Difusión del ion calcio a través de la dentina de cinco vehículos asociados al hidróxido de calcio

Avellaneda P.*/Martínez P.**/Rozo C.**

RESUMEN

Propósito: *Cuantificar la cantidad de ion calcio liberado a 1, 3 y 8 días a través de los túbulos dentinales de cinco vehículos asociados al hidróxido de calcio en dientes premolares unirradiculares recién extraídos.* ***Materiales y Método:*** *Estudio experimental in-Vitro. Se seleccionaron 50 dientes recién extraídos, decoronados dejando una longitud de 14mm. La instrumentación se realizó con limas NiTi TEE® Sendoline con técnica Crown-Down y se llenó el conducto con hidróxido de calcio mezclado con el vehículo en forma aleatorizada así: Grupo 1: 10 especímenes con anestesia con epinefrina; Grupo 2: 10 especímenes con anestesia sin epinefrina; Grupo 3: 10 especímenes con solución salina; Grupo 4: 10 especímenes con agua destilada; Grupo 5: 10 especímenes con clorhexidina. Utilizando el método clorimétrico espectrofotómetrico directo a 1, 3 y 8 días. Para el análisis estadístico se utilizó el Test de ANOVA multifactorial p≤ 0.05.* ***Resultados:*** *No hubo diferencia estadísticamente significativa cuando se ajustaron los grupos al primer y tercer día y cuando se ajustaron los tiempos a la solución anestésica con y sin epinefrina, agua destilada y clorhexidina al 1, 3, y 8 días. Hubo diferencia estadísticamente significativa cuando se ajustaron los grupos al octavo día y cuando se ajustaron los tiempos a la solución salina.* ***Conclusiones:*** *La difusión del ion calcio a través de la dentina ajustando los vehículos en el primer y tercer día no fue estadísticamente significante, sin embargo a los ocho días fue estadísticamente significante. La solución salina en los diferentes periodos de tiempo fue estadísticamente significante. La solución anestésica con y sin epinefrina reveló un aumento en la liberación de ion calcio a través del tiempo, a pesar de no ser estadísticamente significante.*

Palabras Claves: *Hidróxido de Calcio, Liberación Ion Calcio, Medicamento Intraconducto.*

ABSTRACT

Aim: *To quantify the amount of calcium ion diffusion through the dentinal tubules at 1, 3 and 8 days with five vehicles associated to calcium hydroxide in newly extracted single-root premolar teeth.* ***Materials and Method:*** *50 extracted human teeth were selected, their crowns were cut horizontally at the CEJ level, leaving a 14mm length. The instrumentation was performed by a Crown-Down technique with NiTi TEE® Sendoline rotary files. The canals were filled with a Ca(OH)2 mixed with the vehicles in a randomized form thus: Group 1: 10 teeth filled with Ca(OH)2 and anesthesia with epinephrine; Group 2: 10 teeth filled with Ca(OH)2 and anesthesia without epinephrine; Group 3: 10 teeth with Ca(OH)2 and saline solution; Group 4: 10 teeth filled with Ca(OH)2 and distilled water; Group 5: 10 teeth filled with Ca(OH)2 and clorhexidine. Using the direct colorimetric spectrofotometric method to 1, 3 and 8 days. For the statistical analysis the multifactor Test of ANOVA was used p≤ 0.05.* ***Results:*** *There were no statistically significant differences when the groups were adjusted to the first and third day and when the times were adjusted to the anesthetic solution with and without epinephrine, distilled water and clorhexidine at 1, 3, and 8 days. There was statistically significant differences when the groups were adjusted to the eighth day and when the times were adjusted to the saline solution.* ***Conclusions:*** *The calcium ion diffusion through the dentine of the five vehicles in first and the third day was not statistically significant, nevertheless at the eigth day there was statistically significant differences. The saline solution in the different periods of time was statistically significant. The anesthetic solution with and without epinephrine revealed an increase in the liberation of calcium ion through time, in spite of not being statistically significant.*

Key words: *Calcium hydroxide, Calcium Ion Liberation, Intracanal Medication.*

* Odontóloga Especialista en Endodoncia y Docencia Universitaria.

** Odontóloga, Residente de Endodoncia.
Correspondencia: dirinvestigación@odontologico.edu.co

INTRODUCCIÓN

El éxito del tratamiento endodóntico depende de la remoción de las bacterias del conducto radicular, debido a que las bacterias invaden los túbulos dentinales, las ramificaciones del conducto radicular y delta apicales, siendo así responsable de la persistencia de la infección endodóntica.[1] El tratamiento endodóntico está dirigido esencialmente hacia la prevención y control de infecciones perirradiculares y pulpares.[2] Dada la relevancia de microorganismos para la patogénesis de lesiones perirradiculares, es claro que el resultado de la terapia endodóntica dependa de su reducción o eliminación. La completa preparación químico mecánica del conducto radicular puede ser considerada un paso esencial en la desinfección.[3,4] Sin embargo, la eliminación total de las bacterias es difícil de llevar a cabo.[1,5] Por tal motivo, la irrigación con agentes antimicrobiales y el medicamento intraconducto Hidróxido de Calcio,[6,7] son usados con el propósito de eliminar las bacterias sobrevivientes.[8,9] El hidróxido de calcio fue introducido por Herman en 1920 para tratamiento y llenado del conducto raducular. Este fue comúnmente utilizado en la odontología Escandinava en los años 50s como medio de recubrimiento pulpar basados en las investigaciones de Nyborg en 1955.[10] Más tarde fue empíricamente utilizado en tratamiento del conducto radicular. En investigaciones clínicas realizadas por Bystrom y col. 1985, Safavi y col. 1985[11,12] mostraron que el Ca(OH)2 comparado con otras sustancias presentó un comportamiento superior y en el estudio de Gambarini 1991[13] se observó que es bien tolerado por los pacientes. El efecto benéfico del Ca(OH)2 ha sido relacionado a la disolución de ácidos grasos de la membrana celular de las bacterias Gram (-) por el ion Ca2+e Iones hidroxil (OH)),[14,15] la inactivación de la endotoxina bacterial[16] y por el daño del DNA bacterial.[17]

EL Hidróxido de Calcio es una sustancia fuertemente alcalina, la cual tiene un Ph de aproximadamente 12,5.[18,19] En una solución acuosa, el Hidróxido de Calcio se disocia en iones calcio e hidroxilo y puede difundirse a través de los túbulos dentinales hasta llegar a la región afectada,[8,19,20,21,22,23,24] cambiando el Ph ácido a Ph alcalino. Varias propiedades biológicas han sido atribuidas a esta sustancia, tales como actividad antimicrobial, habilidad para disolver tejidos, inhibición de reabsorción dental e inducción de reparación por formación de tejidos duro.[25,26,27,28,29] La presencia de iones calcio produce incremento en la síntesis de ADN favoreciendo la proliferación celular y permitiendo la activación de ATP, importante en los procesos de mineralización de la dentina o del hueso. Adicionalmente actúa como barrera física previniendo la reinfección del conducto radicular e interrumpiendo el suplemento de nutrientes a las bacterias.[30]

El hidróxido de calcio se mezcla con una sustancia que actúa como vehículo formando una pasta, con el fin de mejorar su propiedad antibacterial, radiopacidad, fluidez y consistencia.[31] El vehículo puede facilitar o inhibir la dispersión iónica desde la pasta, produciendo una liberación iónica rápida o prolongada.[32,33,34,35] El tipo más común y efectivo de hidróxido de calcio es la suspensión.[36,37] A pesar de su buen efecto antimicrobial[11,17,38,39] presenta problema en su distribución a través de todo el conducto radicular.[40,41]

Esto hace que la cuantificación de ion calcio liberado a través de los túbulos dentinales por el hidróxido de calcio asociado a diferentes vehículos utilizados en la práctica clínica como son la solución anestésica con y sin epinefrina, solución salina, agua destilada y clorhexidina, determina su elección para la toma de decisiones del procedimiento clínico donde se requiere liberación rápida de iones y neutralización del pH en el área y con liberación lenta de iones, logrando tratamientos más efectivos que mejoren el pronóstico de estos dientes.

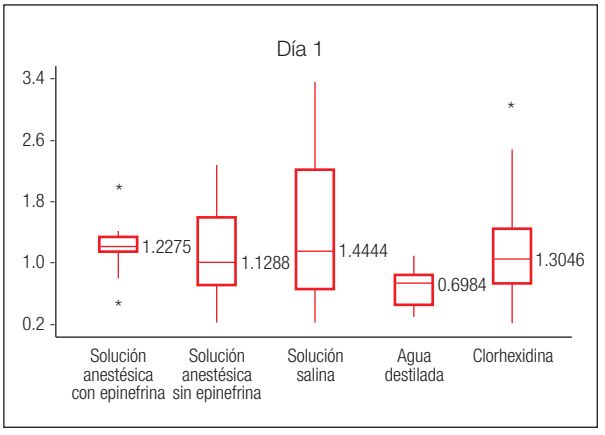
Por tal razón se plantea la hipótesis nula donde no existe diferencia estadística significativa en la cantidad de difusión de ion Ca liberado a través de la dentina con cinco vehículos asociados al hidróxido de calcio a los 1, 3 y 8 días y una hipótesis alterna donde existe diferencia estadística significativa en la cantidad de difusión de ion Ca liberada a través de la dentina con cinco vehículos asociados al hidróxido de calcio a 1, 3 y 8 días.

El propósito de este estudio fue cuantificar la cantidad de ion calcio liberado a través de los túbulos dentinales por cinco vehículos asociados al hidróxido de calcio en dientes premolares unirradiculares a 1, 3 y 8 días.

MATERIALES Y MÉTODOS

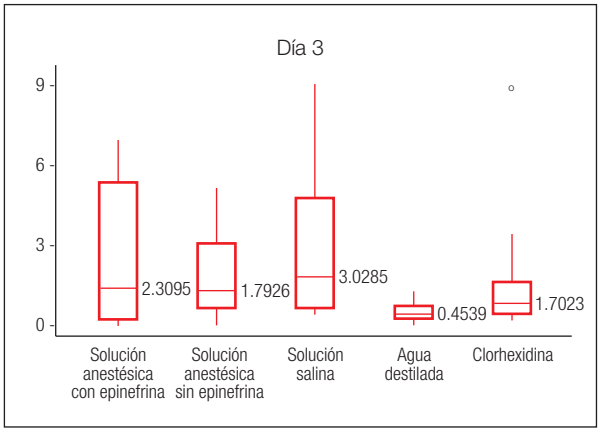
Este estudio es experimental in vitro Fase I. Fue sometido al Comité Institucional de Ética para evaluar el consentimiento informado clasificado como Sin Riesgo, según la categoría de riesgo establecida en el artículo 11 de la Resolución 8430 de 1993 del Ministerio De Salud De Colombia. Se seleccionaron 50 dientes premolares unirradiculares recién extraídos con los siguientes criterios de elegibilidad: extraídos con fines ortodónticos, con formación radicular completa y conductos viables, que no presentaran dilaceración marcada ni previa preparación del conducto.

Los dientes fueron sumergidos en hipoclorito de sodio al 5.25% para retirar el tejido remanente; pos-



P=0.1535

Gráfica 1
Concentración del ion calcio para cada vehículo en el primer día.



P=0.1286

Gráfica 2
Concentración del ion calcio para cada vehículo al tercer día.

Tabla 1
Análisis de varianza de la concentración de ion calcio para cada vehículo al primer día

	Media	Desviación estándar
Solución anestésica con epinefrina	1.2275	0.3947
Solución anestésica sin epinefrina	1.1288	0.6236
Solución salina	1.4444	0.9586
Agua destilada	0.6984	0.2541
Clorhexidina	1.3046	0.8642

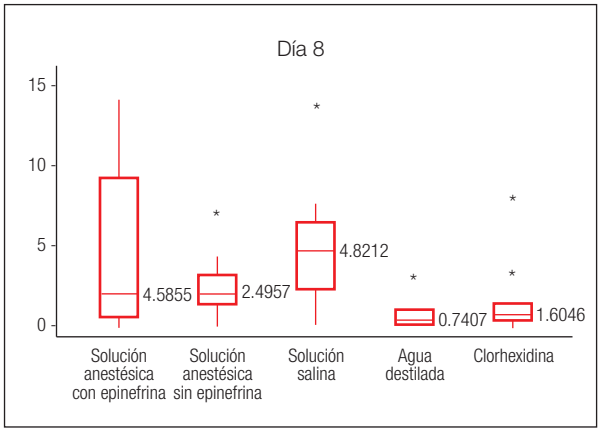
Tabla 2
Análisis de varianza de la concentración de ion calcio para cada vehículo al tercer día

	Media	Desviación estándar
Solución anestésica con epinefrina	1.2275	0.3947
Solución anestésica sin epinefrina	1.1288	0.6236
Solución salina	1.4444	0.9586
Agua destilada	0.6984	0.2541
Clorhexidina	1.3046	0.8642

teriormente se dejaron en formalina al 10%. Los dientes se decoronaron a nivel de la unión amelocemental con un disco de carburo dejando una longitud aproximada de 14mm. La viabilidad del conducto se determinó con una lima K No. 15 Maillefer®. 6 dientes se descartaron por no cumplir los criterios de inclusión. Seguidamente los conductos se prepararon biomecánicamente con limas NiTi TEE® (Sendoline) con técnica Crown-Down, irrigando copiosamente entre lima y lima con NaOCl al 5.25% y EDTA, como paso final se utilizó ácido cítrico al 10% pasando una lima ultrasónica #25 Enac® (Osada) e irrigando nuevamente con agua destilada como lavado final. Los conductos se secaron con puntas de papel y se asignaron aleatoriamente conformando cinco grupos de acuerdo al llenado del espacio del conducto radicular con Hidróxido de Calcio mezclado con cada uno de los vehículos, así: Grupo 1: 10 dientes con anestesia con epinefrina (Lidocaina 2%. New Stetic); Grupo 2: 10 dientes con anestesia sin epinefrina (Citanest. New Stetic); Grupo 3: 10 dientes con solución salina (Corpaul); Grupo 4: 10 dientes con agua destilada (Corpaul); Grupo 5: 10 dientes con clorhexidina (Farpag).

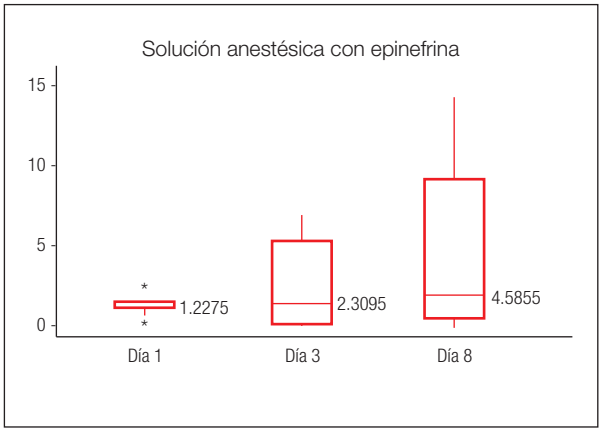
Posteriormente las aperturas cervicales y apicales se sellaron con cera pegajosa y para mejorar el sellado, se aplicó doble capa de barniz cavitario, asignando un color para cada grupo. Se dejó secar y cada diente se colocó en un frasco contenedor con 2 ml de agua biodestilada estéril, y se midió la concentración del ion Ca en diferentes períodos de tiempo 1, 3 y 8 días, utilizando el método CPC, prueba fotométrica colorimétrica para calcio (HUMAN®), en el cual, los iones de calcio reaccionan con o-cresolftaleina-complexona en un medio alcalino, para formar un complejo de color púrpura. La absorbancia de este complejo es directamente proporcional a la concentración de calcio en la muestra. Los datos fueron consignados cada periodo de tiempo en la tabla de recolección de datos.

Para detectar si existen diferencias de liberación de ion calcio con los diferentes vehículos, los datos fueron tabulados en un programa Excel versión 2000,



P=0.0273

Gráfica 3
Concentración del ion calcio para cada vehículo al octavo día.



P=0.0923

Gráfica 4
Concentración del ion calcio con el vehículo Solución anestésica con epinefrina al 1, 3 y 8 día.

Tabla 3
Análisis de varianza de la concentración de ion calcio para cada vehículo al octavo día

	Media	Desviación estándar
Solución anestésica con epinefrina	4.5855	5.1548
Solución anestésica sin epinefrina	2.4957	2.0952
Solución salina	4.8212	3.9340
Agua destilada	0.7407	1.0073
Clorhexidina	1.6046	2.5378

Tabla 4
Análisis de varianza de la concentración de ion calcio con el vehículo Solución anestésica con epinefrina al 1, 3 y 8 días

	Media	Desviación estándar
1 Día	1.2275	0.3947
3 Día	2.3095	2.6647
8 Día	4.5855	5.1548

procesados en SPSS versión 12 y analizados con la prueba ANOVA MULTIFACTORIAL. Un nivel de P≤0.05 fue considerado significante.

Implicaciones éticas

Teniendo en cuenta que la observación se realizó en dientes extraídos con fines ortodónticos, el tipo de riesgo es SIN RIESGO, considerado por el comité de ética institucional de acuerdo a la resolución número 8430 de 1993. Por lo tanto se solicitó a los participantes su autorización para el uso de sus dientes como objeto de estudio.

RESULTADOS

No hubo diferencia estadísticamente significativa cuando se ajustaron los grupos al primer día.

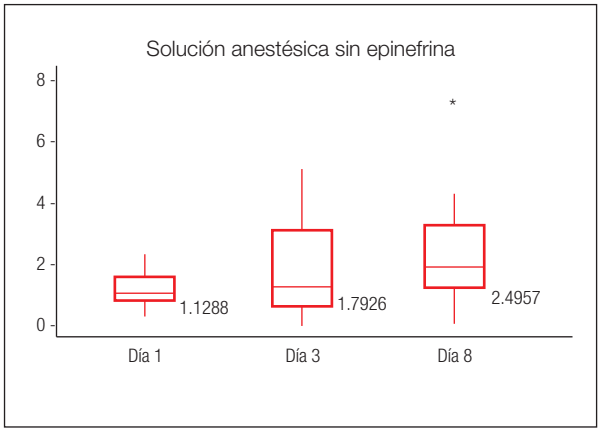
El promedio ± error estándar de la diferencia de liberación de ion calcio para el grupo 1 fue de 1.2275 ± 0.3947; en el grupo 2 fue de 1.1288 ± 0.6236; en el grupo 3 fue de 1.4444 ± 0.9586; en el grupo 4 fue de 0.6984 ± 0.2541; y en el grupo 5 1.3046 ± 0.8642 (P=0.1535). (Gráfica 1, Tabla 1)

No hubo diferencia estadísticamente significativa cuando se ajustaron los grupos al 3 día.

El promedio ± error estándar de la diferencia de liberación de ion calcio para el grupo 1 fue de 2.3095 ± 2.6647; en el grupo 2 fue de 1.7926 ± 1.6486; en el grupo 3 fue de 3.0285 ± 2.8598; en el grupo 4 fue de 0.4539 ± 0.4219; y en el grupo 5 1.7023 ± 2.3355 (P=0.1286). (Gráfica 2, Tabla 2)

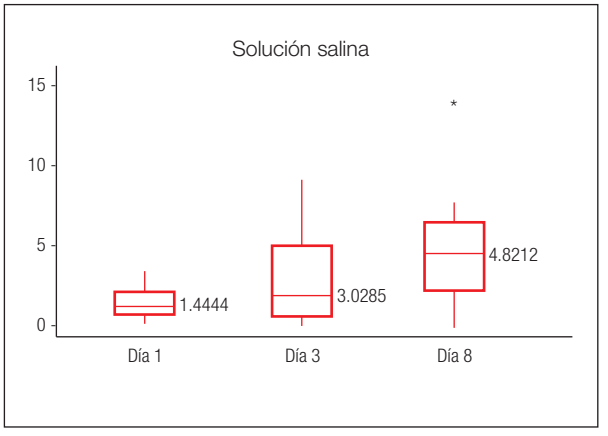
El promedio ± error estándar de la diferencia de liberación de ion calcio para el grupo 1 fue de 4.5855 ± 5.1548; en el grupo 2 fue de 2.4957 ± 2.0952; en el grupo 3 fue de 4.8212 ± 3.9340; en el grupo 4 fue de 0.7407 ± 1.0073; y en el grupo 5 1.6046 ± 2.5378 (P=0.0273). (Gráfica 3, Tabla 3)

El promedio ± error estándar de la diferencia de ion calcio con el vehículo solución anestésica con epinefrina ajustado al tiempo fue en el primer día de 1.2275±0.3947; en el tercer día 2.3095±2.6647; y el



P=0.1736

Gráfica 5
Concentración del ion calcio con el vehículo Solución anestésica sin epinefrina al 1, 3 y 8 día.



P=0.0451

Gráfica 6
Concentración del ion calcio con el vehiculo Solución salina al 1, 3 y 8 día.

Tabla 5
Análisis de varianza de la concentración de ion calcio con el vehículo Solución anestésica sin epinefrina al 1, 3 y 8 días

	Media	Desviación estándar
1 Día	1.1288	0.6236
3 Día	1.7926	1.6486
8 Día	2.4957	2.0952

Tabla 6
Análisis de varianza de la concentración de ion calcio con el vehículo Solución salina al 1, 3 y 8 día

	Media	Desviación estándar
1 Día	1.4444	0.9586
3 Día	3.0285	2.8598
8 Día	4.8212	3.9340

octavo día 4.5855±5.1548 (P=0.0923). (Gráfica 4, Tabla 4)

El promedio ± error estándar de la diferencia de ion calcio con el vehículo solución anestésica sin epinefrina ajustado al tiempo fue en el primer día de 1.1288±0.6236; en el tercer día 1.7926±1.6486; y el octavo día 2.4957±2.0952 (P=0.1736). (Gráfica 5, Tabla 5)

Hubo diferencia estadísticamente significativa a través del tiempo con la solución salina. El promedio ± error estándar de la diferencia de ion calcio ajustado al tiempo fue en el primer día de 1.4444±0.9586; en el tercer 3.0285±2.8598; y el octavo día 4.8212±3.9340 (P=0.0451). (Gráfica 6, Tabla 6)

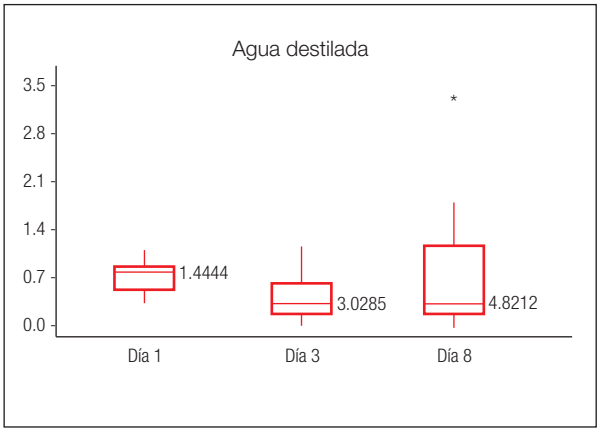
El promedio ± error estándar de la diferencia de ion calcio con el vehículo solución salina ajustado al tiempo fue en el primer día de 0.6984±0.2541; en el tercer 0.4539±0.4219; y el octavo día 0.7407±1.0073 (P=0.5711). (Gráfica 7, Tabla 7)

El promedio ± error estándar de la diferencia de ion calcio con el vehículo solución salina ajustado al tiempo fue en el primer día de 1.3046±0.8642; en el tercer 1.7023±2.3355; y el octavo día 1.6046±2.5378 (P=0.9034). (Gráfica 8, Tabla 8)

DISCUSIÓN

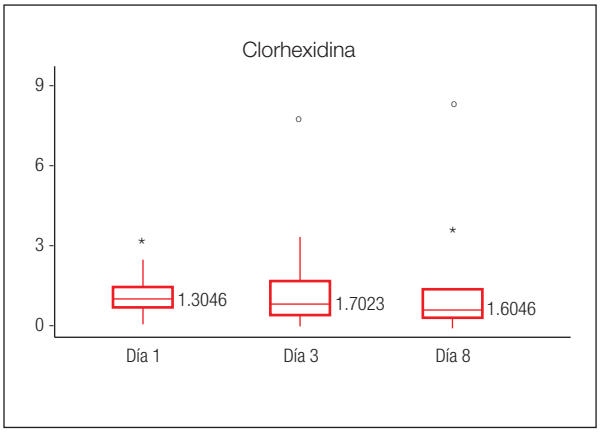
La aplicación clínica del hidróxido de calcio tales como actividad antimicrobial, habilidad para disolver tejidos, inhibición de reabsorción dental e inducción de reparación por formación de tejidos duro, ha sido bien documentada en la literatura científica. Tener conocimiento de la liberación de iones de Ca cuando se mezcla con un vehículo se hace relevante para la elección durante la medicación intraconducto.

La Clorhexidina es un agente antibacterial con amplio espectro para bacterias Gram (+) y Gram (-), por lo que ha sido propuesto como irrigante del conducto radicular y vehículo en la medicación intraconducto. Avellaneda y col (2006) observaron una moderada sensibilidad al E faecalis en acuerdo con Heling y Chandler (1998)[42] quienes encontraron que el gluconato de clorhexidina y el hipoclorito de Na fueron similarmente efectivos para erradicar el E. faecalis, Adicionalmente Basrani y col (2004)[30] demostraron que la clorhexidina no afecta el pH del hidróxido de Calcio, la radiopacidad y tiempo de trabajo cuando se usa como vehículo. A pesar de que se ha observado que la clorhexidina no altera las propiedades físicas



P=0.5711

Gráfica 7
Concentración del ion calcio con el vehículo Agua destilada al 1, 3 y 8 día.



P=0.9034

Grafica 8
Concentración del ion calcio con el vehículo Clorhexidina al 1, 3 y 8 día.

Tabla 7
Análisis de varianza de la concentración de ion calcio con el vehículo Agua destilada al 1, 3 y 8 día

	Media	Desviación estándar
1 Día	0.6984	0.2541
3 Día	0.4539	0.4219
8 Día	0.7407	1.0073

Tabla 8
Análisis de varianza de la concentración de ion calcio con el vehículo Clorhexidina al 1, 3 y 8 día

	Media	Desviación estándar
1 Día	1.3046	0.8642
3 Día	1.7023	2.3355
8 Día	1.6046	2.5378

del hidróxido de calcio y la eficacia antibacterial al ser mezclado con hidróxido de calcio, en el presente estudio se observó una baja difusión de ion calcio a través de los túbulos dentinales en los diferentes periodos de tiempo, posiblemente se atribuye a la clorhexidina se precipita evitando así la liberación del ion Ca; este hecho permite sugerir que no es recomendable su aplicación como vehículo del hidróxido de Ca en medicación intraconducto, puesto que otros vehículos muestran mayor liberación de iones de Ca relevante para la eficacia clínica.

En el presente estudio se observó liberación del ion calcio estadísticamente significativa para todos los periodos de tiempo cuando el hidróxido de calcio fue mezclado con solución salina; Avellaneda y cols en 2006[43] observaron una marcada sensibilidad al E. faecalis cuando se mezcló el hidróxido de calcio con solución salina este hecho se atribuyó a la reacción química de la mezcla presentando un hidróxido de sodio el cual eleva el pH. Si se considera su efectividad antimicrobial y la liberación continua de los iones calcio se podría sugerir su uso en la elección como vehículo del hidróxido de calcio durante las terapias endodónticas.

Bajo las condiciones de este estudio se observó que no hubo diferencia estadísticamente significativa en la liberación del ion Ca en los periodos 1, y 3 días. Aunque el propósito de este estudio no fue observar la interacción del diente como barrera para la difusión de los iones Ca y OH, Gomez y cols en 2004[44] indican que algunas sustancias interactúan con la estructura de la dentina y no difunden del todo. Esto indica que los dientes pueden actuar como una barrera para la difusión de la medicación intraconducto sin bloquear completamente. Cada medicamento presenta diferentes características de difusión, el cual estará directamente relacionado a su interacción con la estructura dental. Se requiere mas investigación para determinar cuales componentes del medicamento intraconducto son permeables a la dentina y cuantificar su efecto periodontal.

La solución anestésica sin epinefrina como vehículo del hidróxido de Ca en la medicación intraconducto, mostró una liberación de ion Ca a través del tiempo, a pesar de no ser estadísticamente significativa. Contrariamente, Gomez y cols (2004)[44] con la técnica cromatográfica que es una técnica que separa los componentes en soluciones complejas registrando

la intensidad de absorbancia representada en picos, en el caso de la mezcla de hidróxido de Ca con Citannest observaron altos picos cromatográficos cuando la mezcla no actuaba con el diente pero fue baja cuando el diente actuó como barrera.

Avellaneda y cols en 2006[43] observaron una leve sensibilidad al E. faecalis del agua destilada como vehículo del hidróxido de Ca. En este estudio el agua destilada mostró la más baja liberación del ion Ca a los diferentes tiempos. Esto podría llevar a la no recomendación de su uso como vehículo en la medicación intraconducto.

CONCLUSIONES

Bajo las condiciones de este estudio se observó que:

La difusión del ion calcio a través de los túbulos dentinales ajustando los 5 tipos de vehículos mezclados con hidróxido de Ca en el primer y tercer día no fue estadísticamente significante.

Hubo una diferencia estadísticamente significativa en la difusión del ion calcio de los 5 tipos de vehículos ajustados a los ocho días.

La liberación del ion calcio del grupo con solución salina en los diferentes periodos de tiempo 1, 3 y 8 días fue estadísticamente significativa.

En los grupos en los que se utilizó como vehículo solución anestésica con y sin epinefrina se observó aumento en la liberación del ion calcio a través del tiempo, a pesar que no fue estadísticamente significativa.

AGRADECIMIENTOS

Los investigadores agradecen al doctor Javier Rodríguez, Gerente del Laboratorio Comprolab, por la donación del CALCIUM liquid color (Prueba fotométrica colorimétrica para calcio).

Al doctor Jorge Robles Director del Departamento de Química de la Pontificia Universidad Javeriana, por prestar el espectrofotómetro.

A la doctora Elizabeth Gil docente del Departamento de Química de la Pontificia Universidad Javeriana, por su colaboración en la medición fotométrica colorimétrica.

RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar un estudio similar mezclando adicionalmente un antibiótico y corticoesteroide.

REFERENCIAS

1. Siquiera Jr. A Etiology of Root Canal Treatment Failure: Why Well-treated teeth can fail. *International Endodontics Journal.* 2001; 34: 1-10.
2. Pinheiro E. et al. Microorganisms from canal of root filled teeth with periapical lesions. *International Endodontics Journal*. 2003; 36: 1-11.
3. Bystrom A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scan J Dent Rest.* 1981; 89:321-8.
4. Schilder H. Cleaning and shaping the root canal. *Dent Clin North Am.* 1974; 18:269-96.
5. Sjögren U, Hagglund B, Sundqvist G, Wing K. Factors affecting the long-term results of endodontic treatment. *J Endot.* 1990; 16:498-504.
6. Barbosa C., Reginaldo B., Siqueira Jr., Milton de Uzeda. Evaluation of the Antibacterial Activities of Calcium Hidroxide, Clorhexidine, and Camphorated Paramonochlorophenol as Intracanal Medicament. A Clinical y Laboratory Study. *Journal of Endodontics*. 1997; 23(5).
7. Mcgurkin-Smith R, Trope M, Caplan D, Sigurdsson A. Reduction of Intracanal Bacteria Using GT Rotary Instrumentation, 5.25% NaOCl, EDTA, and Ca(OH)2. *Journal of Endodontics.* 2005; 31(5):359-363.
8. Spangberg LSW. Intracanal medication. In: *Ingle JI, Bakland LK, eds. Endodontics*. 1994; 4th ed. Baltimore: Williams & Wilkins: 627–40
9. Staehle, H., Spiess, V., Heinecke, A., Muller, H. Effect Of Root Canal Filling Materials Containing Calcium Hydroxide On The Alkalinity Of Root Dentin. *Endod Dent Traumatol*. 1995; 11: 163-8.
10. Nyborg H. Healing processes in the dental pulp on capping. *Acta Odontologica Scandinavica.* 1955; 13 (Suppl. 16), 9–130.
11. Bystrom A, Claesson R, Sundqvist G . The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. *Endodontics and Dental Traumatology.* 1985; 1, 170–5.
12. Safavi Ke, Dowden We, Introcaso JH, Langeland K. A comparison of antimicrobial effects of calcium hydroxide and iodine-potassium iodide. *Journal of Endodontics.* 1985; 10, 454–6.
13. Gambarini G. Incidenza di riacutizzazioni flogistiche dopo II trattamento endodontico di denti necrotici in una seduta o dopo medicazione con idrossido di calcio. *Giornale Italiano di Endodonzia.* 1991; 4, 155–8.
14. Safavi Ke, Nichols FC. Effect of calcium hydroxide on bacterial lipopolysaccharide. *Journal of Endodontics.* 1993; 19, 76–8.
15. Safavi Ke, Nichols FC. Alteration of biological properties of bacterial lipopolysaccharides by calcium hydroxide treatment. *Journal of Endodontics.* 1994; 20, 127–9.
16. Tanomaru Jmg, Leonardo MR, Tanomaru Filho M, Bonetti Filho I, Silva LAB. Effect of different irrigation solutions and calcium hydroxide on bacterial LPS. *International Endodontic Journal.* 2003; 36, 733–9.
17. Siqueira JF, Lopes HP. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. *International Endodontic Journal.* 1999; 32, 361–9.
18. Tronstad L, Andreasen JO, Hasselgren G, Kristerson L, and Riis I. PH changes in dental tissues after root canal filling with calcium hydroxides. *Journal Endodontics.* 1981; Vol. 7 No.1

19. Simon, S., Bhat, K., Francis, R. Effect Of Four Vehicles On The Ph Of Calcium Hydroxide And The Release of Calcium Ion. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1995; 80: 459-64.
20. Avny WY, Heiman GR, Madonia JV, Wood NK, Smulson MH. Autoradiographic study of intracanal diffusion of aqueous and camphorated parachlorophenol in endodontics. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1973; 36: 80–9.
21. Alacam, T., Yoldas, O., Gulen, O. Dentin penetration of 2 calcium hydroxide combinations. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1998; 86: 469-72.
22. Semra C, Ahmet S., Bahar OM. Dilek pH changes and calcium ion difusión from calcium hydroxide dressing materials through root dentin. *Journal of Endodontics* 1999; 25 (5): 329-31.
23. Coelho I, Camoes G, Roedel M, Chevitarese O, Lopes L. Diffusion of Ca(OH)2 Associated with Different Vehicles: Chromatographic Study (High-performace Liquid Chromatography). *Journal of Endodontics.* 2004; 30(1):30-34.
24. Caicedo R., Avellaneda P., Becerra C., Revelo I. Difusion Del Ion Calcio De Cuatro Materiales A Base De Hidróxido De Calcio: Ultracal XS Nueva Formula, Vitapex, Conos Hidróxido De Calcio Hygienic E Hidróxido Puro. Tesis De Grado. COC 2002.
25. Fuss Z., Weiss E. & Shalhav M. Antibacterial activity of calcium hydroxide-containing endodontic sealers on enterococcus faecalis in vitro. *International Journal of Endodontics.* 1997; 30: 397- 402.
26. Siqueira, J., Lopes, H. Mechanisms Antimicrobial Activity Of Calcium Hydroxide: A critical review. *Int Endod J.* 1999; 32: 361-69.
27. Salazar C. Hidróxido De Calcio, Efectos Biologicos Y Mecanismos De Accion; *Revista De La Facultad De Odontología De Antioquia*. Vol 5 N° 2. Pág 35 – 41.
28. Morse, D., O'Larnic, J., Yesilsoy, C. Apexification: Review Of The Literature. Quintessence Int. 1990; 21: 589-98.
29. Leonardo R. et al. Ether Calcium hydroxide root canal sealers-histopathologic evaluation of apical and periapical repair after endodontic treatment. *Journal of Endodontics* 1977; 23 (7): 428-32.
30. Basrani B, Ghanem A, TJ Aderhane L. Physical and Chemical Properties of Clorhexidine and Calcium Hydroxide-Containing Medications. *Journal of Endodontics* 2004; 30(6): 413 – 417.
31. Weisenseel, J., Hicks, L., Pelleu, G. Calcium Hydroxide As An Apical Barrier. *J Endod*. 1987; 13: 1-5.
32. Siqueira, Uzeda. Intracanal medicaments evaluation of the antibacterial effects of chlorhexidine, metronidazole, and calcium hydroxide associated with three vehicles. *Journal of Endodontics* 1997; 23 (3): 1967-69.
33. Siqueira, Uzeda. Influence of different vehicles on the antibacterial effects of calcium hydroxide *Journal of Endodontics* 1998; 24 (10): 663-4.
34. Marques J.L., Conti R., Antionazzi J.H., Gutz Y., Avaliaçaco. Da Velocidade De Dissociacao Ionica Do hidróxido De Calcio Associado A Diferentes Veiculos. *Revista Da USP.* 1994; 8:81-7.
35. Ozcelik, B., Tasman, F., Ogan, C. A Comparison Of The Surface Tension Of Calcium Hydroxide Mixed With Different Vehicles. *J Endod.* 2000; 26: 500-2.
36. Staehle HJ, Pioch T, Hoppe W. The alkalizing properties of calcium hydroxide compounds. *Endodontics and Dental Traumatology.* 1989; 5, 147–52.
37. Staehle HJ, Spiess V, Heinecke A, Muller HP. Effect of root canal filling materials containing calcium hydroxide on the alkalinity of root dentin. *Endodontics and Dental Traumatology.* 1995; 11, 163–8.
38. Sjogren U, Figdor D, Spangberg L, Sundqvist G The antimicrobial effect of calcium hydroxide as a short-term intracanal dressing. *International Endodontic Journal* 1991; 24,119–25.
39. Hauman CHJ, Love RM Biocompatibility of dental materials used in contemporary endodontic therapy: a review. Part 1. Inrtracanal drugs and substances. *International Endodontic Journal* 2003; 36, 75–85.
40. Ricucci D, Langeland K. lncomplete calcium hydroxide removal from the root canal: a case report. *International Endodontic Journal* 1997; 30, 418–21.
41. Lambrianidis T, Margelos J, Beltes P. Removal efficiency of calcium hydroxide dressing from the root canal. *Journal of Endodontics* 1997; 25, 85-8.
42. Heling I., Chandler N.P. Antimicrobial effect of irrigant combinations within dentinal tubules. *International Endodontic Journal* 1998; 31:8 – 14.
43. Avellaneda P., Gómez M., López W., Torres C., Colorado J., Guacabare D. Actividad antimicrobial de seis vehículos asociados al hidróxido de calcio. Tesis. Colegio Odontológico Colombiano, Bogotá 2006.
44. Gomes I., Selles M., Chevitarese O., Lopes L. Diffusion of Ca(OH)2 associated with different vehicles: cromatogrphyc study (high-performance liquid cromatography). *Journal of Endodontics* 2004; 30:30 - 34