

Propiedades del hidróxido cálcico y del agregado de trióxido mineral en el cierre apical

I. POY ALONSO, A. MENDOZA MENDOZA*, H. FERNÁNDEZ DOMÍNGUEZ

*Prof. Asociado. *Prof. Titular de Odontopediatría. Facultad de Odontología de Sevilla*

RESUMEN

La apicoformación es un método de inducción del cierre apical mediante la formación de tejido mineralizado en la región apical en aquellos dientes que han sufrido necrosis pulpar antes de que finalizara su crecimiento radicular.

La consecución de una barrera apical es necesaria para realizar un correcto tratamiento endodóntico de los dientes permanentes inmaduros necróticos, ya que la divergencia que presentan las paredes radiculares y la ausencia de cierre apical dificultan la condensación del material de relleno.

Se han empleado numerosas sustancias para lograr el cierre apical, siendo la más relevante el hidróxido cálcico; con la llegada del agregado de trióxido mineral el cierre apical se puede producir por taponamiento en una sola sesión, quedando aún por determinar la posibilidad de inducir un cierre apical por encima del tapón mediante mineralización tal como ocurre con el hidróxido cálcico.

PALABRAS CLAVE: Hidróxido cálcico. Agregado de trióxido mineral.

INTRODUCCIÓN

El objetivo de todo tratamiento endodóntico es realizar un buen sellado del conducto radicular que proporcione un pronóstico favorable a largo plazo, y para poder conseguir este sellado es necesario que exista un tope apical que permita condensar adecuadamente la gutapercha.

Los dientes permanentes inmaduros que sufren necrosis pulpar antes de que finalice el desarrollo radicular poseen unas paredes radiculares divergentes y un ápice abierto que impide realizar una buena condensación del material de relleno. Durante muchos años, el tratamiento de elección en estos dientes era la cirugía periapical pero con el desarrollo de las técnicas de inducción del cierre apical, el tratamiento quirúrgico de los dientes con ápice abierto ha pasado a un segundo plano por ser un trata-

ABSTRACT

Apexification is a treatment procedure for bringing about apical closure through the formation of mineralized tissue in the apical region for those teeth in which pulp necrosis has occurred before roots are fully developed.

The formation of a hard barrier at the apical foramen is required in order to carry out proper endodontic treatment of non-vital immature teeth, as the open apex and deviation of the root walls complicate filler material condensation.

A wide variety of substances have been used to aid apical closure, most notably calcium hydroxide. With the advent of mineral trioxide aggregate, apical closing can be achieved through root filling in a single session. It still remains to be seen whether or not it is possible to trigger apical closure over the root filling by way of mineralization as in the case of treatment with calcium hydroxide.

KEY WORDS: Calcium hydroxide. Mineral trioxide aggregate.

miento con numerosos inconvenientes y poco conservador. La técnica más extendida para tratar los dientes necróticos inmaduros es la apicoformación, cuyo objetivo es la formación de una barrera apical. Dicha barrera puede ser el resultado de la aposición de tejido mineralizado como respuesta a la colocación de un material en el interior del conducto, o bien puede ser una barrera creada artificialmente mediante la compactación de un material en la región apical de la raíz.

El material más empleado para realizar el tratamiento de apicoformación es el hidróxido cálcico con el que se induce la formación de tejido duro, pero para conseguir que la barrera formada cierre la totalidad de la luz del conducto es necesario por lo general realizar varios recambios de la pasta. El agregado de trióxido mineral, que es un material que ha aparecido en el mercado en los últimos años, permite al odontólogo crear la barrera

apical en una sola sesión. Anteriormente también se había realizado la apicoformación en una sesión utilizando otros materiales pero el problema que se presentaba era que la barrera formada era soluble en mayor o menor medida dependiendo del material empleado. El agregado de trióxido mineral presenta numerosas cualidades entre las que se encuentra el no ser soluble por lo que es un material muy adecuado para crear la barrera apical en una sesión.

Tanto el hidróxido cálcico como el agregado de trióxido mineral resultan ser materiales idóneos para realizar el tratamiento de apicoformación.

HIDRÓXIDO CÁLCICO

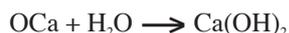
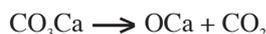
El hidróxido cálcico, Ca(OH)_2 , fue introducido en la odontología en la década de los 20 por Hermann (1) y, desde entonces, se ha convertido en uno de los materiales más empleados. En 1930, dicho autor, creó el primer preparado comercial bajo el nombre de Calxyl, popularizando este producto en tratamientos como recubrimientos pulpares, pulpotomías, pulpectomías y en el tratamiento de canales radiculares infectados.

Rhoner (2), en 1940, presentó el primer trabajo, en el cual se incluían estudios histológicos, donde se podía observar la formación de una barrera de tejido mineralizado a nivel del ápice radicular de dientes a los que previamente se les había quitado la pulpa y se les había rellenado con hidróxido cálcico.

Posteriormente, en 1959, Granath describió el tratamiento de apicoformación empleando Ca(OH)_2 en dientes inmaduros que habían sufrido necrosis pulpar a consecuencia de un traumatismo (3).

A lo largo de la década de los sesenta aparecieron distintos preparados comerciales a base de hidróxido cálcico al que se le añadían distintas sustancias para mejorar sus propiedades (4), y fue en 1964, en los EE.UU., cuando dos autores de forma separada describieron el uso del Ca(OH)_2 mezclado con paraclorofenol alcanforado para promover la formación de una barrera apical calcificada. Se trataba de Kaiser (5) y Frank (6), siendo este último quien la presentó en la literatura en 1966 y la popularizó como la "técnica de Frank".

El Ca(OH)_2 se presenta como un polvo fino, inodoro y de color blanco, que se obtiene por calcinación del carbonato de calcio (4):



Un problema que plantea el Ca(OH)_2 es su almacenamiento ya que al ser expuesto al carbono ambiental, se transforma nuevamente en carbonato cálcico, perdiendo su eficacia clínica, por lo que debe conservarse en recipientes bien cerrados.

Las principales indicaciones de la colocación del Ca(OH)_2 en el interior del canal radicular son obtener un control de la flora bacteriana, conseguir eliminar o disminuir la inflamación periapical, detener la reabsorción radicular inflamatoria, estimular la formación del cierre apical en el tratamiento de apicoformación y como

material de obturación temporal entre citas (7-11).

Las técnicas desarrolladas para depositar el polvo de Ca(OH)_2 seco en el canal radicular son complicadas, sobre todo en canales estrechos y curvos, por lo que se suele mezclar el polvo con un líquido con el fin de facilitar su colocación (12).

Debemos tener en cuenta que el vehículo elegido no debe afectar al pH del hidróxido cálcico ni impedir la penetración del mismo en los túbulos dentinarios (13). Anthony y cols. (14) demostraron que la difusión del hidróxido cálcico a través del foramen apical y el consecuente cambio de pH se veía notablemente afectado por el vehículo usado.

A lo largo de los años el polvo de Ca(OH)_2 se ha mezclado con distintas sustancias como el agua destilada, solución salina, solución anestésica, solución de Ringer, monoclórofenol alcanforado, cresatina y glicerina (15-20). Otros vehículos empleados han sido suero fisiológico (21), yodoformo (22), agua estéril (23) y metilcelulosa (24).

Generalmente se ha mezclado el polvo de Ca(OH)_2 con agua estéril pero se ha observado que la pasta obtenida con el empleo de glicerina tiene mejores cualidades ya que no se evapora, por lo que hay más tiempo para colocar la pasta, no es tóxica, tiene buen sabor y es fácil de retirar una vez cumplida su función por ser parcialmente soluble. Comparando la colocación de polvo de Ca(OH)_2 mezclado con agua estéril o con glicerina en canales simulados se observó que con la pasta de glicerina se obtenía mayor porcentaje de canales rellenos sin burbujas ni espacios que con la pasta de polvo de Ca(OH)_2 y agua estéril (12).

El efecto terapéutico de la pasta de Ca(OH)_2 va a depender en parte de la disociación del hidróxido cálcico en iones hidroxilo e iones calcio y esta disociación está influenciada por el vehículo empleado para hacer la pasta (25).

En un estudio realizado por Simon y cols. (25) se intentó estimar cuantitativamente la liberación de los iones hidroxilo y calcio de distintas pastas hechas con agua destilada, solución salina, monoclórofenol alcanforado y propilenglicol. La pasta más adecuada resultó ser la elaborada con propilenglicol, ya que se trata de un vehículo bien tolerado por los tejidos, a diferencia del monoclórofenol alcanforado, que posee propiedades antibacterianas y permite controlar el incremento del pH y el nivel de liberación de los iones calcio.

En la actualidad, en la técnica de apexificación se emplea Ca(OH)_2 puro, no fraguable, que se presenta en solución acuosa o de metilcelulosa, como material inductor de la formación de tejido duro por sus numerosas cualidades, a pesar de que su mecanismo de acción no es del todo conocido (4).

Las propiedades del hidróxido cálcico son:

pH

El Ca(OH)_2 puro posee un alto pH, aproximadamente 12, que depende de los niveles de calcio y de iones hidroxilo presentes en el polvo.

En un estudio llevado a cabo por Vera y Fernández (26) se evaluó el pH de cinco soluciones acuosas de

Ca(OH)₂ puro (proanálisis) a distintas concentraciones, así como el pH del líquido sobrenadante en cada una de ellas:

- 2 g Ca(OH)₂ / 4 ml H₂O destilada.
- 2 g Ca(OH)₂ / 5 ml H₂O destilada.
- 2 g Ca(OH)₂ / 10 ml H₂O destilada.
- 2 g Ca(OH)₂ / 15 ml H₂O destilada.
- 2 g Ca(OH)₂ / 20 ml H₂O destilada.

Los resultados determinaron que el pH de las soluciones rondaba el valor 12,75 y el del sobrenadante estaba en torno al valor 12,8. En este estudio se pudo observar que no existían diferencias ostensibles del pH entre las cinco soluciones a distintas concentraciones, por lo que se puede afirmar que no existe una relación directamente proporcional del pH con la concentración de hidróxido cálcico que tenga la solución.

Cuando el hidróxido cálcico se coloca en contacto con los tejidos vivos del diente, se liberan iones calcio que difunden a través de estos tejidos, aumentando así el pH del esmalte y de la dentina pero no el del cemento (27). Estrela y cols. (28) usando un método colorimétrico evaluaron *in vitro* la difusión de los iones hidroxilo a través de la dentina, observando pequeñas modificaciones del pH en la superficie externa del cemento apical, así como en el interior del canal radicular. La velocidad de difusión de los iones hidroxilo, el grado de calcificación y la permeabilidad dentinaria influyen en las alteraciones del pH en la superficie del cemento y en el interior del canal, afectando también a la capacidad antibacteriana del Ca(OH)₂.

En un estudio realizado por Alaçam y cols. (13) se comparó el grado de penetración en dentina de la pasta de Ca(OH)₂ con agua destilada o con glicerina.

La dentina tiene cierta capacidad *buffer* con los ácidos, pero esta capacidad es limitada con los materiales alcalinos como el hidróxido cálcico.

La glicerina disuelve el Ca(OH)₂ mejor que el agua destilada pero no lo hidroliza a sus partes activas, por lo que se añade agua destilada a la glicerina. La glicerina rompe los largos cristales del Ca(OH)₂ en pequeñas moléculas, por lo que tiene el potencial de penetrar mejor en los túbulos dentinarios.

Miranda y cols. (29) observaron los cambios de pH que se producían en la superficie de la dentina radicular en raíces obturadas con distintas pastas de Ca(OH)₂:

- Ca(OH)₂ en solución acuosa.
- Ca(OH)₂ mezclado con monoclorofenol alcanforado.
- Ca(OH)₂ en base de metilcelulosa (pasta Pulpdent).

Los resultados indican que los iones hidroxilo procedentes de la pasta difunden a través de la dentina radicular aumentando su pH desde 7,6 hasta aproximadamente 10, independientemente de la pasta empleada para rellenar el conducto de la raíz. Todas las pastas probadas logran elevar el pH de la dentina radicular y mantenerlo durante al menos 120 días sin recambiar la pasta, y esto es debido a que los iones hidroxilo difunden a través de la dentina durante todo este periodo. Se ha podido observar que la difusión de estos iones es más rápida en los tercios

cervical y medio que en el tercio apical de la raíz, lo que probablemente se deba al diámetro y al número de túbulos dentinarios presentes en cada región, que a nivel del tercio apical son más estrechos y menos numerosos (30). En la difusión de los iones hidroxilo también influye la tensión superficial del fluido empleado en la pasta ya que se observó una difusión más rápida en los dientes obturados con monoclorofenol alcanforado.

Özcelic y cols. (31) evaluaron y compararon la tensión superficial de distintos líquidos que se usan para mezclar el Ca(OH)₂ como glicerina, solución de Ringer, solución anestésica y solución salina. Se debe tener en cuenta que el vehículo empleado afecta a la tensión superficial de la pasta y que al añadir polvo de Ca(OH)₂ al vehículo se produce un aumento de la misma. Para que la pasta se extienda por las irregularidades del canal y en los túbulos dentinarios es conveniente que posea la menor tensión superficial posible ya que así aumenta su capacidad de penetración. De los vehículos comparados en este estudio la solución anestésica tuvo la menor tensión superficial.

Parece ser que el alto pH del Ca(OH)₂ contribuye probablemente a la creación de un entorno favorable para la reparación de los tejidos al neutralizar el ambiente ácido que se genera por la necrosis tisular y al tener un efecto antimicrobiano (32).

SOLUBILIDAD

El Ca(OH)₂ puro posee una alta solubilidad en presencia de agua y de fluidos orales. Por este motivo, en el tratamiento de la apicoformación es necesario renovar la pasta periódicamente, ya que como Forsten (33) pudo observar, a largo plazo desaparece de la cavidad donde se había colocado con anterioridad.

DISOLUCIÓN DE TEJIDO ORGÁNICO

En la instrumentación mecánica del canal no siempre se eliminan todos los detritus (restos de tejido pulpar vital o necrótico, microorganismos y dentina afectada) debido a la existencia de barreras morfológicas y físicas, por lo que el empleo de sustancias químicas es importante para realizar una limpieza adecuada del conducto radicular.

El Ca(OH)₂ puede ayudar en esta limpieza del canal ya que tiene la capacidad de disolver el tejido orgánico. Esto se demostró en un estudio realizado por Wadachi y cols. (34) donde se comparaba el efecto del Ca(OH)₂ con el del hipoclorito sódico (NaOCl) o bien con el de la combinación de ambos.

Andersen y cols. (35) puntualizan que este efecto del Ca(OH)₂ en los tejidos no es tan potente ni tan inmediato como el del hipoclorito sódico, sin embargo, su presencia prolongada en el conducto radicular tiene un efecto terapéutico continuado (36).

EFEECTO MINERALIZANTE

El Ca(OH)₂ promueve la formación de tejidos duros, pero el mecanismo por el cual lo hace está muy discuti-

do. Autores como Tronstad (27) consideran el pH como el responsable de este efecto calcificante. El pH del $\text{Ca}(\text{OH})_2$ puede activar la fosfatasa alcalina (37), la cual desempeña un importante papel en el proceso de la mineralización (38), ya que, como Gordon (39) afirma, el pH óptimo para la actividad de este enzima es 10,2 y el pH del hidróxido cálcico es aproximadamente 12. En este medio alcalino se activa el mecanismo de esta enzima que libera fosfatasa inorgánica de la sangre, lo que permite una posterior precipitación de fosfato cálcico.

Otros autores como Heithersay (8) señalan el calcio como el elemento responsable del efecto mineralizante del $\text{Ca}(\text{OH})_2$, llegando incluso a formar parte del tejido duro formado.

También se podría explicar la inducción de la mineralización que produce el $\text{Ca}(\text{OH})_2$ por su efecto reductor de las funciones de los osteoclastos y dentinoclastos, que derivan de los macrófagos, predominando así el mecanismo de la osteogénesis (40).

EFECTO ANTIMICROBIANO

El $\text{Ca}(\text{OH})_2$ posee propiedades antibacterianas gracias a su alto pH que se opone al medio ácido que se genera en el foco infeccioso (41), pero se debe tener en cuenta que el $\text{Ca}(\text{OH})_2$ no destruye las bacterias que se encuentran en los tejidos necróticos, como Cox pudo demostrar en 1982 (42).

Estrela y cols. (43) refieren que el mecanismo de acción antibacteriano del $\text{Ca}(\text{OH})_2$ se ve influido directamente por la liberación de iones hidroxilo y por la inactivación de enzimas de la membrana citoplasmática de la bacteria, lo que altera químicamente los componentes orgánicos y el transporte de nutrientes, produciendo efectos tóxicos sobre las células.

Safavi y Nichols (44,45) y Barthel y cols. (46) demostraron que el $\text{Ca}(\text{OH})_2$ tiene la capacidad de hidrolizar la porción lipídica de los lipopolisacáridos de la bacteria promoviendo su degradación y también puede alterar las propiedades biológicas de la endotoxina.

Muchos estudios describen la acción antibacteriana del $\text{Ca}(\text{OH})_2$ sobre distintas bacterias (44,45,47-49), sin embargo, el tiempo ideal para lograr una completa eficacia antibacteriana, actuando en contacto directo en el interior del canal o en los túbulos dentinarios, es todavía desconocido.

BAJA TOXICIDAD

El $\text{Ca}(\text{OH})_2$ es un material biocompatible, ya que no produce reacciones patológicas en los tejidos con los que se pone en contacto (32).

EFECTO REDUCTOR DE LAS REACCIONES INFLAMATORIAS

El $\text{Ca}(\text{OH})_2$ disminuye la capacidad de adherencia al sustrato de los macrófagos, los cuales desempeñan un importante papel en la respuesta inmune del huésped frente a procesos infecciosos e inflamatorios, así como en el proceso reparativo (40).

El primer paso en la fagocitosis y en la presentación de antígenos es la adhesión de los macrófagos (50), por lo que al ejercer el $\text{Ca}(\text{OH})_2$ un efecto inhibitorio de esta adhesión, reduce las reacciones inflamatorias de los tejidos periapicales cuando se emplea en el tratamiento de canales.

Se ha observado también que los macrófagos están involucrados en el proceso de reabsorción ósea (51), y en la patogenia de los procesos periapicales (52,53), por lo que se podría afirmar que el $\text{Ca}(\text{OH})_2$ influye favorablemente en las zonas de reabsorción ósea y promueve la sanación de los tejidos periapicales (54,22).

Souza y cols. (55) sugieren que el $\text{Ca}(\text{OH})_2$ posee una acción antiinflamatoria por su efecto higroscópico, por la formación de puentes de proteinato cálcico y por la inhibición de la fosfolipasa.

En resumen, aunque el hidróxido cálcico ha demostrado en numerosos estudios su capacidad para producir la apicoformación (54,56-58), el mecanismo por el cual induce la formación de una barrera calcificada en el foramen apical no se conoce exactamente. Se cree que es un proceso multifactorial y relacionado con el alto pH (27,10), la biocompatibilidad (32), el efecto antibacteriano (59-61), el aumento de la permeabilidad capilar que produce a nivel local y los iones de calcio presentes en la pasta de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (62).

AGREGADO DE TRIÓXIDO MINERAL

Otro material, de reciente aparición, para inducir el cierre apical es el MTA (*Mineral Trioxide Aggregate*), cuyas primeras referencias en la literatura odontológica aparecen en 1993, descrito por Lee y cols. (63).

El MTA es un polvo fino y de color gris que está formado por pequeñas partículas hidrofílicas de silicato tricálcico, óxido tricálcico, aluminato tricálcico y óxido de silicato (64). También contiene pequeñas cantidades de otros óxidos minerales que le confieren sus propiedades físicas y químicas, siendo los principales iones presentes el calcio y el fósforo (65). Así mismo, se ha añadido óxido de bismuto con el fin de obtener una radiopacidad ligeramente superior a la de la dentina (66).

El polvo de MTA debe conservarse en recipientes bien cerrados y alejados de la humedad para mantenerlo en buenas condiciones y que no pierda sus propiedades (66).

Cuando el polvo se hidrata se forma un gel coloidal que tarda algo menos de 4 horas en solidificarse. Las características del agregado van a depender del tamaño de las partículas, la proporción polvo-agua, la temperatura y la existencia de aire atrapado (67). Los fabricantes recomiendan mezclar el polvo con agua estéril hasta conseguir una pasta espesa. Algunos profesionales realizan la mezcla con solución anestésica y otros líquidos estériles obteniendo buenos resultados, aunque la posible repercusión de estos fluidos en las propiedades físicas, químicas y biológicas del MTA es desconocida (65).

El MTA se ha utilizado en distintos tratamientos como recubrimientos pulpares directos, en perforaciones de furca o radiculares, en apicoformaciones y en retroobturaciones. Resulta ser un excelente material en aquellos casos en los que ha de colocarse en contacto

con el hueso, ya que permite la formación de cemento y de hueso y puede facilitar la regeneración del ligamento periodontal.

El MTA posee numerosas cualidades que lo convierten en un material ideal para ciertos tratamientos:

EFECTO ANTIBACTERIANO

Se han realizado numerosos estudios en los que se demuestra el efecto antimicrobiano del MTA, como el llevado a cabo por Hong y cols. (68) o el realizado por Torabinejad y cols. (69). En éste último se analizaron las propiedades antibacterianas de varios materiales, entre ellos el MTA. Los microorganismos empleados en el estudio fueron nueve bacterias facultativas y siete bacterias anaerobias estrictas. Después de cultivar estos microorganismos en un medio sólido se colocó el material, tanto recién mezclado como tras 24 horas de endurecimiento, en contacto con las bacterias y se cultivó a 37° C durante un periodo de 48 horas. Los resultados indican que el MTA no tiene ningún efecto sobre las bacterias anaerobias estrictas pero sí en cinco especies facultativas de las nueve incluidas en el estudio. Este efecto antibacteriano es atribuible a su alto pH (70) que ronda 12'5 tras endurecer, siendo similar al del hidróxido cálcico, o a la liberación de sustancias que difundieron en el medio de crecimiento.

BIOCOMPATIBILIDAD

Tras distintas investigaciones, el MTA ha resultado ser un material no mutagénico (71) y no citotóxico, tanto recién mezclado como al cabo de 24 horas (72,73).

En un estudio realizado por Keiser (74) se promueve el uso de MTA en la región periapical por poseer una baja citotoxicidad.

EFECTO MINERALIZANTE

Se ha podido observar en distintos estudios *in vitro* que el MTA promueve la formación de tejido mineralizado, incluso en contacto directo con este cemento (75,76).

En una investigación llevada a cabo por Koh y cols. (77) se analizó la citomorfología de los osteoblastos y la liberación de citocinas en presencia del MTA, con el fin de estudiar el mecanismo por el cual este material induce la formación de tejido duro.

Las citocinas son glicoproteínas de bajo peso molecular, involucradas en la coordinación del metabolismo óseo (78), que son liberadas por algunas células tras un estímulo, y que tienen la capacidad de activar otras células, ya que al interaccionar con los receptores celulares provocan un cambio en el comportamiento de la célula (79).

Para analizar el efecto del MTA sobre los osteoblastos se realizó un cultivo de estas células. Posteriormente se colocaron en discos de Petri que contenían el material y se incubaron durante un periodo de 7 días, observando su estado en el primer, tercer y séptimo día. Para

evaluar la liberación de citocinas, los osteoblastos se cultivaron durante 144 horas en discos, unos conteniendo MTA y otros no. Al evaluar el estado de los osteoblastos se pudo observar células sanas y en contacto con el MTA en el primer y tercer día. No sólo presentaban una morfología normal sino que crecían en íntimo contacto con el cemento, lo que demuestra la biocompatibilidad del MTA. Por otra parte, se detectaron pequeñas cantidades de interleuquinas producidas por los osteoblastos que se hallaban en contacto con el cemento, que no aparecían en los cultivos celulares en ausencia de MTA.

En estudios más recientes como el de Zhu y cols. (80) también se ha podido comprobar la favorable respuesta de los osteoblastos al MTA.

De esta forma, se puede afirmar que este nuevo material estimula la producción de interleuquinas y la liberación de citocinas de células óseas (81), lo que indica que el MTA promueve activamente la formación de tejido duro, lejos de ser un material inerte (82) e irritante.

Holland y cols. (83) observaron que el MTA, al igual que el hidróxido de calcio, induce la aparición de cristales de calcita. Este fenómeno, en el caso del $\text{Ca}(\text{OH})_2$, se explica por la reacción que se produce entre el calcio procedente del hidróxido cálcico con el dióxido de carbono de los tejidos (84), pero la pregunta es: ¿cómo se puede producir el mismo fenómeno con el MTA si este material no contiene hidróxido cálcico? Uno de los componentes de este material es el óxido de calcio que sería el que, al reaccionar con los fluidos tisulares, daría lugar a hidróxido cálcico.

Seux y cols. (85) pudieron observar *in vitro* la formación de estos cristales de calcita, y en íntimo contacto con ellos una red de fibronectina. Concluyeron que tanto los cristales como la fibronectina desempeñan un importante papel en el inicio de la formación de tejido duro.

Torabinejad y cols. (75) observaron que el MTA también poseía un efecto inductor de los cementoblastos, lo que está relacionado con la formación de tejido mineralizado.

CAPACIDAD SELLADORA

Al emplear el MTA como material para crear un tapón apical, debe proporcionar un sellado que impida el paso de antígenos desde el canal radicular a los tejidos periapicales. Este cemento logra un buen sellado (86) que se debe probablemente a su naturaleza hidrofílica y a la ligera expansión que sufre cuando fragua en un medio húmedo (87).

El MTA presenta la ventaja frente a otros materiales de que no necesita un campo seco (67) y su capacidad selladora no se ve afectada por la presencia de sangre (62,87,88).

A pesar de las numerosas cualidades que presenta el MTA, la técnica de apicoformación empleando este material no sustituye aún a la realizada con hidróxido cálcico.

Los pasos a seguir son descritos por Torabinejad y cols. (66), siendo similares a los de la apicoformación

convencional hasta obtener un conducto bien conformado, limpio y seco, procediendo a continuación a la formación de la barrera apical.

La mezcla del polvo MTA con agua estéril se debe realizar inmediatamente antes de colocarlo en el conducto radicular y en una proporción de 3:1. Para transportar la pasta hasta el canal se emplea un portaamalgamas u otro instrumento de mano. El material se debe condensar hacia el ápice del diente utilizando puntas de papel o condensadores, creando así un tapón de 3 ó 4 mm de espesor que se debe examinar radiográficamente.

Cuando existe una humedad excesiva en el conducto, la mezcla se vuelve demasiado acuosa y resulta difícil de condensar. Este exceso de líquido se puede eliminar utilizando una punta de papel seca o bien con un poco de algodón (65).

Si no se consigue crear el tapón en el primer intento se debe retirar el MTA irrigando con agua estéril y volver a repetir el mismo procedimiento. Cuando ya se ha formado el tapón se debe colocar un poco de algodón en el conducto y cerrar con un material provisional por un periodo de tres o cuatro horas, tiempo tras el cual el MTA ya ha endurecido por lo que se puede obturar el conducto con gutapercha y colocar la restauración final.

En el caso de que existiera patología periapical se deben realizar exámenes clínicos y radiológicos posteriores para observar la curación del proceso.

Cuando se va a emplear el MTA hay que tener en cuenta que una vez formado el tapón en el ápice del diente no se podrá irrigar el conducto hasta que haya endurecido la pasta ya que, de lo contrario, se va a eliminar parte del material.

Shabahang y cols. (89) compararon la eficacia de distintos materiales para inducir la formación de una barrera de tejido duro en dientes inmaduros de perros. Los materiales del estudio eran el MTA, proteína osteogénica-1 y el hidróxido cálcico. En primer lugar, se indujo la formación de lesiones periapicales dejando los canales radiculares expuestos a la flora oral durante 14 días tras haber retirado el tejido pulpar. Después de esta contaminación inicial se colocó un material provisional durante otros 14 días, tras los cuales se observaba una imagen radiolúcida periapical. Posteriormente se limpiaron los canales radiculares, se rellenaron con hidróxido cálcico por una semana y a continuación recibieron uno de los materiales del experimento. El MTA resultó ser el material, de los tres probados, que más frecuentemente inducía la formación de tejido duro, además de asociarse con un menor grado de inflamación. Por otra parte, el tejido formado por el MTA resultó ser bastante más consistente que el formado por los otros dos materiales.

En cuanto al mecanismo de acción de la proteína osteogénica -1 se cree que estimula la proliferación de células mesenquimales que se diferencian en células osteogénicas (90). Los resultados de este estudio muestran que la proteína osteogénica-1 induce la formación de una barrera de tejido duro apical en la misma frecuencia que el hidróxido de calcio pero en una mayor cantidad, similar a la producida por el MTA.

El MTA, además de poseer, al igual que el hidróxido cálcico, la capacidad de inducir la formación de tejido

duro, ha resultado ser un material muy adecuado en los tratamientos de apicoformación en una sesión por su biocompatibilidad y por el buen sellado que produce (91).

VENTAJAS E INCONVENIENTES DE LOS DOS MATERIALES

DESVENTAJAS DEL HIDRÓXIDO CÁLCICO

1. Es un material radiolúcido, por lo que para controlar la calidad del relleno del conducto será necesario añadir a la pasta alguna sustancia radioopaca.
2. Carece de viscosidad, adherencia o fluidez y no es fácil de aplicar al interior del canal.
3. Empleando este material se requieren varias sesiones de relleno del conducto hasta que se logra la formación de la barrera apical.
4. Se necesita hacer una gran cantidad de radiografías.
5. Impredictibilidad del cierre apical ya que la formación de la barrera es variable y ocasionalmente insatisfactoria.
6. Dificultad en el seguimiento del paciente.
7. Se retrasa la restauración definitiva de la pieza, por lo que se puede ver afectada la estética del diente.

VENTAJAS DEL HIDRÓXIDO CÁLCICO

1. Al ser reabsorbible, si pasan restos al periápice durante el relleno del conducto, no existe ningún problema porque serán eliminados.
2. Por sus excelentes propiedades ayuda en el control de la flora bacteriana y en la disminución de la inflamación de los tejidos periapicales.
3. Posee un precio económico.

DESVENTAJAS DEL MTA

1. No se manipula con facilidad.
2. Al no ser reabsorbible, si pasan restos del material a la región periapical no podrán ser eliminados mas que realizando cirugía periapical.
- 3.- En dientes con ápice muy abierto por detención temprana del desarrollo radicular resulta muy complicado crear un tapón, ya que la divergencia de las paredes hace que la pasta tienda a salirse al periápice.
4. Es un material de alto coste económico.

VENTAJAS DEL MTA

1. Es un material radiopaco por lo que se puede evaluar radiográficamente el tapón formado.
2. Produce un buen sellado apical, tiene buena tolerancia hística y posee propiedades antibacterianas.
3. No se afecta por la presencia de humedad.
4. El tratamiento de apicoformación se hace en dos sesiones lo que permite realizar una pronta restauración definitiva del diente y reduce el riesgo de fractura.

DISCUSIÓN

La literatura existente sobre el tratamiento de apicoformación al hidróxido cálcico está repleta de estudios que atestiguan lo altamente satisfactoria que es esta técnica y los buenos resultados que proporciona. Numerosas publicaciones recogen el alto porcentaje de éxito que suele alcanzar este tratamiento, como es el caso de los estudios realizados por autores como Mackie (92) y Ghose (93), los cuales pudieron comprobar que el cierre apical se producía en el 96% de los casos. Cvek (7) refiere un 90% de éxito y autores como Yates (94) y Kleier y Barr (59) registraron cierre apical en el 100% de los dientes.

A pesar de estos buenos resultados, a todas luces sería más favorable emplear otro material que además de reunir las excelentes cualidades del hidróxido cálcico nos permitiera finalizar el tratamiento de apicoformación en una sesión, lo que sería mucho más cómodo tanto para el paciente como para el odontólogo.

El desarrollo científico nos ha proporcionado un nuevo material, el MTA, que aparentemente posee unas propiedades excepcionales, pero se debe tomar una actitud expectante hasta poder observar su comportamiento *in vivo* a largo plazo. Debemos tener en cuenta que el éxito del tratamiento endodóntico del diente dependerá de la consecución de un buen sellado del conducto y al emplear MTA como material para crear una barrera apical, a pesar de que ha demostrado proporcionar un buen sellado, no sabemos si conservará esta propiedad a largo plazo, pudiendo empeorar el pronóstico de la endodoncia. Por ello, el MTA es en principio un material que ofrece unas excelentes expectativas pero que todavía necesita ser sometido a distintos estudios para conocer mejor su comportamiento.

CONCLUSIONES

1. El hidróxido cálcico es el material más empleado actualmente para conseguir la formación de un tope apical en el tratamiento de apicoformación.

2. Tiene propiedades antibacterianas, induce la formación de tejido duro y tiene un efecto reductor de las reacciones inflamatorias.

3. El principal problema que presenta el hidróxido cálcico en la apicoformación es la larga duración del tratamiento y la necesidad de revisar periódicamente el cierre apical.

4. El MTA ha resultado ser un excelente material para el tratamiento de apicoformación debido a sus cualidades de no afectarse por la presencia de humedad, ser no reabsorbible, proporcionar un buen sellado, ser biocompatible y poseer propiedades antibacterianas.

5. Los estudios más recientes consideran el MTA una alternativa muy válida al hidróxido cálcico en el tratamiento de apicoformación.

6. El MTA permite realizar la apicoformación en una sola sesión, lo que supone un considerable ahorro de tiempo tanto para el paciente como para el odontólogo.

7. A pesar de que el MTA posee unas excelentes cualidades, se necesitan más estudios para analizar su comportamiento a largo plazo.

CORRESPONDENCIA:

M^a. Ansunción Mendoza Mendoza
Plaza Cuba, 6, 2^o D
41011 Sevilla

BIBLIOGRAFÍA

- Hermann BW. Dentinobliteration der wurzelkanäle nach der behandlung mit kalcium. Zahnärztl Rundschau 1930; 39: 888-9.
- Rhoner A. Calxyl als wurzeelfüllungs material nach pulpaextirpation. Schweiz. Mschr. Zahnheilk Nov. 1940; 59: 903-48.
- Endodoncia. Clínicas odontológicas de Norteamérica. Vol. 4. Edit. Interamericana, 1979.
- Azabal M, Vega JM, Hidalgo JJ. Hidróxido de Calcio en la práctica dental. Av Odontostomatol 1993; 9 (5): 313-20.
- Kaiser HJ. Management of wide open apex canals with calcium hydroxide. XXI Annual Meeting of the American Association of Endodontists, Washington, 17 de abril, 1964.
- Frank AL. Therapy for the divergent pulpless tooth by continued apical formation. J Am Dent Assoc 1966; 2: 87-93.
- Cvek M, Hollender L, Nord CE. Treatment of non vital permanent incisors with calcium hydroxide. VI. A clinical, microbiological and radiological evaluation of treatment in one sitting of teeth with mature and immature roots. Odontol Revy 1976; 27: 93-108.
- Heithersay GS. Calcium hydroxide in the treatment of pulpless teeth with associated pathology. J Br Endod Soc 1975; 8: 74-93.
- Andreasen JO. Relationship between the surface and inflammatory resorption and changes in the pulp after replantation of permanent incisors in monkeys. J Endodon 1981; 7: 294-301.
- Byström A, Claesson R, Sundqvist G. The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. Endod Dent Traumatol 1985; 1: 170-5.
- Safavi KE, Dowden WE, Introcaso JH, Langeland K. A comparison of antimicrobial effect of calcium hydroxide and iodine-potassium iodide. J Endodon 1985; 11: 454-6.
- Rivera EM, Williams K. Placement of calcium hydroxide in simulated canals: Comparison of glycerin versus water. J Endod Sept 1994; 20 (9): 445-8.
- Alaçam T, Yoldas O, Gülen O. Dentin penetration of two calcium hydroxide combinations. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol Endod 1998; 86: 469-72.
- Anthony DR, Gordon TM, del Río CE. Effect of three vehicles on the pH of calcium hydroxide. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1982; 54: 560-5.
- Foreman PC, Barnes IE. A review of calcium hydroxide. International Endodontics Journal. 1990; 283-97.
- Rivera ME, Williams K. Placement of calcium hydroxide in simulated canals: comparison of glycerine versus water. Journal of Endodontics. 1994; 20: 445-8.
- Siqueira JF Jr., Uzeda M. Intracanal medicaments: evaluation of the antimicrobial effects of chlorhexidine, metronidazole and calcium hydroxide associated with three vehicles. J Endod 1997; 23: 167-9.
- Siqueira JF Jr., Uzeda M. Influence of different vehicles on the antibacterial effects of calcium hydroxide. J Endod 1998; 24: 663-5.
- Spanberg L. Intracanal medication. In: Ingle JI, Bakland LK. eds. Endodontics. 4th ed. Malvern, PA: Williams & Wilkins, 1994. p. 627-40.
- Stamos DG, Haasch GC, Gerstein H. The pH of local anesthetic/calcium hydroxide solutions. J Endod 1985; 11: 264-5.
- Biesterfeld RC, Taintor JF. Root end closure in adults: report of cases. J Endod. 1980; 6: 691-5.
- Holland R, de Souza V, Nery MJ, de Mello W, Bernabé PFE, Otoboni Filho JA. A histological study of the effect of calcium hydroxide in the treatment of pulpless teeth of dogs. J Br Endod Soc 1979; 12: 15-23.
- Cooke C, Rowbotham TC. Root canal therapy in nonvital teeth with open apex. Br Dent J 1960; 108: 147-50.

24. Bouchon F. Apex formation following treatment of necrotized immature permanent incisors. *J Dent Child* 1966; 33: 378-80.
25. Simon ST, Bhat KS, Francis R. Effect of four vehicles on the pH of calcium hydroxide and the release of calcium ion. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1995; Vol. 8, No. 4: 459-64.
26. Vera V, Fernández J. Estudio del pH del hidróxido de calcio dental. *Rev- Actual-Odontostomatol-Esp* 1990; 50 (397): 49-54.
27. Tronstad L, Andreasen JO, Hasselgren G, Kristerson L, Riis I. pH changes in dental tissues after root canal filling with calcium hydroxide. *J Endodon* 1981; 7 (1): 17-21.
28. Estrela C, Sydney GB, Pesce HF, Felipe O. Jr. Dentinal diffusion of hydroxyl ions of various calcium hydroxide pastes. *Brazil Dent J* 1995; 6: 5-9.
29. Miranda R, Carnes DL, del Rfo CE. Changes in pH at the Dentin Surface in Roots Obturated with Calcium Hydroxide Pastes. *J Endodon*. 1996; 22 (8): 402-5.
30. Marion D, Jean A, Hamel H, Kerebel, B. Scanning electron microscope study of odontoblasts and circumpulpal dentin in a human tooth. *Oral Surg* 72: 473-8, 1991.
31. Özcelik B, Tasman F, Ogan C. A comparison of the surface tension of calcium hydroxide mixed with different vehicles. *J Endod* 2000; Vol 26, No. 9: 500-2.
32. Gupta S, Sharma A, Dang N. Apical bridging in association with regular root formation following single-visit apexification: A case report. *Quintessence Int* 1999; 30 (8): 560-2.
33. Forsten L. Acid penetration through calcium hydroxide liners. *Proc Finn Dent Soc* 1983; 79: 25-7.
34. Wadachi R, Araki K, Suda H. Effect of Calcium Hydroxide on the Dissolution of Soft Tissue on the Root Canal Wall. *J Endod* 1998; 24 (5): 326-30.
35. Andersen M, Lund A, Andreasen JO, Andreasen FM. In vitro solubility of human pulp tissue in calcium hydroxide and sodium hypochlorite. *Endod Dent Traumatol* 1992; 8: 104-8.
36. Foreman P, Barnes I. Review of calcium hydroxide. *Int. End J* 1990; 23 (6): 283-97.
37. Çaliskan MK, Türkün M, Izmir. Periapical repair and apical closure of pulpless tooth using calcium hydroxide. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1997; 84: 683-7.
38. Torneck C, Moe H, Howley T. The effect of calcium hydroxide solution on porcine pulp fibroblast in vitro. *J End* 1983; 9: 131-6.
39. Gordon T, Ranly D, Boyan B. The effects of calcium hydroxide on bovine pulp tissue variations in pH and calcium concentrations. *J End* 1985; 11: 156-60.
40. Segura JJ, Llamas R, Jiménez A, Jiménez-Planas A, Guerrero JM, Calvo JR. Calcium hydroxide inhibits substrate adherence capacity of macrophages. *J Endod* 1997; 23 (7): 444-7.
41. Canalda C. Bacterial growth inhibition produced by root canal sealer cements with a calcium hydroxide base. *Oral Surg* 1989; 68: 99-102.
42. Cox C, Bergenholtz G, Fitzgerald M, Heys D, Heys R, Avery JK, et al. Capping of the dental pulp mechanically exposed to the oral microflora: a 5 week observation of wound healing in the monkey. *J Oral Path* 1982; 11: 327-39.
43. Estrela C, Sydney GB, Bammann LL, Felipe O Jr. Mechanism of action of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide on tissue and bacteria. *Brazil Dent J* 1995; 6: 85-90.
44. Safavi KE, Nichols FC. Effect of calcium hydroxide on bacterial lipopolysaccharide. *J Endod* 1993; 19: 76-8.
45. Safavi KE, Nichols FC. Alterations of biological properties of bacterial lipopolysaccharide by calcium hydroxide treatment. *J Endod* 1994; 20: 127-9.
46. Barthel CR, Levin LG, Reisner HM, Trope M. TNF-alpha release in monocytes after exposure to calcium hydroxide treated E. coli lipopolysaccharide. *Int Endod J* 1996; 29: 195-210.
47. Sjogren U, Fidgor D, Spangberg L, Sundqvist G. The antimicrobial effect of calcium hydroxide as a short-term intracanal dressing. *Int Endod J* 1991; 24: 119-25.
48. Kontakiotis E, Nakau M, Georgopoulou M. In vitro study of the indirect action of calcium hydroxide on the anaerobic flora of the root canal. *Int Endod J* 1995; 28: 285-9.
49. Estrela C, Sydney GB, Bammann LL, Moura J. Efeito antibacteriano de pastas de hidróxido de cálcio sobre bactérias aeróbias facultativas. *Rev Fac Odontol Bauru* 1995; 3: 21-7.
50. Male D, Champion B, Cooke A. *Advanced immunology*. 2ª ed. Philadelphia: J.B. Lippincott Company, 1989; 5.1-15.12.
51. Horton JE, Oppenheim JJ, Mergenhagen SE, Raisz LG. Macrophage -lymphocyte synergy in the production of osteoclasts activating factor. *J Immunol* 1974; 113: 1278-89.
52. Weine FS. *Terapéutica en endodoncia*. 2ª ed. Barcelona: Salvat Editores S.A. 1991. p. 183-366.
53. Torabinejad M, Eby WC, Naidorf I. Inflammatory and immunological aspects of the pathogenesis of human periapical lesions. *J Endodon* 1985; 11: 479-88.
54. Tronstad L. Root resorption- etiology, terminology and clinical manifestations. *Endod Dent Traumatol* 1988; 4: 241-52.
55. Souza V, Bernabe PFE, Holland R, Nery MJ, Mello W, Otoboni Filho JA. Tratamento nao cururgico de dentis com lesos periapicais. *Rev Brasil Odontol* 1989; 46: 39-46.
56. Steiner JC, Dow PR, Cathey GM. Inducing root end closure of non-vital permanent teeth. *J Dent Child* 1968; 35: 47-54.
57. Rasmussen P, Mjör IA. Calcium hydroxide as an ectopic bone inductor in rats. *Scand. J Dent Res* 1971; 79: 24-30.
58. Heithersay GS. Stimulation of root formation in incompletely developed pulpless teeth. *Oral Surg* 1970; 29: 620-30.
59. Kleier DJ, Barr ES. A study of endodontically apexified teeth. *Endod. Dent Traumatol* 1991; 7: 112-7.
60. Estrela C, Sydney GB, Bammann LL, Felipe O. Mechanism of Action of Calcium and Hydroxyl Ions of Calcium Hydroxide on Tissue and Bacteria. *Braz Dent J* 1995; 6: 85-90.
61. Difiore PM, Peters DD, Setterstrom JA, Lorton L. The antibacterial effects of calcium hydroxide apexification pastes on *Streptococcus Sanguis*. *Oral Surg* 1983; 55: 91-4.
62. Hulla H, Ebeleseder K, Glockner K, Städtler P. Results of gentle endodontic treatment in apexification of non-vital permanent teeth. *Italian J Paediatric Dentistry* 1999; 3: 137-40.
63. Lee SJ, Monsef M, Torabinejad M. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforations. *J Endod* 1993; 19: 541-4.
64. Nicholson J. Mineral trioxide aggregate: a new experimental material for retrograde filling. *Br Dent J* 2000; 188 (5): 259.
65. Schwartz R, Mauger M, Clement D, Walker III W. Mineral trioxide aggregate: A new material for endodontics. *J Am Dent Assoc Julio* 1999; 130: 967-75.
66. Torabinejad M, Chivian N. Clinical applications of Mineral Trioxide Aggregate. *J Endod*. 1999; 25 (3): 197-205.
67. Torabinejad M, Watson TF, Pitt Ford TR. Sealing Ability of a Mineral Trioxide Aggregate When Used As a Root-End Filling Material. *J Endod Dic* 1993; 19 (12): 591-5.
68. Hong CU, Torabinejad M, Kettering JD. The effects of three retrofilling materials on selected oral bacteria. *J Endod* 1993; 19: 200 AB 67.
69. Torabinejad M, Hong CU, Pitt Ford TR, Kettering JD. Antibacterial effects of some root end filling materials. *J Endod Agosto* 1995; 21 (8): 403-6.
70. Torabinejad M, Hong CU, Pitt Ford TR. Physical properties of a new root-end filling material. *J Endod* 1995; 21: 349-52.
71. Kettering JD, Torabinejad M. Investigation of mutagenicity of mineral trioxide aggregate and other commonly used root-end filling materials. *J Endod* 1995; 21: 537-42.
72. Osorio RM, Hefti A, Verticci FJ, Shawley AL. Cytotoxicity of endodontic materials. *J Endod* 1998; 24 (2): 91-6.
73. Torabinejad M, Hong CU, Pitt Ford TR, Kettering JD. Cytotoxicity of four root-end filling materials. *J Endod* 1995; 21 (10): 489-92.
74. Keiser K, Johnson CC, Tipton DA. Cytotoxicity of mineral trioxide aggregate usig human periodontal ligament fibroblasts. *J Endod* 2000; Vol. 26 No. 5: 288-91.
75. Torabinejad M, Hong CU, Lee SJ, Monsef M, Pitt Ford TR. Investigation of Mineral Trioxide Aggregate for root-end filling in dogs. *J Endod* 1995; 21: 603-8.
76. Pitt Ford TR, Torabinejad M, Abedi HR, Bakland LK, Kariyawasam SP. Using Mineral Trioxide Aggregate as a pulp-capping material. *J Am Dent Assoc* 1996; 127: 1491-4.
77. Koh ET, McDonald F, Pitt Ford TR, Torabinejad M. Cellular response to Mineral Trioxide Aggregate. *J Endod* 1998; 24 (8): 543-7.
78. Thomson BM, Saklatava J, Chambers TJ. Osteoblasts mediate interleukin 1 stimulation of bone resorption by rat osteoclasts. *J. Exp. Med.* 1986; 164: 104-12.
79. Kettering JD, Torabinejad M. *Microbiology and immunology*. En: Cohen S, Burns RC. *Vias de la pulpa*. 6ª Ed. St. Louis: Mosby Year-Book, 1994. p. 363-76.

80. Zhu Q, Haglund R, Safavi KE, Spangberg LSW. Adhesion of human osteoblasts on root-end filling materials. *J Endod* 2000; Vol. 26 No. 7: 404-6.
81. Koh ET, Pitt Ford TR, Torabinejad M, McDonald F. Mineral Trioxide Aggregate stimulates cytokine production in human osteoblasts. *J Bone Min Res* 1995. p. 105-4065.
82. Pitt Ford TR, Roberts GJ. Tissue response to glass ionomer retrograde root fillings. *Int Endod J* 1990; 23: 233-8.
83. Holland R, de Souza V, Nery MJ, Otononi Filho JA, Bernabé PFE, Dezan E. Reaction of rat tissue to implanted dentin tubes filled with Mineral Trioxide Aggregate or calcium hydroxide. *J Endod* 1999; 25 (3): 161-6.
84. Holland R. Histochemical response of amputated pulps to calcium hydroxide. *Rev Bras Pesq Med Biol* 1971; 4: 83-95.
85. Seux D, Couble ML, Hartmann DJ, Gauthier JP, Magloire H. Odontoblast-like cytodifferentiation of human dental pulp cells in vitro in the presence of a calcium hydroxide-containing cement. *Arch Oral Biol* 1991; 36: 117-28.
86. Aqrabawi J. Sealing ability of amalgam, super EBA cement and MTA when used as a retrograde filling materials. *Br Dent J* 2000; 188 (5): 266-8.
87. Torabinejad M, Rastegar AF, Kettering JD, Pitt Ford TR. Bacterial leakage of Mineral Trioxide Aggregate as a root-end filling material *J Endod* 1995; 21 (3): 109-12.
88. Torabinejad M, Higa RK, McKendry DJ, Pitt Ford TR. Dye leakage of four root-end filling materials: effects of blood contamination. *J Endod* 1994; 20: 159-63.
89. Shabahang S, Torabinejad M, Boyne PP, Abedi H, McMilland P. A comparative study of root-end induction using osteogenic protein-1, calcium hydroxide and Mineral Trioxide Aggregate in dogs. *J Endod* 1999; 25 (1): 1-5.
90. Sampath K. Recombinant human osteogenic protein-1 induces new bone formation in vivo with a specific activity comparable with differentiation in vitro. *J Biol Chem* 1992; 267: 20352-62.
91. Tittle K. Apical closure induction using bone growth factors and Mineral Trioxide Aggregate. *J Endod* 1996; 22: 198.
92. Mackie IC, Bentley EM, Worthington HV. The closure of open apices in non-vital immature teeth. *Br Dent J* 1988; 165: 169-73.
93. Ghose LJ, Baghdady VS, Hikmat BIN. Apexification of immature apices of pulpless permanent anterior teeth with calcium hydroxide *J Endod* 1987; 13: 285-90.
94. Yates JA. Barrier formation time in non-vital teeth with open apices. *Int Endodon J* 1988; 21: 313-9.