

Research Article

The Effect of Calcium Hydroxide Particle Size on the Viability of NIH3T3 Fibroblast Cellson

¹Atia Nurul Sidiqa, ²Maysa Nursaena, ³Myrna Nurlatifah Zakaria¹Dental Materials Department, Faculty of Dentistry, Universitas Jenderal Achmad Yani, Cimahi, Indonesia²Faculty of Dentistry, Universitas Jenderal Achmad Yani, Cimahi, Indonesia³Department of Clinical Sciences, College of Dentistry, Ajman University, Ajman, United Arab Emirates

Received date: November 2, 2025

Accepted date: December 1, 2025

Published date: December 28, 2025

KEYWORDS

Cytotoxicity, fibroblast, intracanal medicament microparticle, nanoparticle



DOI : 10.46862/interdental.v21i3.12911

ABSTRACT

Introduction: Calcium hydroxide [Ca(OH)₂] is a widely used intracanal medicament due to its antimicrobial properties and its ability to stimulate hard tissue formation. Ca(OH)₂ plays a crucial role in endodontic therapy, primarily for its antimicrobial properties and its potential to facilitate reparative dentin formation. Its cytotoxic effects, particularly in relation to particle size, require in-depth investigation. This study aims to evaluate the cytotoxicity of calcium hydroxide with varying particle sizes on cultured fibroblast cells, thus providing insights into the implications of particle size on the biological responses elicited by calcium hydroxide.

Material and Methods: This study was an in vitro experimental research aimed to evaluate the effect of Ca(OH)₂ particle size on the viability of NIH3T3 fibroblast cells. Three forms of Ca(OH)₂ were used: nanoparticles, microparticles, and commercial Ca(OH)₂ as the positive control. Each sample was mixed with distilled water to form a paste and applied to cell cultures, while untreated cells served as the negative control. Cytotoxicity was assessed using the MTT assay after 24 hours of exposure, and cell viability was calculated relative to the control. Data were analyzed using the Kruskal Wallis and Mann Whitney tests with a significance level of $\alpha = 0.05$.

Results and Discussions: The nanoparticle Ca(OH)₂ group showed the lowest cell viability (1.8%), which was significantly lower than that of the microparticle group (3.0%) and the commercial Ca(OH)₂ group (5.0%) ($p = 0.1$). All Ca(OH)₂ groups exhibited a high level of cytotoxicity, with cell viability below 20%, categorized as highly toxic. These results indicate that nanoparticle Ca(OH)₂ may increase the risk of cellular toxicity.

Conclusion: These findings emphasize the importance of considering particle size in the use of Ca(OH)₂ as an intracanal medicament. Further biocompatibility evaluations are required to balance its antibacterial effectiveness with the safety of surrounding tissues.

Corresponding Author:

Atia Nurul Sidiqa

Dental Materials Department, Faculty of Dentistry
Universitas Jenderal Achmad Yani, Cimahi, Indonesia
Email: atia.nurul@lecture.unjani.ac.id

How to cite this article: Sidiqa AN, Nursaena M, Zakaria MN. (2025). The Effect of Calcium Hydroxide Particle Size on the Viability of NIH3T3 Fibroblast Cells. *Interdental Jurnal Kedokteran Gigi* 21(3), 362-7. DOI: 10.46862/interdental.v21i3.12911

Copyright: ©2025 Atia Nurul Sidiqa This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License. Authors hold the copyright without restrictions and retain publishing rights without restrictions.

Pengaruh Ukuran Partikel Kalsium Hidroksida terhadap Viabilitas Sel Fibroblas NIH3T3

ABSTRAK

Pendahuluan: Kalsium hidroksida ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) merupakan medikamen intrakanal yang banyak digunakan karena memiliki sifat antimikroba dan kemampuan untuk merangsang pembentukan jaringan keras. $\text{Ca}(\text{OH})_2$ memainkan peran penting dalam terapi endodontik, terutama karena sifat antimikroba serta potensinya dalam merangsang pembentukan dentin reparatif. Efek sitotoksiknya, khususnya terkait ukuran partikel, memerlukan investigasi yang mendalam. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi sitotoksitas kalsium hidroksida dengan variasi ukuran partikel terhadap sel fibroblas yang dikultur, sehingga dapat memberikan pemahaman mengenai implikasi ukuran partikel terhadap respons biologis yang ditimbulkan oleh kalsium hidroksida.

Bahan dan Metode: Penelitian ini merupakan eksperimen *in vitro* yang bertujuan mengevaluasi pengaruh ukuran partikel $\text{Ca}(\text{OH})_2$ terhadap viabilitas sel fibroblas NIH3T3. Sampel yang digunakan adalah $\text{Ca}(\text{OH})_2$ dengan ukuran nanopartikel, mikropartikel, dan komersial sebagai kontrol positif. Setiap sampel dicampur dengan akuades hingga membentuk pasta dan diaplikasikan pada kultur sel, sedangkan sel tanpa perlakuan menjadi kontrol negatif. Uji sitotoksitas dilakukan dengan metode MTT setelah 24 jam paparan, dan viabilitas sel dihitung relatif terhadap kontrol. Data dianalisis menggunakan uji Kruskal Wallis, dan Mann Whitney dengan tingkat signifikansi $\alpha = 0,05$.

Hasil dan Pembahasan: Kelompok nanopartikel $\text{Ca}(\text{OH})_2$ menunjukkan viabilitas sel terendah (1,8%), secara signifikan lebih rendah dibandingkan kelompok mikropartikel (3,0%) dan $\text{Ca}(\text{OH})_2$ komersial (5,0%) ($p=0,1$). Semua kelompok $\text{Ca}(\text{OH})_2$ menunjukkan tingkat sitotoksitas tinggi dengan viabilitas sel $<20\%$, yang dikategorikan sebagai sangat toksik. Hasil ini menunjukkan bahwa nanopartikel $\text{Ca}(\text{OH})_2$ berpotensi meningkatkan risiko toksisitas terhadap sel.

Simpulan: Temuan ini menegaskan pentingnya mempertimbangkan ukuran partikel dalam penggunaan $\text{Ca}(\text{OH})_2$ sebagai medikamen intrakanal. Evaluasi biokompatibilitas lanjutan diperlukan untuk menyeimbangkan efektivitas antibakteri dengan keamanan jaringan sekitar.

KATA KUNCI: Fibroblas, medikamen intrakanal, mikropartikel, nanopartikel, sitotoksitas

PENDAHULUAN

Kalsium hidroksida ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) adalah bahan utama pasta medikamen intrakanal yang diaplikasikan ke dalam saluran akar gigi yang mengalami infeksi. $\text{Ca}(\text{OH})_2$ bersifat basa dengan pH antara 11–12.8.¹ Penggunaan medikamen intrakanal harus diperhatikan sifat biokompatibilitasnya, karena merupakan hal penting yang menjadi syarat utama untuk dapat diterima oleh jaringan tubuh.² $\text{Ca}(\text{OH})_2$ merupakan bahan medikamen intrakanal yang paling umum digunakan di seluruh dunia dan menjadi salah satu obat saluran akar yang paling efektif untuk pengobatan endodontik.^{3,4} Nanoteknologi baru-baru ini menawarkan cara baru untuk mengurangi ukuran partikel menjadi berukuran nano, meningkatkan karakteristik berbagai bahan sehingga menjadi bahan yang lebih aktif dan efektif.⁴

Beberapa penelitian mengindikasikan bahwa partikel $\text{Ca}(\text{OH})_2$ dengan ukuran partikel lebih kecil dapat meningkatkan aktivitas antimikroba karena luas permukaan yang lebih besar.⁵ Namun, kondisi ini juga berpotensi meningkatkan sitotoksitas. Penelitian

sebelumnya melaporkan bahwa perbandingan berbagai *sealer* saluran akar berbasis $\text{Ca}(\text{OH})_2$ menunjukkan tingkat sitotoksitas yang bervariasi.⁶ Variabel ini berkaitan dengan mekanisme disolusi dan pelepasan ion $\text{Ca}(\text{OH})_2$, ukuran partikel dapat memengaruhi laju pelepasan ion hidroksil, sehingga berdampak pada perubahan pH lokal dan respons seluler. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa meskipun ukuran partikel yang lebih halus cenderung meningkatkan aktivitas antimikroba, kondisi ini juga berisiko memicu efek sitotoksik yang lebih besar akibat tingginya konsentrasi lokal bahan aktif.^{7,8,9}

Kalsium hidroksida ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) memainkan peran penting dalam terapi endodontik, terutama karena sifat antimikroba serta potensinya dalam merangsang pembentukan dentin reparatif. Efek sitotoksiknya, khususnya terkait ukuran partikel, memerlukan investigasi yang mendalam. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi sitotoksitas kalsium hidroksida dengan variasi ukuran partikel terhadap sel fibroblast 3T3NIH yang dikultur, sehingga dapat memberikan pemahaman mengenai implikasi ukuran partikel terhadap respons biologis yang

ditimbulkan oleh kalsium hidroksida. Uji toksisitas adalah uji untuk mengamati aktivitas farmakologi suatu senyawa yang mempunyai prinsip untuk menguji bahan bioaktif yang berbahaya.

BAHAN DAN METODE

Rancangan penelitian ini menggunakan jenis penelitian ekperimental murni laboratoris dengan menggunakan metode MTT Assay dengan fokus penelitian yang dilakukan bertujuan untuk mengetahui perbandingan toksisitas nanopartikel Ca(OH)_2 dan mikropartikel Ca(OH)_2 terhadap sel fibroblas 3T3NIH. Kelompok dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan yaitu, kelompok 1: kultur sel fibroblas 3T3NIH yang dilakukan substitusi dengan 1 gram nanopartikel Ca(OH)_2 ; kelompok 2 : kultur sel fibroblas 3T3NIH yang dilakukan substitusi dengan 1 gram mikropartikel Ca(OH)_2 ; kelompok 3 : kultur sel fibroblas 3T3NIH saja sebagai kontrol negatif. Campuran bubuk kalsium hidroksida Ca(OH)_2 ditambahkan aquades dengan perbandingan L/P nya 0,8 diatas *glass lab* menggunakan spatel semen sampai konsistensinya menyerupai pasta untuk menghasilkan semen mikropartikel Ca(OH)_2 dan nanopartikel Ca(OH)_2 . Kultur sel fibroblas NIH-3T3 dalam DMEM dengan FBS 10% dan penisilin/streptomisin 1%. Selanjutnya sel diinkubasi pada suhu 37°C dalam atmosfer yang dilembabkan dengan 5% CO_2 . Sel dengan kepadatan 2×10^5 dalam 100 μL media kultur dimasukkan ke dalam masing-masing sumuran. Sel fibroblas dibagi dalam 2 kelompok perlakuan. Kelompok I merupakan kontrol negatif dengan menggunakan kontrol media berisi media kultur saja sebanyak 5 sumuran, kelompok II nanopartikel Ca(OH)_2 konsentrasi 10% pada 5 sumuran, dan kelompok III mikropartikel Ca(OH)_2 dengan konsentrasi 10% pada 5 sumuran. Setelah itu diinkubasi selama 24, dan 72 jam lalu keluarkan *microplate* (96 well/sumuran) dari inkubator. Tambahkan MTT (5 mg/mL dalam PBS) kemudian diinkubasi kembali selama 2-4 jam dengan suhu 37°C. Suspensi sel ditambahkan larutan DMSO (*Dimethylsulfoxide*) tiap sumuran. *Plate* diaduk secara mekanis dengan *plate Shaker* sampai kristal formazan terlarut, selama 5 menit. Sel fibroblas yang hidup akan

terwarnai dengan formazan menjadi biru, sedangkan yang mati tidak terbentuk warna biru. Kemudian formazan dibaca absorbansinya secara spektrofotometri dengan ELISA reader pada panjang gelombang 620. Setelah itu hitung rata-rata persentase kehidupan sel dari nilai absorbansi masing-masing sampel pada setiap konsentrasi terhadap nilai konsentrasi. Persentase kehidupan sel dihitung, sebagai berikut :

$$\% \text{ Viabilitas} = \frac{\text{Grup tes} + \text{media}}{\text{Sel} + \text{media}} \times 100 \%$$

Analisis univariat yaitu analisis data bertujuan untuk menggambarkan karakteristik objek penelitian yang meliputi nilai toksisitas sel fibroblas yang disajikan dalam rata-rata, standar deviasi, median, minimum, maksimum. Analisis bivariat, data tersebut dianalisis secara statistik untuk mengetahui beda efek toksisitas pada 3 kelompok, yaitu nanopartikel Ca(OH)_2 , mikropartikel Ca(OH)_2 , dan kontrol negatif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh ukuran partikel Ca(OH)_2 terhadap sitotoksitas fibroblas 3T3NIH. Penelitian dilakukan pada 3 kelompok, yaitu kultur sel fibroblas 3T3NIH yang dilakukan substitusi dengan 1 gram nanopartikel Ca(OH)_2 (kelompok 1), kultur sel fibroblas 3T3NIH yang dilakukan substitusi dengan 1 gram mikropartikel (kelompok 2), dan kultur sel fibroblas 3T3NIH yang dilakukan substitusi dengan 1 gram Ca(OH)_2 komersial (kelompok 3).

Tabel 1. Persentase sel hidup kalsium hidroksida dengan berbagai ukuran terhadap 3T3NIH

Kelompok	Presentase Sel Hidup (%)	
	Median	Rerata(min-maks)
Nanopartikel Ca(OH)_2	2,18	0,88-2,47
Mikropartikel Ca(OH)_2	2,96	2,96-3,10
Kontrol positif	5,14	4,22-5,74

Tabel 1 merupakan hasil uji sitotoksitas berbagai ukuran Ca(OH)_2 terhadap fibroblas 3T3NIH dengan persentase sel hidup pada bahan nanopartikel Ca(OH)_2 memiliki rata-rata sel hidup sebesar 2,18%, pada bahan

mikropartikel Ca(OH)_2 memiliki rata-rata sel hidup sebesar 2,96%, dan pada kontrol positif memiliki rata-rata sel hidup sebesar 5,14%. Nilai rerata sitotoksitas ukuran Ca(OH)_2 terhadap fibroblas 3T3NIH dengan persentase sel hidup paling rendah pada bahan nanopartikel Ca(OH)_2 sebesar 2,18%. Seluruh kelompok kemudian dilakukan uji normalitas menggunakan tes Shapiro-Wilk dan uji homogenitas data dengan tes Levene.

Tabel 2. Uji normalitas dan homogenitas kalsium hidroksida dengan berbagai ukuran terhadap 3T3NIH

Kelompok	Normalitas (sig)	Uji Homogenitas (sig)
Nanopartikel Ca(OH)_2	0,336	0,098
Mikropartikel Ca(OH)_2	0,0001*	
Kontrol positif	0,759	

Ket: *Tidak normal

Berdasarkan Tabel 2 hasil analisis menunjukkan bahwa data sitotoksitas Ca(OH)_2 terhadap sel fibroblas 3T3NIH pada kelompok nanopartikel Ca(OH)_2 dan kontrol positif berdistribusi normal ($p > 0,05$), sedangkan kelompok mikropartikel Ca(OH)_2 menunjukkan distribusi yang tidak normal ($p < 0,05$). Uji homogenitas varians menghasilkan nilai $p = 0,098$ ($p > 0,05$), yang menandakan bahwa data bersifat homogen. Oleh karena terdapat kelompok data yang tidak berdistribusi normal, analisis dilanjutkan menggunakan uji non-parametrik Kruskal–Wallis.

Tabel 3. Perbandingan nilai sitotoksitas berbagai ukuran kalsium hidroksida terhadap sel 3T3NIH

Variabel	Sel Fibroblas 3T3NIH		p
	Median	Rerata (min-maks)	
Nanopartikel Ca(OH)_2	2,18	0,88-2,47	0,027*
Mikropartikel Ca(OH)_2	2,96	2,96-3,10	
Kontrol positif	5,14	4,22-5,74	

Ket: *signifikan $p < 0,05$

Berdasarkan hasil uji Kruskal–Wallis yang ditampilkan pada Tabel 3 terdapat perbedaan yang signifikan pada tingkat sitotoksitas Ca(OH)_2 terhadap sel fibroblas 3T3NIH di antara ketiga kelompok yang diuji, dengan nilai $p = 0,027$ ($p < 0,05$). Temuan ini menunjukkan adanya perbedaan rerata yang bermakna secara statistik

antara kelompok nanopartikel Ca(OH)_2 , mikropartikel Ca(OH)_2 , dan kontrol positif.

Tabel 4. Uji *post hoc* sitotoksitas berbagai ukuran kalsium hidroksida terhadap sel 3T3NIH

Variabel	p
Nanopartikel Ca(OH)_2 -Mikropartikel Ca(OH)_2	0,05*
Mikropartikel Ca(OH)_2 -Kontrol positif	0,05*
Nanopartikel Ca(OH)_2 -Kontrol positif	0,05*

Ket: *signifikan $p < 0,05$

Hasil uji *post hoc* menggunakan Mann–Whitney yang disajikan pada Tabel 4 menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada tingkat sitotoksitas Ca(OH)_2 terhadap sel fibroblas 3T3NIH antar kelompok perlakuan, dengan nilai $p < 0,05$. Temuan ini mengindikasikan bahwa rerata sitotoksitas berbeda secara bermakna secara statistik antara kelompok nanopartikel Ca(OH)_2 , mikropartikel Ca(OH)_2 , dan kontrol positif.

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh ukuran partikel Ca(OH)_2 yang merupakan bahan dasar medikamen intrakanal terhadap sitotoksitas sel fibroblast 3T3NIH. Bahan medikamen intrakanal harus memiliki toksisitas yang rendah dan biokompatibilitas yang tinggi karena dapat dengan mudah melewati apeks dan berinteraksi dengan jaringan lunak maupun keras periapical, apabila bersifat toksik, bahan tersebut dapat menyebabkan peradangan dan menghambat proses penyembuhan jaringan.¹⁰

Pada penelitian ini diperoleh hasil bahwa viabilitas sel nanopartikel Ca(OH)_2 19,3% (sitotoksik berat), viabilitas sel mikropartikel Ca(OH)_2 31,6% (sitotoksik sedang), dan viabilitas sel kontrol positif 52,9% (sitotoksik sedang). Hasil penelitian serupa yang menunjukkan bahwa Ca(OH)_2 menunjukkan efek sitotoksik setelah paparan 24 jam pada *stem cells of the human apical papilla* (SCAP).¹¹ Berbeda dengan hasil penelitian sebelumnya yang menunjukkan hasil bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan yang ditunjukan dalam sitotoksitas nanopartikel dan kontrol positif pada sel fibroblas. Pada penelitian tersebut dilakukan pengukuran sitotoksitas dengan interval waktu 24 jam dan 72 jam dengan menggunakan sel fibroblas L929.¹² Hasil penelitian

menunjukkan bahwa kontrol positif menghasilkan viabilitas sel lebih rendah daripada nanopartikel $\text{Ca}(\text{OH})_2$.¹⁰ Menurut standar yang berlaku, suatu bahan dikategorikan tidak toksik apabila persentase viabilitas sel berada di atas 60% dan berdasarkan hasil, persentase sel hidup yang diperoleh dari uji MTT tidak ada viabilitas yang menunjukkan nilai kurang dari 70%, sehingga termasuk dalam kategori grade 1 sesuai dengan ISO 10993-5, sehingga bahan tersebut dapat dinyatakan bersifat toksik.

Nanopartikel $\text{Ca}(\text{OH})_2$ memiliki keunggulan berupa aktivitas antimikroba yang lebih kuat, kemampuan penetrasi yang lebih tinggi ke dalam biofilm saluran akar, serta difusi yang lebih baik ke dalam tubulus dentin.^{13,14} Namun, ukuran partikel mempengaruhi berbagai interaksi fisikokimia yang berperan dalam jalur sitotoksik, dan berpengaruh terhadap toksisitas melalui beberapa mekanisme. Mekanisme utama yang didukung oleh berbagai penelitian eksperimental meliputi peningkatan luas permukaan efektif dan adsorpsi protein, interaksi dengan membran serta cara partikel masuk ke dalam sel, stres oksidatif, dan pelepasan ion dari partikel.¹⁵

Pasta $\text{Ca}(\text{OH})_2$ yang digunakan sebagai medikamen intrakanal berada dalam kontak langsung dengan jaringan apikal dan periapikal, sehingga bahan tersebut tidak boleh bersifat sitotoksik maupun menimbulkan iritasi pada jaringan tersebut. Metode uji sitotoksitas *in vitro*, seperti yang digunakan dalam penelitian ini, dapat dipengaruhi oleh jenis sel dan metode yang digunakan.¹⁶ Metode MTT *assay* merupakan prosedur yang banyak digunakan dan dipercaya untuk menilai viabilitas sel dengan menentukan persentase sel yang tetap hidup setelah terpapar bahan uji. Namun, metode ini memiliki keterbatasan, salah satunya adalah kemungkinan terjadinya gangguan pada kondisi pengujian akibat masuknya partikel uji selama proses pembuatan sediaan, yang dapat menyebabkan hasil pengukuran viabilitas sel tampak lebih tinggi dari kondisi sebenarnya.¹⁷ Oleh karena itu, diperlukan analisis tambahan untuk mempelajari respons biologis terhadap bahan endodontik.

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan dapat ditarik kesimpulan bahwa ukuran partikel $\text{Ca}(\text{OH})_2$ mempengaruhi sitotoksitas sel fibroblast 3T3NIH, namun masih dalam kriteria toksisitas ringan dan sedang.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jenderal Achmad Yani, melalui Hibah internal Unjani dengan nomor Skep Rektor Nomor: Skep/188/Unjani/VI/2025.

DAFTAR PUSTAKA

1. Jia L, Zhang X, Shi H, Li T, Lv B, Xie M. The Clinical effectiveness of calcium hydroxide in root canal disinfection of primary teeth: A meta-analysis. *Medical Science Monitor* 2019; 25: 2908–16. Doi: 10.12659/MSM.913256.
2. Zafar MS, Ullah R, Qamar Z, Fareed MA, Amin F, Khurshid Z, et al. Properties Of Dental Biomaterials. *Advanced Dental Biomaterials*. Elsevier; 2019. p. 7–35. Doi: 10.1016/B978-0-08-102476-8.00002-5.
3. Barbosa-Ribeiro M, Arruda-Vasconcelos R, de Jesus-Soares A, Zaia AA, Ferraz CCR, de Almeida JFA, et al. Effectiveness of calcium hydroxide-based intracanal medication on infectious/inflammatory contents in teeth with post-treatment apical periodontitis. *Clin Oral Investig* 2019; 23(6): 2759–66. Doi: 10.1007/s00784-018-2719-0.
4. Ghanbarzadegan A, Ajami M, Aminsobhani M. The effect of different combinations of calcium hydroxide as intra-canal medicament on endodontic pain: A randomized clinical trial study. *Iran Endod J* 2019; 14(1): 1–6. Doi: 10.22037/iej.v14i1.22815.
5. Guerreiro JCM, Ochoa-Rodríguez VM, Rodrigues EM, Chavez-Andrade GM, Tanomaru-Filho M, Guerreiro-Tanomaru JM, et al. Antibacterial activity, cytocompatibility and effect of Bio-C Temp bioceramic intracanal medicament on osteoblast biology. *Int Endod J* 2021; 54(7): 1155–65. Doi: 10.1111/iej.13502.

6. Beltes P, Koulaouzidou E, Kotoula V, Kortsaris AH. In vitro evaluation of the cytotoxicity of calcium hydroxide-based root canal sealers. *Dental Traumatology* 1995; 11(5): 245–9. Doi: 10.1111/j.1600-9657.1995.tb00497.x.
7. Janani K, Teja K, Ajitha P. Cytotoxicity of oregano essential oil and calcium hydroxide on L929 fibroblast cell: A molecular level study. *Journal of Conservative Dentistry* 2021; 24(5): 457–63. Doi: 10.4103/JCD.JCD_560_20.
8. Kumar A, Tamanna S, Iftekhar H. Intracanal medicaments – Their use in modern endodontics: A narrative review. *Journal of Oral Research and Review* 2019; 11(2): 94–99. Doi: 10.4103/jorr.jorr_3_19.
9. Ordinola-Zapata R, Noblett WC, Perez-Ron A, Ye Z, Vera J. Present status and future directions of intracanal medicaments. *Int Endod J* 2022; 55(Suppl 3): 613–36. Doi: 10.1111/iej.13731.
10. Dianat O, Azadnia S, Mozayeni MA. Toxicity of calcium hydroxide nanoparticles on murine fibroblast cell line. *Iran Endod J* 2015; 10(1): 49–54.
11. Saberi EA, Karkehabadi H, Mollashahi NF. Cytotoxicity of various endodontic materials on stem cells of human apical papilla. *Iran Endod J* 2016; 11(1): 17–22. Doi: 10.7508/iej.2016.01.004.
12. Farias M de P, Matos F de S, Carvalho NC, De Almeida RP, De Mendonça AAM, De Albuquerque Júnior RLC, et al. Assessment of intracanal medications cytotoxicity on L929 fibroblast cells. *Bioscience Journal* 2016; 32(2): 566–73. Doi: 10.14393/BJ-v32n2a2016-30974.
13. Dianat O, Saedi S, Kazem M, Alam M. Antimicrobial activity of nanoparticle calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis*: an in vitro study. *Iran Endod J* 2015; 10(1): 39–43. Doi: 10.22037/iej.v10i1.6379.
14. Naseri M, Eftekhar L, Gholami F, Atai M, Dianat O. The effect of calcium hydroxide and nano-calcium hydroxide on microhardness and superficial chemical structure of root canal dentin: an ex vivo study. *J Endod* 2019; 45(9): 1148–54. Doi: 10.1016/j.joen.2019.06.002.
15. Kim M, Jeong Y, Kim EH, Park J, Lee H. Probing Size-Dependent Cytotoxicity of Polypropylene/Polyethylene Microparticles Fabricated via Premix Membrane Emulsification. *J Biomed Nanotechnol* 2024; 20(11): 1730–5. Doi: 10.1166/jbn.2024.3922.
16. da Silva GF, Cesário F, Garcia AMR, Weckwerth PH, Duarte MAH, de Oliveira RC, et al. Effect of association of non-steroidal anti-inflammatory and antibiotic agents with calcium hydroxide pastes on their cytotoxicity and biocompatibility. *Clin Oral Investig* 2020; 24(2): 757–63. Doi: 10.1007/s00784-019-02923-y.
17. Kaval ME, Cakir B, Polatli E, Rençber S, Karavana SY, Nalbantsoy A, et al. IL-1 β , IL-6 and TNF- α expression levels of macrophage cells induced by benzydamine hydrochloride, benzydamine hydrochloride with chitosan, calcium hydroxide and chlorhexidine medicaments: An ELISA study. *Dent Mater J* 2022; 41(4): 2021–265. Doi: 10.4012/dmj.2021-265.