

ESTUDIO IN VITRO DE LAS VARIACIONES DE LA PERMEABILIDAD DENTINARIA TRAS LA OBTURACION MEDIANTE CEMENTOS DE VIDRIO IONOMERO FOTOPOLIMERIZABLES

M. O. Del-Nero Benítez *

B. Conejo Fernández *

J. C. De la Macorra García **

Del-Nero Benítez, M. O.; Conejo Fernández, B.; De la Macorra García, J. C.: Estudio In Vitro de las variaciones de la permeabilidad dentinaria tras la obturación mediante cementos de vidrio ionómero fotopolimerizables. *Avances en Odontoestomatología*. 1994, 10: 677-683.

RESUMEN

La presencia constante de fluido dentinario en la superficie adhesiva condiciona la unión diente/material restaurador. Por otra parte, al sellarse la interfase diente/material el comportamiento de dicho fluido dentinario debería cambiar. Esto es lo que hemos estudiado en nuestro trabajo, para tres cementos de vidrio ionómero fotopolimerizables (Photac Fil®, Vitremer® y Dyract®), utilizando un sistema derivado del descrito por Derkson, Pashley y Derkson que mide, en microlitros, las pérdidas que se producen a través de la dentina cortada de coronas de molares humanos extraídos. El área de pérdida se mide mediante análisis computarizado de imágenes y se utiliza como patrón el comportamiento de casos sin restaurar, comparándolos con casos restaurados con los tres tipos de materiales citados. Los resultados parecen indicar que no se produce la detención esperada del movimiento hacia fuera del fluido, lo que nos sugiere nuevas modificaciones del sistema de medición, como la utilización de discos de dentina, y de la preparación de los especímenes.

Palabras Clave: Fluido dentinario, filtración, cemento de vidrio ionómero.

SUMMARY

The constant presence of dentinary fluid in the adhesive surface conditions the tooth/restorative material interaction. In the other hand, when the interfase is properly sealed, the behaviour of that dentinary fluid should change. This possible change is studied in this work, for three light-cured glass ionomer cements (Photac Fil®, Vitremer® and Dyract®), using a system derived of the one described by Derkson, Pashley and Derkson, able to measure, in microliters, the dentinary fluid outward movement through the cut dentin of crowns of human molars. The exposed area is measured by computerized image analysis. The loss of unrestored specimens is used as a control and compared with three types of above said materials. Results denote that expected halt of outward movement of fluid does not take place. This suggests us further modifications of the system, as the utilization of dentin discs and different specimen holders.

Key Words: Dentinal fluid, filtration, glass-ionomer, cement.

Aceptado para publicación: Noviembre 1993.

* Postgraduada.

** Director.

† Curso Master en Odontología Conservadora. Departamento de Odontología Conservadora. Universidad Complutense de Madrid.

INTRODUCCION

Las investigaciones realizadas en los últimos años han permitido un gran desarrollo en los materiales dentales adhesivos, concretamente

te en los cementos de vidrio ionómero.

Estos, inicialmente pensados para ser utilizados en operatoria dental como bases cavitarias, actual-

mente permiten su uso como material restaurador (1), (2), (3), (4), (5). Los cementos de vidrio convencionales están compuestos por un polvo de cristales de calcio, sodio y flúoraluminosilicato, y

un líquido que es una solución acuosa de ácido policarboxílico al que se añaden, o no, otros ácidos como el maléico y el itacónico, para mejorar las características del cemento (6), (7). Cuando se mezclan ambos componentes se desencadena entre ellos una reacción ácido base, responsable del fraguado del material. Se forma así un cemento cuyas partículas de vidrio están rodeadas por una matriz que surge de la reacción entre el ácido y el vidrio. El ácido poliacrílico desintegra superficialmente algunas partículas de vidrio, uniéndose a los iones calcio liberados y formando un gel. Posteriormente se une a los iones de aluminio y se produce el endurecimiento final del material. Este proceso es muy lento y en su primera fase, cuando abundan las cadenas de poliacrilato de calcio, muy susceptible a los desequilibrios hídricos, pudiendo hiper o deshidratarse el material y deteriorarse gravemente sus propiedades físicas (1), (4), (5), (7), (8).

Aunque no se puede descartar cierta unión mecánica o micro-mecánica, dadas las irregularidades que siempre existen en los tejidos dentarios cortados, su adhesión a éstos se presumen fundamentalmente química (1), (4), (5), (7), (9), (10), (11). Así, los grupos carboxilo se unirían, por una parte con el colágeno de la dentina mediante puentes de hidrógeno y, por otra, con la hidroxiapatita mediante un intercambio iónico en el que ésta cede grupos fosfato acompañados por calcio, e incorpora grupos carboxilo. Se formaría de esta forma una interfase rica en iones entre el cemento y la estructura dentaria (4), (7), (12).

Actualmente disponemos de una nueva variedad de cementos de vidrio ionómero: los fotopolimerizables. La diferencia básica con los anteriores estriba en la incorporación de resinas al cemento. Los tipos de resinas y las fórmulas varían según los fabricantes.

La incorporación de la resina, además de facilitar la manipulación del material, favorece su penetración en el tejido dentinario; y la posibilidad de fotopolimerización, una rápida adquisición de dureza y resistencia por parte del material, frente al lento proceso que supone la habitual reacción de fraguado de los cementos de vidrio ionómero convencionales (4), (7), (13), (14), (15). No está claro si la presencia de resinas hidrofílicas en el cemento aumenta, o no, su absorción de agua (7), (14).

Tampoco existe acuerdo en cuanto a la necesidad, o no, de eliminar el barrillo dentinario cuando se emplean estos cementos (16), (17), (18). Mientras algunos autores defienden dicho grabado con ácidos débiles durante un corto espacio de tiempo, con el fin de eliminar los tapones de barrillo dentinario y el smear layer superficial y por consiguiente, el fallo de la cohesión del smear layer como causa de fracaso en la adhesión (8), (18), (19), (20); otros lo proscriben, argumentando que la eliminación del smear layer favorece un aumento de la permeabilidad dentinaria al deshacer los tapones y ensanchar los túbulos, al desmineralizar la dentina peritubular y al requerir maniobras de lavado y secado que crean un gradiente de presión que favorece más la salida de fluido a la superficie y dificulta, por tanto, la adhesión (21), (22).

En cualquier caso, in vivo, dadas las características fisiológicas y estructurales de la dentina, existe un movimiento de fluido a través de los túbulos que determina la presencia de una superficie dentinaria constantemente húmeda (16), (23), (24), (25), (26), (27). Por tanto, cuando investiguemos in vitro la adhesión de diferentes materiales, debemos desarrollar y seguir un correcto diseño experimental que simule al máximo las condiciones fisiológicas y considere el mayor número de factores

que concurren in vivo, entre ellos, el de la permeabilidad dentinaria.

OBJETIVOS

Pretendemos observar el comportamiento de la dentina, concretamente de su permeabilidad, cuando ésta, bajo condiciones parecidas a las fisiológicas de presión y humedad, es restaurada con tres nuevos cementos de vidrio ionómero fotopolimerizables: el Photac Fil, el Vitremer y el Dyract, tomando como grupo control especímenes sin restaurar en los que se cuantifica el flujo por milímetro cuadrado y por minuto, como medida de la permeabilidad.

MATERIAL Y METODO

Utilizamos molares, sin caries ni restauraciones, conservados hasta el momento de su uso en una solución de etanol y agua destilada al 70% por ser ésta la que modifica menos las condiciones de permeabilidad de la dentina (28).

Disponemos, además, de un sistema, modificado del sistema de Derkson, Pashley y Derkson, que permite medir el flujo dentinario (29), (30) (Fig 1). Está compuesto por una columna de 32.5 cm. de agua -que reproduce una presión equivalente a la presión al diente y el paso de fluido a través de los túbulos dentinarios. Esto se consigue mediante la conexión del extremo del tubo a la cámara pulpar de un molar a través de aguja. Para ello el diente ha sido cortado previamente con un disco de diamante (Horico 327/220, Japón) a nivel del tercio oclusal de su corona, para exponer una superficie dentinaria máxima, y en la unión corono-radicular, para unirlo a una base de metacrilato con un adhesivo comercial de cianoacrilato (Super Glue-3, Loctite, España). La aguja atraviesa la base de metacrilato, previamente perforada, y llega hasta la cámara pulpar.

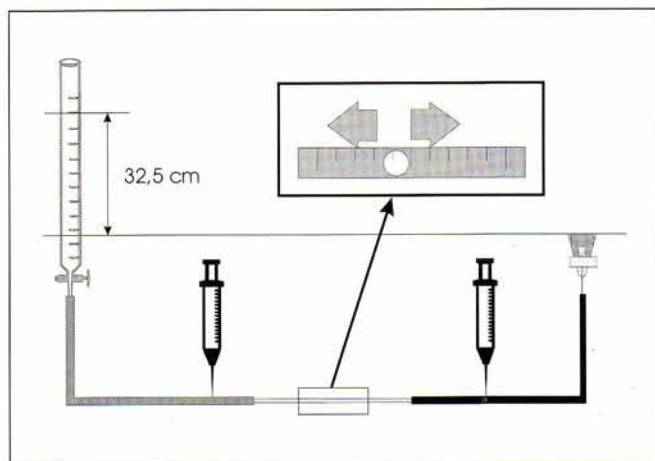


Figura 1. Esquema del sistema de medición empleado.

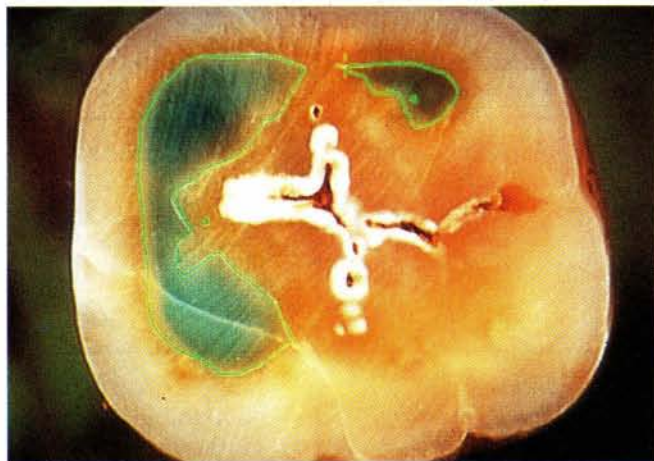


Figura 2. Análisis de la imagen de un espécimen. Determinación del área dentinaria expuesta.

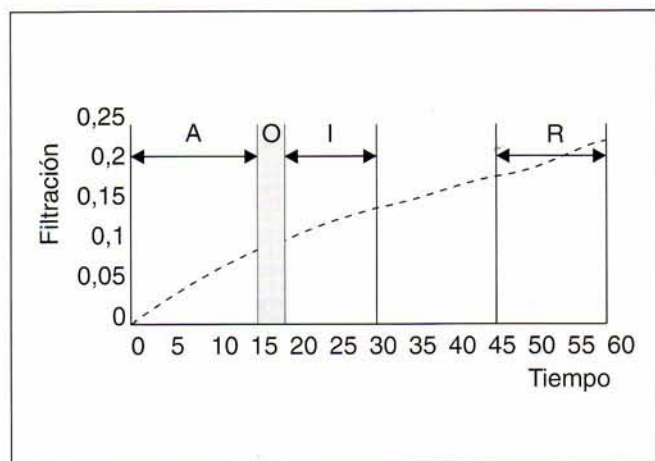


Figura 3. Metodología de medición. Esquema que representa una curva imaginaria, y los tramos en los que ésta se divide, siendo A el tramo anterior, O el período de obturación, I el tramo inmediato y R el tramo retardado.

Para evitar pérdidas de fluido en las uniones diente-metacrilato y aguja-metacrilato, se sellan estas zonas con el adhesivo comercial antes mencionado.

Previo al montaje de los especímenes en el sistema, se mide la superficie dentinaria expuesta en cada corona cortada mediante análisis computarizado de imagen. Se obtienen imágenes de la superficie a medir a través de una cámara (JVC CCD, modelo TK-870E, Systems, Cambridge, G. B.) que incorpora la información gracias a una tableta digitalizadora (Summagraphics Corp. modelo

MM 1103 E.E.U.U.). La calibración establecida fué de 0.0914 mm/pixel, lo que permitió un aumento máximo de la imagen (Fig. 2).

Los dientes que van a ser restaurados se montan en el sistema con una matriz metálica sujeta con una goma de ortodoncia, para permitir la colocación del cemento con una manipulación mínima.

Los materiales probados en nuestro estudio son tres nuevos cementos de vidrio ionómero fotopolimerizables detallados en la Tabla I.

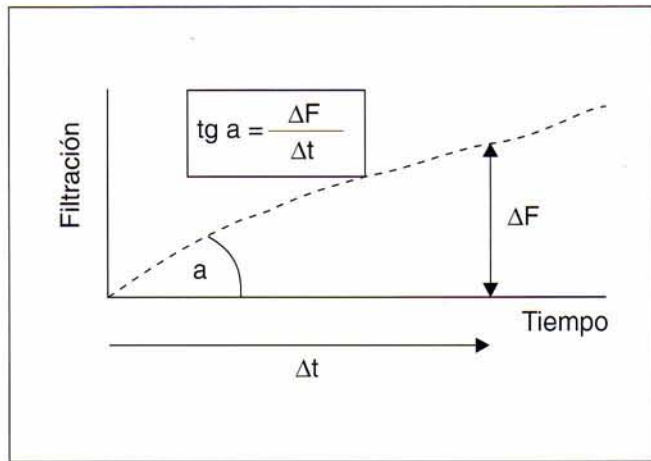


Figura 4. Metodología de medición: cálculo de la tangente de la curva en cada tramo estudiado. ΔF : valor de la filtración en el tramo estudiado, Δt : tiempo transcurrido, $Tg a$: tangente del ángulo (a), que indica la pendiente de la curva.

Para realizar las obturaciones se siguieron rigurosamente las indicaciones de los fabricantes, salvo en el caso de Vitremer (único material no predosificado) en el que no se utilizó la proporción polvo/líquido recomendada (1/1, sino 2/3) por dificultades en el manejo del material. Hemos de decir también que el Vitremer presenta una innovación con respecto a los otros materiales: añade a las dos reacciones de curado de todos los cementos de vidrio ionómero fotopolimerizables, la reacción de autocurado de la resina en la oscuridad, mediante un sistema catalizador

Producto Fabricante	Photac Fil ESPE	Vitremer 3M	Dyract De Trey
Acondicionador	Ac. Poliacrílico	Copolímero del Vitrebond Agua HEMA Etanol Fotoiniciadores	Penta UDMA TEGDMA Resina elastomérica Iniciadores Estabilizadores Acetona
Líquido	Mono y oligómeros compatibles con el vidrio ionómero Canforoquinona Agua	Copolímero del Vitrebond Agua HEMA Fotoiniciadores	UDMA TCB Vidrio Sr, F, Si Estabilizadores
Polvo	Vidrio de F, Ca, Al Ac. acrílico Ac. maleico Activadores	Cristales de F, Al, Si Pigmentos Sistema catalizador RedOx Ac ascórbico Persulfato K	

Tabla I. UDMA: Polímero de dimetacrilato de uretano, TEGDMA: polímero de trietilenglicol dimetacrilato TCB: resina patentada Penta: pentaclorofenol HEMA: 2-hidroxiethyl metacrilato

Red-Ox que se activa durante la mezcla, en presencia de agua. Esto permite, teóricamente, el curado de la resina en zonas inaccesibles a la luz y, por tanto, la aplicación del material en espesores grandes.

Para realizar el estudio establecimos cuatro grupos:

- Un grupo control de 9 ejemplares, en los que se cuantifica el flujo dentinario por milímetro cuadrado y por minuto, durante una hora sin obturar. Estos resultados los obtuvimos de otra experimentación cuyos resultados están, actualmente, en fase de publicación (Conejo B; Del-Nero O; De la Maçorra JC).

- Y tres grupos experimentales de ocho, siete y ocho especímenes cada uno, en los que se procede como sigue:

Se mide la filtración de cada ejemplar estudiado durante quince minutos (periodo "anterior").

Se obtura con el material investigado, según el grupo.

Se controla la filtración durante dos periodos más: uno "inmediato", desde la obturación al minuto treinta, aproximadamente, y otro "retardado", desde el minuto cuarenta y cinco al cincuenta y cinco, aproximadamente (Fig. 3).

Para facilitar el manejo de los datos, identificamos cada tramo de curva estudiado, con su respectiva pendiente, expresada ésta como la tangente del ángulo que forma con la horizontal. Dicha tangente se calcula dividiendo el incremento de microlitros por milímetro cuadrado entre el incremento del estudio (Fig. 4).

El estudio estadístico se hizo mediante el análisis de la varianza, utilizando las pruebas "F de Snédecor" y "Newman-Keuls". El primer test permite detectar la existencia, o no, de diferencias estadísticamente significativas entre las medias de las cuatro

muestras estudiadas en bloque (cuatro medias de las muestras del periodo anterior, cuatro del inmediato y cuatro del retardado) (32). En caso de que haya alguna diferencia en algún tramo, aplicaremos la prueba de Newman-Keuls, para determinar entre qué grupos ésta es significativa y entre cuáles no (33).

RESULTADOS

Los resultados, expresando la tangente media en cada tramo, se reflejan en la tabla II.

Tras realizar el análisis estadístico pudimos observar que en el primer tramo de estudio, en el que todos los ejemplares estaban sin restaurar, no aparecían diferencias estadísticamente significativas entre las cuatro muestras. Esto nos permitió certificar la homogeneidad de todos los grupos.

En el segundo tramo de la curva, el inmediato a la aplicación de los

Valores medios ($\mu\text{l}/\text{mm}^2$)				
	Control	Vitremer	Photac Fil	Dyract
Anterior	0.00373	0.01542	0.01283	0.00572
Inmediato	0.00282	0.00414	0.00988	0.00336
Retardado	0.00167	0.00281	0.00196	0.00070

Tabla II. Valores medios de la tangente, por gramos y grupos.

cementos, la prueba de Snédecor demostró la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre alguno de los grupos estudiados ($p < 0.05$). Tras realizar la prueba de Newman-Keuls comprobamos que esta diferencia se localizaba en el grupo de dientes restaurados con Photac Fil, cuyo nivel de filtración era claramente superior al de los tres grupos restantes ($p < 0.05$), para dicho tramo.

En el tercer tramo, el retardado, las diferencias volvieron a desaparecer.

DISCUSION

Es un hecho comprobado que los cementos de vidrio ionómero son materiales capaces de adherirse a los tejidos dentinarios (1), (4), (5), (7), (9), (10), (11), (12). Por ello cabría esperar un comportamiento diferente en cuanto al movimiento del fluido dentinario, entre los especímenes restaurados con cualquiera de los cementos utilizados (cuyo nivel de filtración) debía ser menor, al obturarse los túbulos de esta superficie dentinaria húmeda) y los especímenes sin restaurar del grupo control. Nuestros datos, sin embargo, no constatan este hecho. La única diferencia detectada en nuestro estudio se refiere al segundo tramo estudiado, el inmediato a la aplicación del cemento, y concretamente al grupo restaurado con Photac Fil, cuyo nivel de filtración es superior al de los tres grupos restantes.

Como posible explicación a este hecho, podríamos pensar que el medio de conservación de los dientes extraídos -etanol-, aunque recomendado por Goodis y cols (28), no fuera el idóneo e influyera de forma adversa sobre la adhesión de estos materiales, excepto el Vitremer en cuya fórmula figura el etanol. Si existiera alguna incompatibilidad química con dicha sustancia, ésta debería manifestarse en los dos compuestos en cuya composición no interviene el etanol (Photac Fil y Dyract); sin embargo, esto no ocurre en el grupo de especímenes restaurados con Dyract en cuya composición el etanol no figura.

Creemos que la causa más probable que explique esta diferencia en el comportamiento de los materiales en el segundo tramo de estudio, es el diferente manejo clínico que se realiza con ellos. Así, mientras el Vitremer y el Dyract requieren un acondicionamiento de la superficie dentinaria adhesiva sin eliminar el smear layer de la misma, el Photac Fil necesita maniobras de lavado y secado de conductos dentinarios debido a una presión positiva, de "empuje" del aire sobre el fluido. Dicho vaciamiento, al rellenarse, sería detectado como un movimiento de pérdida de fluido, al estar el sistema de detección, necesariamente, apical a la cámara pulpar. Si fuésemos capaces de recolectar el fluido que se aporta al diente, seríamos capaces de discriminar esto. Así podría expli-

carse por qué en el tramo inmediato a la aplicación de este material aumenta el nivel de filtración a través de la dentina de forma significativa.

Al proceder al acondicionamiento de la dentina como recomienda el fabricante para este producto (Photac Fil) se produce un importante salto en el sistema de medición, que no contabilizamos como tal, pues en nuestro diseño experimental se valoran en esta fase sólo los tramos en los que ya está colocado el cemento, y no los que denominamos de obturación (Fig. 3)

¿Por qué no se detectan diferencias entre las muestras restauradas y el grupo control?

El hecho de utilizar molares cortados a nivel del tercio oclusal de su corona y en la unión corono-radicular (método utilizado también por otros autores (29), (30)), da lugar a dos problemas: el primero, no controlar factores tan importantes como son la longitud y el radio de los túbulos en cada ejemplar estudiado; el segundo, trabajar con un espacio -la cámara pulpar, de tamaño variable- cuya presencia puede distorsionar las mediciones, pues no sabemos en qué momento el movimiento de la burbuja deja de expresar el relleno de líquido de este espacio, inicialmente vacío, para convertirse en reflejo real de la filtración. Este problema se solucionaría, nuevamente, si fuésemos capaces de detectar y medir el fluido perdido

por recolección directa de la superficie de filtración.

Por otra parte, el aparato utilizado y la metodología seguida para realizar este trabajo son similares a los descritos por otros autores (29), (30). La posibilidad de que pequeñas fugas de líquido en el sistema sean las responsables de estos resultados la hemos descartado, ya que se han utilizado en el estudio tres aparatos diferentes y obtenido resultados similares. Además antes de cada medición y durante la misma se comprobó el buen estado de todos los tubos y conexiones, así como la ausencia de fugas de líquido. Es posible, sin embargo que la unidad de flujo utilizada (microlitro) sea demasiado grosera e incapaz de detectar diferencias que en realidad sí existen.

El tiempo de medición podría ser, así mismo, demasiado corto y es posible que el descenso de la permeabilidad tras la restauración esté retardado. Este hecho, sin embargo, se contradice con una de las supuestas cualidades de estos cementos: su adhesión inmediata (1), (6), (7), (13), (15).

La presencia de resinas hidrofílicas en estos materiales podría favorecer la absorción de agua

por parte del cemento, enmascarando de esta forma los resultados (7), (14). Sin embargo, es difícil imaginar que su ritmo de hidratación sea exactamente el mismo para todos los materiales y para los dientes sin restaurar.

Por último consideramos como otro posible factor distorsionante de estos datos, la gran cantidad de barrillo que se forma cuando los ejemplares son cortados con el disco. Sabemos que muchos autores consideran necesaria la eliminación del smear layer superficial con ácidos débiles para favorecer una adecuada adhesión química entre el cemento de vidrio ionómero y el tejido dentario (8), (18), (19), (18). En este sentido hay que señalar que, previo al uso de uno de los materiales, concretamente el Photac Fil, y siguiendo las indicaciones del fabricante, se acondicionó la superficie dentinaria para eliminar el smear layer, por lo que este razonamiento se invalida, ya que en el tercer período de medición, el retardado, el comportamiento de los tres cementos es similar, siendo sus procedimientos de manejo en este sentido, opuestos.

Actualmente estamos trabajando para depurar la metodología y evitar, en lo posible, factores

como los citados que pueden influir en los resultados de forma no deseable. Para ello hemos modificado el aparato de medición de forma que podamos utilizar, en lugar de coronas de molares cortados -con los citados inconvenientes que éstas conllevarían-, discos de dentina cuyo espesor conocemos con exactitud. Conociendo dicho espesor, asignable a la longitud de los túbulos dentinarios implicados, sería más sencillo y exacto transpolar los resultados y compararlos con los de otros autores o experimentos. El radio de los túbulos dentinarios, otro de los factores críticos en la filtración dentinaria, se valorará en sucesivos estudios mediante observación microscópica.

CORRESPONDENCIA

J. C. de la Macorra García

Departamento de Odontología
Conservadora

Facultad de Odontología.

Universidad Complutense de
Madrid.

28040 - Madrid.

BIBLIOGRAFIA

1. MOUNT, G. J.: Atlas Práctico de Cementos de Ionómero de Vidrio. Editorial Salvat. 1990.
2. TYAS, M. J.: Clinical studies related to glass ionomers. *Op. Dent.* 1992; 5: 191-198.
3. McLEAN, J. W.: Clinical applications of Glas-Ionomer Cements. *Op. Dent.* 1992; 5: 184-190.
3. MOUNT, G. J.: Adhesion of Glas-Ionomer Cemenet in the Clinical Enviroment. *Op. Dent.* 1991. 16: 141-148.
5. ABOUSH, Y. E. Y.; JENKINS, C. B. G.: An evaluation of the bonding of glass-ionomer restoratives to dentine and enamel. *Dent. Mater.* 1986; 6: 179-184.
6. SMITH, D. C.: Composition and characteristics of glass ionomer cements. *JADA.* 1990; 120: 19-22.
7. SMITH, D. C.: Polyacrylic Acid-based Cements Adhesion to Enamel and Dentin. *Op. Dent.* 1992; 5: 177-183.
8. GONZALEZ LOPEZ, S.; PEREZ GUTIERREZ, I.; NAVAJAS RODRIGUEZ de MONDELO, J. M.: La unión del cemento de vidrio ionómero a la dentina. Un estudio "in vitro". *Rev Eur OdontoEst* 1991; 3: 161-166.
9. JEMT, T.; STALBLAD, P. A.; OILO, G.: Adhesion of Polycarboxylatebased Dental cements to Enamel. An in vivo Study. *J Dent Res* 1986; 65 (6): 885-887.

10. AKINMADE, A. O.; HILL, R. G.: Influence of cement layer thickness on the adhesive bond strength of polyalkenate cements. *Biomaterials*. 1992; 13 (13): 931-936.
11. COURY, T. L.; MIRANDA, F. J.; WILLER, R. D.; PROBST, R. T.: Adhesiveness of glass-ionomer cement to enamel and dentin: A laboratory study. *Op. Dent*. 1982; 7: 2-6.
12. WILSON, A. D.; PROSSER, H. J.; POWIS, D. M.: Mechanismo of adhesion of Polyelectrolyte Cements to Hydroxyapatite. *J Dent Res* 1983; 62 (5): 590-592.
13. BOURKE, A. M.; WALLS, A. W.; McCABE, J. F.: Light-activated glass polyalkenate (ionomer) cements: the setting reaction. *J Dent* 1992; 20: 115-120.
14. OILO, G.: Bond strength of new ionomer cements to dentin. *Scand J Dent Res* 1981; 89: 344-347.
15. MITRA, S. B.: Adhesion to dentin and physical properties of a light-cured glass-ionomer liner/base. *J Dent Res* 1991; 70 (1): 72-74.
16. MITCHEM, J. C.; GRONAS, D. G.: Adhesion to dentin with and without smear layer under varying degrees of wetness. *J Prost Dent* 1991; 66 (5): 619-622.
17. PRATI, C.; MONTANARI, G.; BIAGINI, G.; FAVA, F.; PASHLEY, D. H.: Effects of dentin surface treatments on the shear bond strength of Vitrabond. *Dent Mater* 1992, 8: 21-26.
18. SRISAWASDI, S.; BOYER, D. B.; REINHARDT, J. W.: The effect of removal of the smear layer on microleakage of class V restorations in vitro. *Dent Mater*. 1988; 4: 384-389.
19. JOYNT, R. B.; DAVIS, E. L.; WIECZKOWSKI, G.; PIERCE, L.: Effect of dentinal pretreatment on bond strength between glass-ionomer cement and dentin. *Op. Dent*. 1990; 15: 173-177.
20. PRATI, C.; NUCCI, G.; MONTANARI, G.: Effects of an acid and cleansing agents on shear bond strength and marginal microleakage of glass-ionomer cements. *Dent Mater* 1989; 5: 260-265.
21. DIAMOND, A.; CARREL, R.: The smear layer: a review of restorative progress. *J Ped* 1984; 8: 219-226.
22. WHITE, G. J.; BEECH, D. R.; TYAS, M. J.: Dentin smear layer: an asset or a liability for bonding?. *Dent Mater* 1989; 5: 379-383.
23. MAITA, E.; SIMPSON, M. D.; TAO, L.; PASHLEY, D. H.: Fluid and protein flux across the pulpodentine complex of the dog in vivo. *Archs Oral Biol* 1991; 36 (2): 103-110.
24. PASHLEY, D. H.; NELSON, R.; PASHLEY, E. L.: In vivo fluid movement across dentine in the dog. *Archs Oral Biol* 1981; 26: 707-710.
25. MAROLI, S.; KHERA, S. C.; KRELL, K. V.: Regional variation in permeability of young dentin. *Op Dent* 1992; 17: 93-100.
26. FOGEL, H. M.; MARSHALL, F. J.; PASHLEY, D. H.: Effects of distance from the pulp and thickness on the hydraulic conductance of human radicular dentin. *J Dent Res* 1988; 67 (11): 1381-1385.
27. PASHLEY, D. H.: Dentin-Predentin complex and its permeability: physiologic overview. *J Dent Res (Spec Iss)*. 1985; 613-620.
28. GOODIS, H. E.; MARSHALL, G. W.; WHITE, J. M.: The effects of storage after extraction of the teeth on human dentine permeability in vitro. *Archs Oral Biol* 1991; 36 (8): 561-566.
29. DERKSON, G. D.; PASHLEY, D. H.; DERKSON, M. E.: Microleakage measurement of selected restorative materials: A new in vitro method. *J Prost Dent* 1986; 56 (4): 435-440.
30. GOODIS, H. E.; TAO, L.; PASHLEY, D. H.: Evaporative water loss from human dentine in vitro. *Archs Oral Biol* 1990; 35 (7): 523-527.
31. Van HASSEL, H. J.: Physiology of the human dental pulp. *Oral Surg* 1971; 32 (1): 126-134.
32. CARRASCO, J. L.: Homogeneidad de un conjunto de muestras. En: *El método estadístico en la investigación médica 4ª ed.* Ed. Ciencia 3, SA Madrid, 1989.
33. CARRASCO, J. L.: Homogeneidad de un conjunto de muestras: Determinación particularizada de diferencias entre medias. En: *El método estadístico en la investigación médica 4ª ed.* Ed. Ciencia 3, SA Madrid, 1989.