquido de 3:1. 1.

Dycal (Dentsply, lote 081007), un sistema de dos pastas elaborado a partir de una pasta base (1,3-butilenglicol disilicilato, óxido de cinc, fosfato de calcio, tungstato de calcio y pigmentos de óxido de hierro) y una pasta catalizadora (hidróxido de calcio, sulfonamida N-etil-o/p-tolueno, óxido de cinc, óxido de titanio, estearato de cinc, pigmentos de óxido de hierro) (Shen *et al.* 2010), se preparó siguiendo las instrucciones del fabricante mediante la mezcla de cantidades iguales de pasta catalizadora y pasta base.

### Prueba de liberación de iones hidroxilo (pH) e iones calcio (ppm)

Las diferentes pastas de cemento se compactaron en exceso en moldes de PVC (8 mm de diámetro y 1,6 mm de espesor).

Cada molde lleno se colocó en el fondo de un recipiente cilíndrico sellado con poliestireno (3 cm de alto y 4 cm de diámetro) en 10 ml de agua desionizada a 37 °C. El área de superficie expuesta de cada muestra fue  $50,24 \pm 0,01 \text{ mm}^2$  (superficie superior). Se recogió el agua almacenada (para los

análisis de Ca y pH) y se sustituyó después de 3 y 24 h, y 7, 14 y 28 días.

Se analizaron los iones calcio (ppm) e iones hidroxilo (pH) en agua desionizada con un agitador magnético utilizando un medidor de laboratorio multiparamétrico (inoLab 750 WTW, Weilheim, Alemania) conectado a una sonda de calcio (electrodo de ion calcio; Eutech instruments Pte Ltd, Singapur) o una sonda / electrodo para pH con compensación de temperatura (selectiva) (Sen Tix Sur WTW, Weilheim, Alemania).

Para la cuantización de calcio, se añadieron 0,200 ml (2 %) de 4 mol l<sup>-1</sup> KCl (ISA WTW, Weilheim, Alemania) a 10 ml de agua desionizada. Los resultados se registraron cuando los datos se habían estabilizado a la segunda cifra decimal

Solubilidad y absorción de agua: variación porcentual de peso (D %) después de almacenamiento en agua

Las diferentes pastas de cemento se compactaron en exceso en moldes de PVC (8 mm de diámetro y 1,6 mm de espesor). Las muestras ProRoot MTA y Dycal se fotopolimerizaron (a 37 °C y al 98 % de humedad relativa) durante un período igual al 70 % del tiempo de fraguado final, es decir, 2 min para Dycal y 117 min para ProRoot MTA (un período el 50 % más largo que el tiempo indicado por el fabricante, de acuerdo con la norma ISO 6876 cláusula 7.7.2. Materiales de sellado de conductos radiculares del diente) (ISO 6876 2002) y luego se retiraron del molde.

Las muestras TheraCal se fotopolimerizaron durante 20 s en ambas superficies mediante una lámpara LED (TLED elca, Anthos, Italia) de 1.700 mW cm<sup>-2</sup> a través de una tira de poliéster (Directa Matrix Strips; Directa AB, Upplands, Väsby, Suecia) y se retiraron del molde.

Cada muestra cilíndrica se colocó en un recipiente cilíndrico sellado con poliestireno (3 cm de alto y 4 cm de diámetro) en 20 ml de agua desionizada a 37 °C. La superficie inferior de las muestras no estaba en contacto con el recipiente, pues estaba inclinado, por lo que la toda la superficie de la muestra estaba en contacto con el agua. El área de la superficie expuesta de cada muestra fue 140,67 ± 0,01 mm<sup>2</sup> (superficie superior e inferior 2 (pr<sup>2</sup>) = 100,48 mm<sup>2</sup> y superficie lateral 2 prh = 40,19 mm<sup>2</sup>).

La solubilidad y la absorción de agua se evaluaron mediante determinación gravimétrica, como la variación de peso porcentual (D %), utilizando una balanza analítica (Bel Engineering series M, Monza, Italia, 0,001 g de precisión). Cada medición de peso se repitió tres veces. La solubilidad de los materiales se calculó utilizando el método descrito en la norma ISO 6876 (ISO 6876 2002).

Las muestras cilíndricas se pesaron antes de la inmersión en agua (peso inicial). Después de 24 h de remojo, las muestras se retiraron del agua desionizada y se secaron a 37 °C durante 48 h, es decir, hasta que el peso se mantuvo estable y luego se volvieron a pesar (peso en seco) y, finalmente, se desecharon. La solubilidad (variación de peso porcentual, DW %) se calculó de la siguiente manera:

Solubilidad  $\frac{100 - \text{Peso seco en el tiempo } t}{\text{Peso inicial}} \times 100$

Peso inicial 100

La solubilidad de los materiales de polimerización no debe exceder del 3 % de fracción de masa (ISO 6876 cláusula 4.3.6.). En el caso de la absorción de agua, las muestras se sumergieron en agua desionizada durante 24 h (peso húmedo) y transferidas en seco a 37 °C durante 48 h, es decir, hasta la estabilización del peso (peso seco). La absorción de agua se calculó de la siguiente manera:

Absorción de agua  $\frac{\text{Peso húmedo en el tiempo } t - \text{Peso seco en 24 h}}{\text{Peso seco a tiempo 24 h}} \times 100$

Peso seco en 24 h = Peso seco a tiempo 24 h 100

Profundidad de polimerización

La profundidad de polimerización (DOC) se evaluó según la norma ISO 4049 (ISO 4049 2000 Odontología - Materiales obturación, restauración y sellado a base de polímeros) (ISO 4049 2000).

Las muestras TheraCal se colocaron en un molde (4 mm de diámetro, 9 mm de espesor) y se polimerizaron durante 20 s en la superficie superior y se retiraron del molde. El material no polimerizado en la parte inferior se eliminó usando una espátula, y el espesor del material polimerizado se midió con un micrómetro digital (0,01 mm de precisión). La medición de cada muestra se repitió en tres posiciones diferentes, y estos datos se registraron como el valor medio. El requisito ISO 4049 sugiere una DOC >1,5 mm.

Radiopacidad

De acuerdo con la norma ISO 6876 (ISO 6876 cláusula 7.8 de Materiales para el sellado de conductos radiculares) (ISO 6876 2002), las muestras de fraguado (10 ± 0,1 mm de diámetro; 1,0 ± 0,1 mm de altura) se radiografiaron por completo utilizando una unidad radiográfica (Myray Cefla, Imola, Italia) con un penetrómetro de aluminio de referencia (60 mm de largo, 10 mm de ancho). Las condiciones operativas fueron las siguientes: 3 cm de distancia, 0,13 s de exposición a 70 KVp y 8 mA. La película (película dental Kodak Eastman Kodak Company, Carestream Health Inc., Rochester, Nueva York, NY, EE. UU.)

se procesó (programador automático, 4 min a 30 °C) y se escaneó. Los datos de la densidad radiográfica (intensidad del color) se convirtieron (software Image J) en espesor equivalente (mm Al) en el penetrómetro de aluminio. La norma ISO 6976 sugiere una radiopacidad de  $\pm 3$  mm Al.

#### Análisis estadístico

Los datos se presentan como media  $\pm$  desviación estándar. Los resultados de la liberación de Ca y OH se analizaron utilizando ANOVA bidireccional con medidas repetidas con Tukey.

Los datos sobre la solubilidad y absorción de agua se analizaron con ANOVA unidireccional con prueba de Tukey. Las diferentes letras mayúsculas de la tabla representan diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0,05$ ) en la misma línea, mientras que las diferentes letras minúsculas representan diferencias en la misma columna.

#### Resultados

TheraCal liberó una cantidad de calcio considerablemente mayor que ProRoot MTA o Dycal durante toda la prueba (tabla 1). La cantidad de calcio lixiviado disminuyó con el tiempo en todos los materiales. La liberación de calcio de ProRoot MTA fluctuó durante los primeros 3 días.

TheraCal pudo alcalinizar inicialmente el líquido circundante a un pH de 10-11 (3 h-3 días) y posteriormente a un pH de 8-8,5 (7-28 días). El pH del medio condicionado por ProRoot MTA fue considerablemente mayor que el de TheraCal o Dycal hasta 7 días. Dycal mantuvo el pH a un valor constante (pH aproximadamente 10) durante todo el período experimental (tabla 2), pero el pH de Dycal no fue estable y mostró una disminución significativa a los 7 y 14 días.

La solubilidad de TheraCal fue considerablemente menor que la de Dycal y ProRoot MTA (tabla 3). TheraCal absorbió considerablemente más agua que Dycal y considerablemente menos que ProRoot MTA (tabla 3).

Después de una irradiación durante 20 s, TheraCal se polimerizó a un espesor de aproximadamente 1,7 mm (tabla 3). La DOC de Dycal y ProRoot MTA no se comprobó, ya que no son materiales activados por la luz (ISO 4049, cláusula 7.10).

Dycal y TheraCal se mostraron débilmente radiopacos (tabla 3). ProRoot MTA presentó una radiopacidad homogénea dentro de las muestras (que muestran la mayor desviación estándar entre los materiales); sin embargo, solo el cemento ProRoot tenía una radiopacidad de acuerdo con la norma ISO 6876.

#### Discusión

El recubrimiento pulpar es el tratamiento de la pulpa vital expuesta mediante el sellado de la herida de la pulpa con un material dental para provocar una respuesta dentinogénica reparadora

Tabla 1 Prueba de liberación de iones calcio. TheraCal liberó estadísticamente más calcio que ProRoot MTA o Dycal durante toda la prueba.

El calcio (ppm) filtró agua de remojo (n = 10)

Material	3 h	1 día	3 días	7 días	14 días	28 días
TheraCal	74,74 ± 9,20 <sup>Aa</sup>	37,41 ± 4,54 <sup>Ba</sup>	25,18 ± 6,54 <sup>Ca</sup>	24,56 ± 1,96 <sup>Ca</sup>	24,13 ± 1,12 <sup>Ca</sup>	19,63 ± 3,06 <sup>Ca</sup>
Dycal	34,25 ± 9,74 <sup>Ab</sup>	14,76 ± 5,33 <sup>Bb</sup>	12,50 ± 1,40 <sup>Bb</sup>	12,83 ± 4,27 <sup>Bb</sup>	17,08 ± 0,81 <sup>Ba,b</sup>	12,93 ± 3,93 <sup>Bb</sup>
ProRoot MTA	32,21 ± 4,52 <sup>ABa</sup>	29,82 ± 3,51 <sup>Aa,b</sup>	35,44 ± 2,33 <sup>Bc</sup>	24,51 ± 3,85 <sup>Aa</sup>	14,32 ± 2,73 <sup>Cb</sup>	16,11 ± 2,94 <sup>Ca,b</sup>
Agua	1,66 ± 0,57 <sup>Ac</sup>	1,33 ± 0,57 <sup>Ac</sup>	1,33 ± 0,10 <sup>Ad</sup>	0,33 ± 0,57 <sup>Bc</sup>	0,24 ± 0,34 <sup>Bc</sup>	0,54 ± 0,21 <sup>Ac</sup>

Tabla 2 Prueba de liberación de iones OH. El pH del medio condicionado por ProRoot MTA fue estadísticamente mayor que el de TheraCal o Dycal hasta 7 días.

pH del agua de remojo (n = 10)

Material	3 h	1 día	3 días	7 días	14 días	28 días
TheraCal	10,96 ± 0,03 <sup>Aa</sup>	10,19 ± 0,24 <sup>Bb</sup>	9,28 ± 0,41 <sup>Ca</sup>	8,32 ± 0,06 <sup>Da</sup>	8,63 ± 0,15 <sup>Ea</sup>	8,04 ± 0,18 <sup>Da</sup>
Dycal	10,83 ± 0,44 <sup>Aa</sup>	10,99 ± 0,51 <sup>Ab</sup>	10,14 ± 0,28 <sup>A,Bb</sup>	9,60 ± 0,38 <sup>Bb</sup>	9,94 ± 0,16 <sup>Bb</sup>	10,25 ± 0,49 <sup>Ab</sup>
ProRoot MTA	11,52 ± 0,75 <sup>Ab</sup>	10,91 ± 0,13 <sup>Ab</sup>	11,52 ± 0,41 <sup>Ac</sup>	11,25 ± 0,82 <sup>Ac</sup>	7,84 ± 0,13 <sup>Bc</sup>	8,25 ± 0,24 <sup>Ba</sup>
Agua	6,88 ± 0,04 <sup>Ac</sup>	7,00 ± 0,02 <sup>Ac</sup>	7,07 ± 0,09 <sup>Ad</sup>	7,10 ± 0,10 <sup>Ad</sup>	6,96 ± 0,06 <sup>Ac</sup>	7,22 ± 0,12 <sup>Ac</sup>

Tabla 3 Solubilidad, absorción de agua, profundidad de polimerización, radiopacidad. La solubilidad de TheraCal fue muy baja, estadísticamente menor que la de Dycal y mucho menor que la de ProRoot MTA. TheraCal absorbió estadísticamente más agua que Dycal y estadísticamente menos que ProRoot MTA. Dycal y ProRoot no polimerizaron después de la fotopolimerización. TheraCal y ProRoot MTA mostraron menos radiopacidad que ProRoot MTA.

	Solubilidad (n = 10)	Absorción de agua (n = 10)	Profundidad de polimerización (mm, n = 3)	Radiopacidad (mm de Al, n = 6)
TheraCal	1,58 ± 0,35 <sup>a</sup>	10,42 ± 0,34 <sup>a</sup>	1,69 ± 0,04	1,07 ± 0,06 <sup>a</sup>
Dycal	4,58 ± 1,11 <sup>b</sup>	4,87 ± 0,61 <sup>b</sup>	–	2,30 ± 0,10 <sup>b</sup>
ProRoot MTA	18,34 ± 0,51 <sup>c</sup>	13,96 ± 3,92 <sup>c</sup>	–	4,34 ± 0,64 <sup>c</sup>

(Horsted-Bindslev & Lovshall 2002, Goldberg & Smith 2004, Desai & Chandler 2009, Modena *et al.* 2009) y es una de las modalidades de endodoncia más importantes para mantener la vitalidad de la pulpa dental. Un revestimiento debe actuar como barrera para proteger el complejo de la pulpa dental y provocar la formación de un nuevo puente de dentina o similar a la dentina entre la pulpa y el material restaurador.

La biodisponibilidad de los iones calcio (Ca) desempeña un papel clave en los diversos episodios biológicos de las células implicadas en la nueva formación de tejidos duros mineralizados. Los iones Ca estimulan la expresión de proteínas óseas mediadas por canales de calcio (Jung *et al.* 2010), y grandes cantidades de iones Ca podrían activar el  $\text{Ca}^{2+}$ , que desempeña un papel significativo en el proceso de mineralización (Torneck *et al.* 1983).

Los materiales liberadores de Ca aceleran la diferenciación de osteoblastos: una concentración de iones calcio de 2–4 mmol/l<sup>11</sup> (80–160 ppm) produjo un efecto estimulador sobre osteoblastos primarios de ratón, mientras que una diferenciación inducida de 6–8 mmol l<sup>11</sup> y >10 mmol l<sup>11</sup> mostró un efecto citotóxico (Maeno *et al.* 2005), por lo que se considera que la concentración de calcio extracelular normal es de aproximadamente 2 mmol/l<sup>11</sup> (80 ppm) (Clapham 1995).

Los iones Ca son necesarios para la diferenciación y la mineralización de células de la pulpa (Schröder 1985), y un medio de Carich provoca la proliferación y la diferenciación en células similares a odontoblastos (López-Cazaux *et al.* 2006). Los iones Ca eluidos aumentan la proliferación de las células de la pulpa dental humana de una manera dependiente de la dosis (Clapham 1995, Takita *et al.* 2006). Además, los iones Ca modulan específicamente los niveles de osteopontina y los niveles de proteína-2 morfogenética ósea durante la calcificación de la pulpa (Rashid *et al.* 2003), y la liberación de Ca aumenta la actividad de pirofosfatasa, que ayuda a mantener la mineralización de la dentina y la formación de un puente de dentina (Estrela & Holland 2003).

En estas condiciones, la liberación continua de iones Ca a partir de un material de recubrimiento pulpar es probablemente la razón principal de una proliferación inducida por el material y una diferenciación de células de la pulpa dental humana. Todos los materiales de recubrimiento pulpar probados en el presente estudio demostraron ser formulaciones liberadoras de calcio. De forma inesperada, TheraCal demostró ser un material de lixiviación de iones capaz de liberar iones calcio e hidroxilo durante un período de al menos 28 días, y liberó significativamente más calcio que ProRoot MTA o Dycal durante el tiempo de la prueba. Dycal liberó algunos iones calcio durante el período experimental de 28 días, de acuerdo con otros

estudios (Shubich *et al.* 1978, Tamburic *et al.* 1993), pero ProRoot MTA liberó considerablemente más iones calcio que Dycal durante todo el período experimental, de acuerdo con otros estudios (Takita *et al.* 2006). Sin embargo, es difícil comparar directamente los resultados de la liberación de calcio cuando los protocolos experimentales son diferentes. La elevada cantidad de calcio proporcionada por ProRoot MTA estaba en consonancia con otros estudios (Takita *et al.* 2006 Gandolfi *et al.* 2011d).

Se ha sugerido que el efecto positivo de los cementos MTA en la proliferación de las células de la pulpa dental humana se mejora potencialmente mediante la liberación continua y constante de iones calcio. Los componentes de elución, como los iones calcio (aproximadamente 0,3 mmol l<sup>11</sup>) a partir de MTA aumentaron la proliferación de células de la pulpa dental humana de una manera dependiente de la dosis, en comparación con Dycal y el control (Takita *et al.* 2006).

Curiosamente, en este estudio, la cantidad de iones calcio liberada por TheraCal estaba en los límites de la concentración con una posible actividad estimuladora de las células formadoras de hueso (Maeno *et al.* 2005), las células de la pulpa dental (Takita *et al.* 2006) y los odontoblastos (Rashid *et al.* 2003, Lopez-Cazaux *et al.* 2006).

Los resultados de este estudio sugieren que la porción de resina de TheraCal (que está formada por monómeros hidrófobos e hidrófilos) es capaz de promover / mantener la liberación de iones Ca y OH en la zona quirúrgica húmeda (en la pulpa dental y/o la dentina) y podría favorecer la interacción de la formulación con la dentina del diente hidrófila. Los resultados de la prueba de absorción de agua mostraron que la resina hidrófila en la formulación de TheraCal permite cierta absorción de agua que probablemente es la responsable de que se inicie la reacción de hidratación de las partículas de cemento Portland con posterior formación de portlandita o hidróxido de calcio. Recientemente se informó de la ocurrencia de sucesos fisicoquímicos similares en un material elaborado a base de MTA fotopolimerizable que contiene una resina anfifílica (Gandolfi *et al.* 2011d).

La capacidad de TheraCal y ProRoot MTA de liberar calcio y alcalinizar los líquidos circundantes se correlaciona con la formación de hidróxido de calcio  $\text{Ca(OH)}_2$  que se separa en iones calcio e hidroxilo, lo que genera una liberación de iones Ca y OH y un aumento del pH. El poder alcalinizante de un material de recubrimiento pulpar constituye una propiedad esencial para las diferentes propiedades biológicas alcalinas. La liberación de iones hidroxilo durante la reacción de hidratación crea un ambiente adverso para la supervivencia y la

proliferación bacteriana. Estas propiedades antibacterianas son necesarias principalmente en la interfase dentina / restauración cuando las bacterias residuales podrían aumentar aún más el riesgo de reinfección y caries secundaria, en especial cuando se utilizan materiales dentales compuestos que carecen de todo tipo de actividad antimicrobiana. Además, se sabe que el pH alcalino causa una reacción inflamatoria acompañada por la formación de dentina reparadora (Horsted-Bindslev y Lovshall 2002, Okiji y Yoshida 2009) y también favorece la formación de hidroxiapatita (Meyer & Eanes 1978, Lazic 1995).

La disminución de la liberación de iones hidroxilo por parte de TheraCal después de 7-14 días al acercarse al pH fisiológico puede crear un entorno favorable para la viabilidad y la actividad metabólica de las células de la pulpa con la formación de dentina terciaria nueva / reparadora.

Este estudio mostró que la liberación de iones Ca y OH de materiales de recubrimiento pulpar continuaría con el tiempo, y la acción de estos iones sobre tejido vital podría provocar el depósito de tejido duro y producir un efecto antibacteriano. La disociación química se produce en presencia de líquidos, y los iones calcio e hidroxilo libres disociados del hidróxido de calcio probablemente podrían penetrar en la dentina circundante (Tronstad *et al.* 1981, Hosoya *et al.* 2001). En una situación clínica, es posible especular que un ambiente / zona quirúrgica húmeda (presencia de exudados y líquido dentinario) puede mantener la constante de disociación debido a la existencia de líquido en contacto con el material.

Uno de los principales inconvenientes de la autopolimerización tradicional de materiales basados en  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  y  $\text{CaO}$  es la elevada solubilidad y disolución en el tiempo (en el plazo de 1-2 años después de la aplicación) en los líquidos tisulares. Esto conduce a la desaparición del material y a la formación de defectos / permeabilidades en el túnel de la dentina reparadora por debajo del recubrimiento y, por tanto, a no proporcionar un sellado permanente frente a la invasión bacteriana (Horsted-Bindslev y Lovshall 2002, Desai y Chandler 2009). En este estudio, TheraCal mostró valores de baja solubilidad, mientras que la elevada solubilidad de ProRoot MTA estuvo probablemente más relacionada con el largo tiempo de fraguado, con la consiguiente desintegración de material no fraguado, que con la verdadera solubilidad.

La definición de solubilidad de la ISO es objeto de crítica, ya que la prueba mide la elución de material soluble en agua. La definición fisicoquímica de solubilidad de un sólido implica una situación en la cual un compuesto químico puro mantiene un equilibrio termodinámico con su solución, pero un cemento dental no alcanza el equilibrio (Wilson 1976).

Además, las pruebas ISO (ISO 6876 cláusula 7.7.2.) no son ideales, puesto que a menudo los métodos para llevar a cabo la

prueba son diferentes de la situación clínica y los resultados obtenidos están lejos de los resultados clínicos. Lo anterior lo ratifica que la elevada solubilidad de ProRoot MTA no es coherente con sus excelentes actuaciones clínicas.

Por desgracia, falta una norma y métodos de ensayo internacionales tanto para los cementos de tipo MTA de silicato de calcio convencionales como para los modificados con resina. Otros autores también han mencionado esta carencia (Nekoofar *et al.* 2007). Se necesita una norma establecida para los materiales antes mencionados en relación con su aplicación clínica específica (materiales de relleno del extremo de la raíz, selladores endodónticos, materiales de recubrimiento pulpar, etc.). Las pruebas sugeridas en las especificaciones disponibles a menudo no son apropiadas o son inviables e inaplicables a los materiales MTA.

Para la prueba de solubilidad se recurrió a la ISO 6876 para materiales para el sellado de conductos radiculares (ISO 6876 cláusula 7.7.2.), ya que se utiliza frecuentemente para los materiales MTA. Sin embargo, esta especificación se ha concebido y se refiere a «materiales de sellado del conducto radicular que fraguan con o sin la ayuda de la humedad y se utilizan para la obturación permanente del canal radicular ... solo aplicables a los selladores destinados a un uso ortógrado, es decir, al relleno de la raíz colocado desde la superficie coronal de un diente» (ISO 6876 coma 1). No se refiere específicamente a los materiales de recubrimiento pulpar y no cumple la prueba de las condiciones clínicas efectivas como el fraguado en presencia de líquidos biológicos.

ISO 4049 Odontología - Los materiales de restauración a base de polímeros se refieren / tratan de materiales «para su uso en la cementación o fijación de reparaciones y aparatos como implantes, recubrimientos, carillas, corona y puentes» e incluye materiales de fijación de la clase 1 (autopolimerización), clase 2 (activado por energía externa) o de clase 3 (materiales de polimerización dual). Sin embargo, algunas pruebas sugeridas son inadecuadas para materiales MTA, como la prueba de absorción de agua y la prueba de solubilidad (cláusula 7.12.2.1 para materiales de clase 1) que sugieren utilizar muestras después de 60 minutos a 37 °C, es decir, muestras de MTA completamente secas con una alteración segura de las reacciones de hidratación, fraguado y endurecimiento que requieren varias horas y humedad.

ISO 9917 Odontología - Los cementos a base de agua se refieren a cemento «para su uso como sustancia de cementación, base o revestimiento, o como material de reparación» (cláusula 1), pero no incluye las especificaciones para muchas pruebas, como las de solubilidad o absorción de agua.

ProRoot MTA es un cemento a base de agua, y Dycal es un cemento a base de polímero, aunque ambos son materiales de

clase 1, es decir, «materiales en que la reacción de fraguado del componente polimerizable se activa químicamente después de mezclar los componentes» (ISO 9917 parte 2, cláusula 4.1.). TheraCal es un material MTA modificado con resina y un material de clase 2 «en el cual la reacción de fraguado del componente polimerizable es activado por la luz» (ISO 9917 parte 2, cláusula 4.1.). Por desgracia, no existen especificaciones estándares apropiadas para la prueba de absorción de agua y para la prueba de solubilidad de los materiales de recubrimiento pulpar hidrófilos que liberan hidróxido de calcio. La ISO 9917 sobre cementos a base de agua no incluye estas pruebas y la ISO 4049 sobre materiales de reparación a base de polímeros no tienen en cuenta los materiales hidrófilos que requieren agua o humedad para fraguar y/o necesitan absorber agua para liberar iones bioactivos como ocurre con los cementos estudiados. Por este motivo, la ISO 6876 se ha seguido en parte por las pruebas de solubilidad y absorción de agua, de acuerdo con estudios anteriores sobre ProRoot MTA (Danesh *et al.* 2006, Islam *et al.* 2006). La solubilidad después de 24 h de remojo se ensayó, de acuerdo con la ISO 6876 y con los estudios anteriores sobre ProRoot MTA (Danesh *et al.* 2006, Islam *et al.* 2006 Gandolfi *et al.* 2011d) y Dycal (Shen *et al.* 2010).

Se han introducido algunas modificaciones en la metodología de la norma ISO 6876, debido a la diferente tipología de los materiales de prueba. En este estudio, el diámetro interno del molde (8 mm, en lugar de 15 mm) fue el mismo diámetro que el de la punta de luz LED, de manera que se expuso toda la superficie de la muestra. Además, la pérdida de peso de las muestras de la prueba en lugar del material desintegrado recuperado en los recipientes de remojo se tuvo en cuenta o se registró de acuerdo con estudios anteriores (Danesh *et al.* 2006 Gandolfi *et al.* 2011d) y con la norma ISO 4049. Finalmente, como en el recubrimiento pulpar directo, el mayor riesgo de disolución de Dycal y, sobre todo, de ProRoot MTA tiene lugar durante las primeras horas, antes de que se hayan completado el fraguado y el endurecimiento, y las muestras se hayan sumergido unos minutos después de su preparación.

No existen especificaciones adecuadas para poner a prueba la radiopacidad de los materiales a base de MTA que liberan hidróxido de calcio hidrófilo. Los datos de radiopacidad no coinciden con el requisito de la norma ISO 6876 (Materiales para el sellado de conductos radiculares) de una radiopacidad de  $\geq 3$  mm de Al; sin embargo, los datos de todos los materiales cumplen la norma ISO 9917 punto 5.6. (Cementos a base de agua - Cementos modificados con resina) sobre materiales de fijación y materiales de base / revestimiento, a saber, la radiopacidad «será igual o superior que la del mismo espesor del aluminio». Estudios anteriores utilizan la norma ISO 6876 para probar la radiopacidad de ProRoot MTA (Danesh *et al.* 2006).

Los resultados sobre la radiopacidad de ProRoot MTA y Dycal fueron similares a los descritos en estudios anteriores (Danesh *et al.* 2006 Devito *et al.* 2006 Pekkan *et al.* 2011). El fabricante no indica ningunos valores de radiopacidad en la ficha técnica de los productos.

Otro grave inconveniente de los materiales de recubrimiento pulpar de  $\text{Ca(OH)}_2$  y  $\text{CaO}$  es la incapacidad de fraguado en presencia de sangre y otros líquidos biológicos con problemas operativos / clínicos relacionados. Por tanto, la posibilidad del material de recubrimiento pulpar fotopolimerizable es una potencial ventaja importante para los médicos. TheraCal fragua después de una fotopolimerización de 20 s con una DOC de aproximadamente 2 mm para alcanzar rápidamente sus propiedades físicas.

La capacidad de liberar iones biológicamente activos (biointeractividad) es un requisito previo para que un material sea bioactivo y desencadene la formación de apatita. Estudios previos mostraron la formación de apatita en la superficie de los cementos MTA de silicato de calcio cuando se sumergen en soluciones que contienen fosfato (Gandolfi *et al.* 2010a, b, c, 2011a, d). La formación de apatita ofrece muchas ventajas, como la exposición de una superficie adecuada para las células (Gandolfi *et al.* 2010d, 2011a, d), y puede provocar que las células de tipo odontoblasto produzcan nuevo tejido dentinario y remineralicen la dentina adyacente mediante el depósito de cristales de apatita (Tay y Pashley 2008, Gandolfi *et al.* 2011e, Prati *et al.* 2011). Se ha obtenido evidencia preliminar alentadora sobre la formación de apatita en TheraCal, así como en ProRoot MTA y Dycal: los iones fosfato de líquidos biológicos (sangre, exudado, plasma, líquido dentinario) pueden reaccionar a los iones  $\text{Ca}$  y  $\text{OH}$  lixiviados de los materiales y desencadenar la precipitación de cristales de apatita.

## Conclusiones

TheraCal es un nuevo material de recubrimiento pulpar fotopolimerizable capaz de liberar iones calcio y crear un pH ambiental cercano al pH fisiológico después de 7 días. Su capacidad de polimerización a una profundidad de 1,7 mm puede evitar el riesgo de disolución prematura. La capacidad de TheraCal de proporcionar iones calcio libres podría favorecer la formación de apatita y provocar la diferenciación de los odontoblastos con la formación de nueva dentina.

## Bibliografía

Bogen G, Kim JS, Bakland LK (2008) Direct pulp capping with mineral trioxide aggregate. An

- Observational Study. *Journal of American Dental Association* 139, 305–15.
- Clapham DE (1995) Calcium signaling. *Cell* 80, 259–68.
- Danesh G, Dammaschke T, Gerth HUV, Zandbiglari T, Schafer E (2006) A comparative study of selected properties of ProRoot mineral trioxide aggregate and two Portland cements. *International Endodontic Journal* 39, 213–9.
- Desai S, Chandler N (2009) Calcium hydroxide-based root canal sealers: a review. *Journal of Endodontics* 39, 415–22.
- Devito LK, Ortega AI, Haiteir-Neto F (2006) Effect of the storage in water on the radiopacity of calcium hydroxide cements. *Brazilian Journal of Oral Sciences* 5, 958–62.
- Dougherty EW (1962) Dental cement material. US patent 3047408.
- Estrela C, Holland R (2003) Calcium hydroxide study based on scientific evidences. *Journal of Applied Oral Sciences* 11, 269–82.
- European Society of Endodontology (2006) Quality guidelines for endodontic treatment: consensus report of the European Society of Endodontology. *International Endodontic Journal* 39, 921–30.
- Furey A, Hjeltnhaug J, Lobner D (2010) Toxicity of Flow Line, Durafill VS, and Dycal to dental pulp cells: effects of growth factors. *Journal of Endodontics* 36, 1149–53.
- Gandolfi MG, Pagani S, Perut F, Ciapetti G, Baldini N, Prati C (2008) Innovative silicate-based cements for endodontics: a study of osteoblast-like cell response. *Journal of Biomedical Materials Research* 86(A), 477–86.
- Gandolfi MG, Ciapetti G, Perut F et al. (2009) Biomimetic calcium-silicate cements aged in simulated body solutions. Osteoblasts response and analyses of apatite coating. *Journal of Applied Biomaterials and Biomechanics* 7, 160–70.
- Gandolfi MG, Taddei P, Tinti A, Prati C (2010a) Apatite-forming ability of ProRoot MTA. *International Endodontic Journal* 43, 917–29.
- Gandolfi MG, Van Landuyt K, Taddei P, Modena E, Van Meerbeek B, Prati C (2010b) ESEM-EDX and Raman techniques to study ProRoot MTA and calcium-silicate cements in wet conditions and in real-time. *Journal of Endodontics* 36, 851–7.
- Gandolfi MG, Taddei P, Tinti A, Dorigo De Stefano E, Rossi PL, Prati C (2010c) Kinetics of apatite formation on a calcium-silicate cement for root-end filling during ageing in physiological-like phosphate solutions. *Clinical Oral Investigations* 14, 659–68.
- Gandolfi MG, Ciapetti G, Taddei P et al. (2010d) Effect of ageing on bioactivity and in vitro biological properties of calcium-silicate cements for dentistry. *Dental Materials* 26, 974–92.
- Gandolfi MG, Shah SN, Feng R, Prati C, Akintoye SO (2011a) Biomimetic calcium-silicate cements support differentiation of human orofacial bone marrow stromal cells. *Journal of Endodontics* 37, 1102–8.
- Gandolfi MG, Taddei P, Siboni F, Modena E, Ginebra MP, Prati C (2011b) Fluoride-containing nanoporous calcium-silicate MTA cements for endodontics and oral surgery: early fluorapatite formation in a phosphate-containing solution. *International Endodontic Journal* 44, 938–49.
- Gandolfi MG, Taddei P, Tinti A, De Stefano Dorigo E, Prati C (2011c) Alpha-TCP improves the apatite-formation ability of calcium-silicate hydraulic cement soaked in phosphate solutions. *Materials Science Engineering C* 31, 1412–22.
- Gandolfi MG, Taddei P, Siboni F, Modena E, Ciapetti G, Prati C (2011d) Development of the foremost light-curable calcium-silicate MTA cements root-end in oral surgery. Chemical–physical properties, bioactivity and biological behaviour. *Dental Materials* 27, e134–57.
- Gandolfi MG, Taddei P, Siboni F, Modena E, Prati C (2011e) Biomimetic remineralization of human dentine using promising innovative calcium-silicates hybrid “smart” materials. *Dental Materials* 27, 1055–69.
- Goldberg M, Smith AJ (2004) Cells and extracellular matrices of dentin and pulp/a biological basis for repair and tissue engineering. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine* 15, 13–27.
- Hebling J, Lessa FCR, Nogueira I, Carvalho RM, de Souza Costa CA (2009) Cytotoxicity of resin-based light-cures liner cements. *Journal of Dental Research* 87B, 470.
- Horsted-Bindslev P, Lovshall H (2002) Treatment outcome of vital pulp treatment. *Endodontic Topics* 2, 24–34.
- Hosoya N, Takahashi G, Arai T, Nakamura J (2001) Calcium concentration and pH of the periapical environment after applying calcium hydroxide into root canals in vitro. *Journal of Endodontics* 27, 343–6.
- Islam I, Chng HK, Yap AUJ (2006) Comparison of the physical and mechanical properties of MTA and Portland cement. *Journal of Endodontics* 32, 193–7.
- ISO 4049 (2000) Dentistry-polymer-based filling, restorative and luting materials. Geneva: International Organization for Standardization ISO 4049.
- ISO 6876 (2002) Dental root canal sealing materials. Geneva: International Organization for Standardization ISO 6876.
- Jung GY, Park YJ, Han JS (2010) Effects of HA released calcium ion on osteoblast differentiation. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 21, 1649–54.
- Lazic S (1995) Microcrystalline hydroxyapatite formation from alkaline solutions. *Journal Crystal Growth* 147, 147–54.
- Lopez-Cazaux S, Bluteau G, Magne D, Lieubeau B, Guicheux J, Alliot-Licht B (2006) Culture medium modulates the behaviour of human dental pulp-derived cells: technical note. *European Cells & Materials Journal* 11, 35–42.
- Maeno S, Niki Y, Matsumoto H et al. (2005) The effect of calcium ion concentration on osteoblast viability, proliferation and differentiation in monolayer and 3D culture. *Biomaterials*, 26, 4847–55.
- Meyer JL, Eanes ED (1978) A thermodynamic analysis of the amorphous to crystalline calcium phosphate transformation. *Calcified Tissue Research* 25, 59–68.
- Min KS, Lee SI, Lee Y, Kim EC (2009) Effect of radiopaque Portland cement on mineralization in human dental pulp cells. *Oral Surgery*

- Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontology 108, e82–6.
- Modena KC, Casas-Apayco LC, Atta MT *et al.* (2009) Cytotoxicity and biocompatibility of direct and indirect pulp capping materials. *Journal of Applied Oral Science* 17, 544–54.
- Moghaddame-Jafari S, Mantellini MG, Botero TM, McDonald NJ, Noor JE (2005) Effect of ProRoot MTA on pulp cell apoptosis and proliferation *in vitro*. *Journal of Endodontics* 31, 387–91.
- Mohammadi Z, Dummer PMH (2011) Properties and applications of calcium hydroxide in endodontics and dental traumatology. *International Endodontic Journal* 40, 697–730. Nekoofar MH, Adusei G, Sheykhrezae MS, Hayes SJ, Bryant ST, Dummer PMH (2007) The effect of condensation pressure on selected physical properties of mineral trioxide aggregate.
- International Endodontic Journal* 40, 453–61.
- Okiji T, Yoshida K (2009) Reparative dentinogenesis induced by mineral trioxide aggregate: a review from the biological and physicochemical points of view. *International Journal of Dentistry* 2009, 1–12.
- Parirokh M, Torabinejad M (2010a) Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review-Part I: chemical, physical, and antibacterial properties. *Journal of Endodontics* 36, 16–27.
- Parirokh M, Torabinejad M (2010b) Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review-Part III: clinical applications, drawbacks, and mechanism of action. *Journal of Endodontics* 36, 400–13.
- Pekkan G, Saridag S, Beriat NC (2011) Evaluation of the radiopacity of some luting, lining and filling dental cements. *Clinical Dentistry and Research* 35, 2–9.
- Prati C, Parrilli AP, Fini M, Dummer PMH, Gandolfi MG (2011) Interface porosity of human root canals sealed with a new flowable MTA-based sealer: a high-resolution microcomputed tomography study. *International Endodontic Journal* 44, 28.
- Rashid F, Shiba H, Mizuno N *et al.* (2003) The effect of extracellular calcium ion on gene expression of bone-related proteins in human pulp cells. *Journal of Endodontics* 29, 104–7. Sawicki L, Pameijer CH, Emerich K, Adamowicz-Klepalska B (2008) Histological evaluation of mineral trioxide aggregate and calcium hydroxide in direct pulp capping of human immature permanent teeth. *American Journal of Dentistry* 21, 262–6.
- Schroeder U (1985) Effects of calcium hydroxide-containing pulp-capping agents on pulp cell migration, proliferation, and differentiation. *Journal of Dental Research* 64, 541–8.
- Shen Q, Sun J, Wu J, Liu C, Chen F (2010) An *in vitro* investigation of the mechanical-chemical and biological properties of calcium phosphate/calcium silicate/bismutite cement for dental pulp capping. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* 94, 141–8.
- Shubich I, Miklos FL, Rapp R, Draus FJ (1978) Release of calcium ions from pulp-capping materials. *Journal of Endodontics* 4, 242–4.
- Suh B, Cannon M, Yin R, Martin D (2008) Polymerizable dental pulp healing, capping, and lining material and method for use. *International Patent* A61K33/42; A61K33/42 Application number WO2008US54387 20080220; Publication number WO2008103712 (A2); Publication date 2008-08-28.
- Taddei P, Tinti A, Gandolfi MG, Rossi PL, Prati C (2009) Ageing of calcium silicate cements for endodontic use in simulated body fluids: a micro-Raman study. *Journal of Raman Spectroscopy* 40, 1858–66.
- Takita T, Hayashi M, Takeichi O *et al.* (2006) Effect of mineral trioxide aggregate on proliferation of cultured human dental pulp cells. *International Endodontic Journal* 39, 415–22.
- Tamburic SD, Vuleta GM, Ognjanovic JM (1993) *In vitro* release of calcium and hydroxyl ions from two types of calcium hydroxide preparation. *International Endodontic Journal* 26, 125–30.
- Tay FR, Pashley DH (2008) Guided tissue remineralisation of partially demineralised human dentine. *Biomaterials* 29, 1127–37.
- Torabinejad M, Parirokh M (2010) Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review 2013 part ii: leakage and biocompatibility investigations. *Journal of Endodontics* 36, 190–202.
- Torabinejad M, White DJ (1995) US Patent Number 5,769,638.
- Torneck CD, Moe H, Howley TP (1983) The effect of calcium hydroxide on porcine pulp fibroblasts *in vitro*. *Journal of Endodontics* 9, 131–6.
- Tronstad L, Andreason JO, Hasselgren G, Kristerson L, Riis I (1981) pH changes in dental tissues after root canal filling with calcium hydroxide. *Journal of Endodontics* 7, 17–21.
- Tuna D, Olmez A (2008) Clinical long-term evaluation of MTA as a direct pulp capping material in primary teeth. *International Endodontic Journal* 41, 273–8.
- Wilson AD (1976) Specification test for the solubility and disintegration of dental cements: a critical evaluation of its meaning. *Journal of Dental Research* 55, 721–9.