

CENTRO UNIVERSITÁRIO UNIFACVEST
CURSO DE ODONTOLOGIA
CRISLEI ANSELMO

REVASCULARIZAÇÃO PULPAR: REVISÃO DA LITERATURA

LAGES

2019

CRISLEI ANSELMO

REVASCULARIZAÇÃO PULPAR: REVISÃO DA LITERATURA

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Centro Universitário UNIFACVEST como parte dos requisitos para obtenção do grau de Bacharel em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Renan Carlos de Re
Silveira

LAGES

2019

CRISLEI ANSELMO

REVASCULARIZAÇÃO PULPAR: REVISÃO DA LITERATURA

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Centro Universitário UNIFACVEST como parte dos requisitos para obtenção do grau de Bacharel em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Renan Carlos de Re Silveira

Lages, SC ____/____/____. Nota _____

Lessandro Machry
Coordenador do curso de Odontologia

LAGES

2019

REVASCULARIZAÇÃO PULPAR: REVISÃO DA LITERATURA

Crislei Anselmo¹
Renan Carlos de Re Silveira²

RESUMO

O tratamento endodôntico de dentes com rizogênese incompleta e necrose pulpar configura um grande desafio. Esses dentes eram habitualmente abordados com técnicas de apicificação, por meio do uso de hidróxido de cálcio no longo prazo ou realização imediata de uma barreira apical com agregado trióxido mineral (MTA), tratamentos que não oferecem possibilidade de continuidade de desenvolvimento radicular. A endodontia regenerativa engloba métodos biológicos que visam substituir tecidos dentários danificados e restaurar as funções fisiológicas normais da polpa. Envolve a tríade de células-tronco, arcabouços e moléculas de sinalização, por meio de um coágulo sanguíneo induzido, seguido pela colocação de uma barreira intracanal para evitar a microinfiltração. Este estudo consiste de uma revisão da literatura, acerca do potencial da endodontia regenerativa e os procedimentos envolvidos. Foram incluídos estudos publicados a partir de 2010, nos idiomas inglês e português, revisados por pares. Um protocolo padronizado para a revascularização pulpar ainda não foi estabelecido. Os avanços nessa modalidade de tratamento têm experimentado um aumento expressivo do conhecimento relacionado à engenharia tecidual e sua aplicabilidade clínica.

Palavras-chave: Revascularização pulpar. Endodontia Regenerativa. Dentes imaturos.

¹ Acadêmica do curso de Odontologia, 9ª fase, Disciplina de TCC I, do Centro Universitário UNIFACVEST.

² Professor Dr. Em Dentística.

PULP REVASCULARIZATION: LITERATURE REVIEW

Crislei Anselmo¹
Renan Carlos de Re Silveira²

ABSTRACT

The endodontic treatment of teeth with incomplete rhizogenesis and pulp necrosis is a major challenge. In these situations, the approach consisted usually of apicification techniques, using long-term calcium hydroxide or immediate apex barrier with mineral trioxide aggregate (MTA), interrupting the root development. Regenerative endodontics encompasses biological methods that aim to replace damaged dental tissues and restore the normal and physiological functions of the pulp. It involves the triad of signaling stem cells, scaffolds, and molecules through an induced blood clot, followed by the placement of an intracanal barrier to prevent microleakage. In this review of the literature, studies published from 2010, in English and Portuguese, all of them peer reviewed. A standardized protocol for pulp revascularization has not yet been established. Advances in this treatment modality have experienced a significant increase in knowledge related to tissue engineering and its clinical applicability.

Key words: Pulp revascularization. Regenerative endodontic, Immature teeth.

¹Acadêmica do curso de Odontologia, 9ª fase, Disciplina de TCC I, do Centro Universitário UNIFACVEST.

²Professor Dr. Em Dentística.

*Dedico este trabalho a Deus, sempre me ajudando a superar obstáculos.
A meus pais Ari e Olivia, meus orientadores da vida.*

“One, remember to look up at the stars and not down at your feet. Two, never give up work. Work gives you meaning and purpose, and life is empty without it. Three, if you are lucky enough to find love, remember it is there and don’t throw it away.”

Stephen HawkinG

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	8
2 OBJETIVOS.....	10
2.1 OBJETIVO GERAL.....	10
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	10
3 METODOLOGIA.....	10
4 REVISÃO DA LITERATURA.....	11
4.1 RIZOGÊNESE INCOMPLETA.....	11
4.2 CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS E FATORES DE CRESCIMENTO.....	13
4.3 IRRIGAÇÃO E DESINFECÇÃO EM DENTES IMATUROS NECRÓTICOS.....	15
4.4 ARCABOUÇOS.....	20
4.5 PROTOCOLO CLÍNICO.....	24
5 CONCLUSÃO.....	25
REFERÊNCIAS.....	25

1 INTRODUÇÃO

Os dentes que não possuem a raiz completamente formada são ditos com rizogênese incompleta. Nesses casos, a forma do canal tem a base maior voltada para a região apical e com dimensões amplas, sem anteparo para manter o material obturador e selar o canal tridimensionalmente, inviabilizando os procedimentos endodônticos convencionais (SOARES, GOLDBERG, 2011).

Frente à necessidade de abordagem endodôntica, um tratamento conservador é sempre o mais indicado. Diante da vitalidade pulpar, intervenções no sistema de canais radiculares devem ser evitadas, a fim de manter a integridade da polpa e desse modo viabilizar a continuidade do processo de formação radicular. Em dentes com rizogênese incompleta e que sofreram processo de necrose pulpar, o reparo está vinculado no combate à infecção. (LOPES, SIQUEIRA, 2015).

Ao interromper o desenvolvimento radicular, o tratamento endodôntico adequado leva à formação de uma barreira apical, procedimento definido por apicificação, sendo possível realizar o selamento hermético do canal dentro dos limites recomendados. Esses dentes imaturos eram usualmente tratados por meio de hidróxido de cálcio no longo prazo ou de forma imediata com agregado trióxido mineral (MTA) (BERMAN, HARGREAVES, 2017). No entanto, a susceptibilidade do dente à fratura é alta, devido à fragilidade das paredes dentinárias. Na busca de mecanismos que possibilitem o restabelecimento da vitalidade pulpar e continuidade da formação radicular, novas abordagens terapêuticas foram desenvolvidas, denominadas por procedimentos de revascularização, revitalização ou regeneração pulpar. Efetivamente, os dentes com rizogênese incompleta implicam em procedimentos endodônticos ativos capazes de revascularizar a polpa e promover espessamento das finas paredes dentinárias, dessa maneira, fortalecendo a estrutura do dente e prevenindo fraturas (PALMA, 2013; PETER, 2018).

A definição de revascularização pulpar se dá pela desinfecção dos sistemas de canais radiculares, estimulação da indução de um sangramento da região periapical, e consequente preenchimento do canal radicular com coágulo sanguíneo. As células indiferenciadas oriundas da papila apical em conjunto aos fatores de crescimento presentes, possivelmente liberados pelas plaquetas e dentina, serão responsáveis pelo princípio da formação de um novo tecido no interior do canal radicular, base para o restabelecimento das condições viáveis da polpa de dentes imaturos portadores de necrose pulpar (LOVELACE *et al.*, 2011). Os arcabouços

utilizados na terapia regenerativa podem ser naturais ou sintéticos e o alicerce ideal provê biocompatibilidade, fixação, migração, multiplicação e organização tridimensional das células, o que possibilita a reposição estrutural fisiológica do tecido alvo (GALLER, *et al.*, 2011). O objetivo dos procedimentos endodônticos regenerativos é restabelecer as funções fisiológicas normais da polpa. A partir da década de 60, quando foi relatada a importância do coágulo sanguíneo na restauração de uma polpa dental danificada, estudos vem sendo feitos desenvolvidos sobre o tema (ALBUQUERQUE *et al.*, 2014; BERMAN, HARGREAVES, 2017). Os primeiros experimentos de regeneração envolviam um sangramento provocado no terço apical do canal radicular e posterior preenchimento do terço médio e coronal com gutapercha e pasta de Kloroperka. Gradativamente o coágulo foi substituído por tecido de granulação e conexão fibrosa, mas o desenvolvimento do tecido permaneceu incompleto, além disso, foram relatados também processos de reabsorção (GALLER, 2016).

A probabilidade de se obter sucesso por meio da revascularização como tratamento à apicificação foi exaltada a partir do ano 2000, visando elevação da espessura dentinária e fechamento do forame apical (NOSRAT *et al.*, 2011). O influxo substancial de células tronco mesenquimais no sistema de canais radiculares em dentes imaturos com ápices abertos ocorreu durante os procedimentos endodônticos regenerativos, por meio da manipulação e sangramento dos tecidos periapicais (LOVELACE *et al.*, 2011).

A engenharia tecidual tem sido a base de estudos por meio da interação de seus componentes, e os procedimentos endodônticos regenerativos fundamentam-se na exploração científica dos conjuntos de células-tronco, fatores de crescimento e matrizes biológicas (BERMAN, HARGREAVES, 2017).

A presença de bactérias, colapso oclusal e interrupção do crescimento do osso alveolar após a perda prematura dos dentes prejudicam uma terapia funcional e estética, isso enfatiza a necessidade de preservação ou regeneração da polpa dentária. O estágio de desenvolvimento pulpar está relacionado com o tipo de tratamento a ser executado e o sucesso dos procedimentos restauradores e protéticos depende da saúde da polpa (TORABINEJAD, WALTON, 2010). O tratamento endodôntico busca manter ou restabelecer a saúde dos tecidos periapicais, já a revascularização pulpar ultrapassa esse objetivo e acrescenta a recuperação da vitalidade pulpar por meio da regeneração e da saúde do complexo dentino-pulpar, aliado aos avanços nas terapias biológicas que aceleram ou induzem a revascularização biológica natural (HARGREAVES, COHEN, 2011). Dessa forma é possível garantir funções como resposta imunológica, percepção da dor, menor risco à fratura devido à

maior espessura dentinária, formação de dentina reacional e/ou reparadora, prevenindo complicações a longo prazo (TORABINEJAD, WALTON, 2010).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Apresentar, por meio de uma revisão da literatura, o potencial da revascularização pulpar em endodontia.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Enfatizar a importância do desenvolvimento radicular em dentes com rizogênese incompleta;

Analisar os principais procedimentos odontológicos regenerativos e seus princípios biológicos;

Compreender as vantagens e limitações dos procedimentos clínicos atualmente disponíveis;

Identificar os princípios da engenharia tecidual como ferramenta para alcançar o restabelecimento funcional de um tecido perdido.

3 METODOLOGIA

O presente trabalho consiste de uma revisão da literatura a respeito dos conceitos que englobam a revascularização pulpar, com variedade de perspectivas inerentes ao tipo de abordagem.

A revisão da literatura narrativa ou tradicional, quando comparada à revisão sistemática, apresenta uma temática mais aberta; dificilmente parte de uma questão específica bem definida, não exigindo um protocolo rígido para sua confecção; a busca das fontes não é pré-determinada e específica, sendo frequentemente menos abrangente. A seleção dos artigos é arbitrária, provendo o autor de informações sujeitas a Revisão Sistemática. (CORDEIRO *et al.*, 2007)

Foi realizada uma busca eletrônica, por meio das bases de dados Scielo, Pubmed, Periódicos Capes e Google Acadêmico. Foram incluídos artigos publicados a partir de 2010. Os termos de pesquisa utilizados foram: “*Pulprevascularization*”, “*Regenerativeendodontic*”, “*Immatureteeth*”. Somente estudos revisados por pares e nos idiomas em inglês e português foram selecionados. Os critérios de seleção envolveram estudos que reafirmam o potencial da endodontia regenerativa como área promissora na Odontologia, bem como quais procedimentos envolvidos. Com base nesses critérios os artigos foram inicialmente selecionados, seguido pela leitura dos respectivos resumos, diante da correspondência à metodologia foram explorados na íntegra para obtenção da revisão pretendida.

4 REVISÃO DA LITERATURA

4.1 RIZOGÊNESE INCOMPLETA

O processo chamado odontogênese engloba eventos celulares e moleculares intensamente coordenados, os quais culminam na formação dos elementos dentários. A proliferação, diferenciação e apoptose de diversas populações celulares determinam a forma, tamanho e posição dos dentes. A regulação dos episódios de formação dentária envolve genes que codificam fatores de transcrição, fatores de crescimento e componentes da matriz extracelular (MAFRA, *et al.*, 2012).

Nos estágios mais iniciais sob o órgão do esmalte há uma concentração de células ectomesenquimais estabelecidas, denominada papila dentária. Essa estrutura é responsável pela formação da polpa dentária por meio da influência de mediadores e interações célula-célula, assumindo novos padrões de maturação e organização. Na formação da dentina radicular é possível observar a indução promovida pelas células da camada interna da bainha epitelial de Hertwig, juntamente com as células periféricas da papila dentária. O folículo dentário, na parte externa da raiz, é responsável pela cementogênese, formação do ligamento periodontal e osteogênese. O desenvolvimento radicular decorre por meio desse conjunto de estruturas, sendo possível observar um progresso reparatório em dentes com rizogênese incompleta, interligado a alguns fatores: presença de vitalidade e habilidade reacional pulpar e da papila dentária; existência de contaminação e integridade do folículo dentário e da bainha de Hertwig (CONSOLARO, 2018).

Durante a formação da raiz podem ser reconhecidas quatro zonas anatômicas de células mesenquimais na área de ápice radicular imaturo. O saco dentário, ao redor da bainha da raiz epitelial, indispensável ao desenvolvimento do periodonto; a polpa radicular circundada por dentina e que delimita a localização apical e coronal dos odontoblastos; na porção mais apical do germe do dente, o mesênquima da papila apical, que é conectada ao ápice da raiz e demarcada pela presença do diafragma epitelial. Acredita-se que este tecido gera populações celulares que contribuirão para o desenvolvimento da polpa radicular e periodonto. A quarta zona consiste da papila dental, envolta pela bainha epitelial da raiz, reconhecida como a parte da polpa radicular, foi descrita como uma “zona apical rica em células” entre a polpa e a papila apical, contendo mais vasos sanguíneos e componentes celulares do que a papila apical subjacente (THOMAS, 1995).

O germe dentário movimenta-se no sentido coronário e a formação da raiz ocorre enquanto o dente erupciona (ARANA, KATCHBURIAN, 2012). O comprimento da raiz tem seu processo de formação concluído de um a quatro anos após a erupção do dente na cavidade oral, e um dente recém erupcionado possui extensa abertura apical e raiz curta. O desenvolvimento da raiz acontece à medida que dentina adicional está sendo depositada na superfície pulpar da dentina pré-existente, com consequente estreitamento do canal radicular e abertura apical (ALLEY, MELFI, 2010).

Restaurações inadequadas, cárie, fraturas ou traumas são os fatores etiológicos mais comuns que acarretam a necessidade de tratamento endodôntico em dentes com rizogênese incompleta. Nessas situações, a condição pulpar exhibe geralmente três condições: dentes com vitalidade pulpar; dentes com tecido pulpar vivo apenas no segmento apical e dentes com necrose total. Quando for evidenciada a vitalidade pulpar o tratamento conservador é o mais indicado, visando manter a polpa radicular e consequente preservação dos odontoblastos. Nos casos de dentes com tecido pulpar vivo no segmento apical, procura-se preservar essa porção e a bainha epitelial de Hertwig. Frente à necrose pulpar, a reparação e o desenvolvimento radicular estão vinculados no combate à infecção. O estágio de desenvolvimento da raiz, condições da polpa dentária e dos tecidos perirradiculares no momento da intervenção endodôntica, além das substâncias utilizadas podem influenciar no processo de reparação da região apical (LOPES, SIQUEIRA, 2015).

4.2 CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS E FATORES DE CRESCIMENTO

Na produção da dentina, as células ectomesenquimais indiferenciadas aumentam de tamanho e diferenciam-se em odontoblastos, eliminando a zona acelular entre a papila dentária e o epitélio interno do esmalte. Alguns experimentos com tecidos evidenciam que essa diferenciação é estabelecida pela organização das células do epitélio interno do esmalte, e sem elas não há progressão da síntese de dentina; tal como expressam e secretam diversos fatores de crescimento (KATCHBURISN, ARANA, 2012).

A dentina é um tecido mineralizado constituída por fibras de colágeno (90%), sendo o colágeno I o tipo mais abundante, essas fibras atuam como uma matriz biológica. Há também na matriz orgânica da dentina, proteínas não colagenosas como a fosfoproteína e sialoproteínas dentinárias, que podem exercer papel na mineralização da matriz (GU *et al.*, 2000).

A matriz da dentina contém alguns elementos que podem ser relevantes devido à suas propriedades bioativas, e é considerada um reservatório de fatores de crescimento e citocinas. Dentre esses, o fator de crescimento transformador beta (TGF- β), fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fatores de crescimento semelhantes à insulina (IGF) e proteínas morfogenéticas ósseas (BMP), que além de participar da odontogênese, têm o potencial de liberação no processo de dissolução da dentina, condição interligada ao reparo (LOPES, SIQUEIRA, 2015).

Sendo assim, o controle da atividade das células-tronco pode ser influenciado por diversos fatores de crescimento no aumento da proliferação, indução da diferenciação e estímulo às células para síntese e liberação de matriz mineralizada. As BMPs estão envolvidas nesse processo com expressão aumentada durante o término da diferenciação dos odontoblastos, formação de dentina reparadora e mineralização (FERREIRA *et al.*, 2015).

Os fatores de transcrição representam uma segunda esfera de regulação no desenvolvimento dentário e sua expressão é controlada pelos fatores de crescimento. Ambos são indispensáveis para a cascata de ocorrências moleculares e celulares, e importantes nas alterações morfológicas espaciais e temporais na evolução do germe dentário (BEGUE-KIRNet *et al.*, 1994). As células tronco da polpa e de tecidos perirradiculares podem identificar microrganismos, e citocinas encontradas no meio inflamatório também exercem um efeito sobre essas células, estando seu trajeto final inerente as vias de sinalização intracelular por agentes liberados por microrganismos, dentina e células imunes (SIMON *et al.*, 2010).

Considera-se que haja no osso humano desmineralizado uma associação de matriz biológica propícia e fatores de crescimento, o que promove um ambiente ideal para a multiplicação de osteoblastos. À vista disso, a dentina desmineralizada engloba uma vantagem expressiva na promoção da diferenciação de células semelhantes à odontoblastos (SMITH *et al.*,2012).

A detenção dos fatores de crescimento na matriz dentinária e sua infiltração na mineralização figuram ser indispensáveis ao processo de regeneração da polpa, principalmente referente à eventos de sinalização. No entanto, ainda não há clareza sobre suas diversas funções biológicas (HARGREAVES, BERMAN,2017).

Na papila dentária as células ectomesenquimais, após várias divisões celulares pré-estabelecidas manifestam os receptores da superfície celular adequados, capazes de capturar os fatores de crescimento (NANCI, 2013), e mostram alta plasticidade, sendo uma fonte emergente de células-tronco adultas com características promissoras à procedimentos regenerativos (GIOVENTU *et al.*, 2012). São capazes de sintetizar *in vitro* linhagens celulares como osteoblastos, adipócitos, citócitos, condrócitos, células musculares estriadas e melanócitos (TELLES *et al.*, 2011). Observa-se uma proximidade da papila apical com o ápice dos dentes em seguimento com o espaço do canal radicular, o que torna essa fonte claramente disponível (HARGREAVES, BERMAN,2017).

As células-tronco adultas são identificadas em vários nichos teciduais na região oral, incluindo as células da papila apical, progenitoras da inflamação periapical, do folículo e da polpa dentária, do ligamento periodontal, da medula óssea, células progenitoras do germe dentário, da glândula salivar, de dentes humanos decíduos esfoliados do epitélio oral, mesenquimais derivadas da gengiva; e derivadas do periósteo. No entanto, as células-tronco com maior participação em procedimentos de revascularização pulpar são as localizadas juntamente à região periapical (LIAO *et al.*,2011).

A periodontite apical ou abscesso englobam um ambiente com baixa tensão de oxigênio, pH baixo e alta concentração de endotoxina e de mediadores inflamatórios. O provimento de concentrações de células mesenquimais para o espaço do canal radicular, indica uma capacidade de sobrevivência destas células e de manutenção do seu potencial de diferenciação no decorrer da periodontite apical, em meio a uma complexa microflora e células imunes. Essa característica é explicada biologicamente pela densidade relativamente baixa de vasos sanguíneos na papila apical em relação à polpa dentária, além do fato de o folículo dentário ser altamente vascularizado e agir como um leito vascular de fornecimento

de nutrientes (DIOGENES *et al.*, 2013). No entanto, as células mesenquimais diminuem sua habilidade de diferenciação e proliferação com o envelhecimento, o que torna os procedimentos regenerativos mais previsíveis para dentes imaturos (KELLNER *et al.*, 2014). A idade do paciente pode ser um fator importante mediante a afirmação que pacientes mais jovens possuem uma melhor capacidade de cura e potencial de regeneração das células-tronco, além do estágio de desenvolvimento radicular que pode favorecer o crescimento do tecido (RUPAREL *et al.*, 2013).

4.3 IRRIGAÇÃO E DESINFECÇÃO EM DENTES IMATUROS NECRÓTICOS

A endodontia regenerativa mudou os parâmetros de visão em relação à desinfecção dos canais radiculares de dentes imaturos, saindo do tradicional protocolo para a concepção de que além de um microambiente desinfetado, seja favorável à engenharia tecidual. Há maior chance de aumento no comprimento e espessura dentinária da raiz, com possibilidade de recuperação da vitalidade pulpar (HARGREAVES, BERMAN, 2017).

O hipoclorito de sódio desempenha uma atividade eminente na dissolução de material orgânico existente nos istmos, canais laterais e locais inacessíveis à instrumentação, por meio de irrigação abundante e frequente. É a opção mais adequada para a irrigação de dentes desvitalizados devido à sua eficiência de limpeza, poder antimicrobiano, neutralizante, dissolvente e de atuação rápida, desodorizante e clareadora (SOARES, GOLDBERG, 2011).

Soluções com maior concentração de hipoclorito de sódio possuem maior atividade antimicrobiana, em combinação com a estabilidade do tempo de atuação, pH, temperatura e conteúdo orgânico. A solução a 5,25% demonstrou-se em estudo, mais eficiente do que a solução a 1%, ao impedir o desenvolvimento de bacilos produtores de pigmentos negros (LOPES, SIQUEIRA, 2015).

Consideravelmente, as propriedades do hipoclorito de sódio são primordiais para a desinfecção de dentes imaturos em revascularização, que habitualmente envolvem valores mínimos e sem preparação mecânica (HARGREAVES *et al.*, 2013). O uso de hipoclorito de sódio a 6% não foi benéfico para a sobrevivência de células da papila apical (TREVINO *et al.*, 2011). No entanto, o tratamento da dentina com concentrações mais baixas de 0,5%, 1,5% e 3% reduziu de forma semelhante a sobrevivência das células da papila apical. A sobrevivência e a disponibilidade das células-tronco mesenquimais são indispensáveis para o objetivo da

revascularização, além disso, essas células devem manter sua capacidade de diferenciação (MARTIN *et al.*, 2013).

No controle da infecção do sistema de canais radiculares em dentes imaturos é recomendado o mínimo de instrumentação e o máximo de irrigação. Todavia, deslocar o tecido necrótico do interior do canal radicular sem a contribuição de um instrumento é uma tarefa árdua. Um instrumento de pequeno diâmetro é indicado para agitar a substância irrigadora, e manter o tecido necrótico em suspensão, removido com ampla irrigação. Porém dentes com rizogênese incompleta possuem um diâmetro anatômico que corresponde a instrumentos de maior calibre. Quando abordamos a quantidade de dentina que pode e/ou deve ser removida, há uma discordância na opinião dos autores, sendo que uma instrumentação mesmo que delicada poderia colocar em risco a integridade do dente, por se tratar de paredes frágeis e delgadas (SOUZA *et al.*, 2013).

O hipoclorito de sódio desfaz os detritos orgânicos, é importante na eliminação de microorganismos e de tecido necrótico. No entanto, é incapaz de remover a lama dentinária após a preparação do canal radicular, o que está diretamente relacionado com o sucesso da revascularização. O uso de irrigantes adicionais pode ser uma alternativa para criar uma superfície limpa e quelantes como o ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) são capazes de desmineralizar a dentina e remover a camada de esfregaço pouco aderida, expondo os túbulos dentinários. A descalcificação da dentina permite a exposição de fibras de colágeno o que promove a ligação celular via receptores, também expõe fatores de crescimento reclusos na matriz de dentina, incluindo fator de crescimento transformador- β ; proteína osteomorfogênica; e fatores angiogênicos. (GALLER *et al.*, 2011).

Contudo, há controvérsias sobre um protocolo padronizado para revascularização, na investigação sobre o provável efeito prejudicial de diferentes irrigantes para as SCAPs chegou-se a conclusão de que 17% de EDTA permite a sobrevivência das SCAPs e sua ligação com a parede dentinária do canal radicular, indicando benefícios no seu uso. Já a irrigação com clorexidina a 2% foi deletéria à viabilidade das SCAPs. É apropriado citar que observações histológicas de testes em animais obtiveram resultados prósperos na desinfecção de dentes com periodontite apical, por meio do uso de sistema de irrigação por pressão negativa (TREVINO *et al.*, 2011).

A clorexidina a 2% foi utilizada em associação como hidróxido de cálcio para descontaminação como medicação intracanal por 21 dias, em uma paciente de 9 anos que sofreu uma intrusão em seu incisivo central esquerdo superior. O tratamento utilizou

instrumentação manual suave da região cervical e terços médios da raiz e em consulta posterior formação de coágulo e selamento cervical com MTA. Obteve-se diminuição progressiva da largura espaço do canal radicular e deposição de tecido nas paredes, bem como fechamento apical. No controle de dois anos, por meio de tomografia computadorizada de feixe cônico estes achados foram sustentados, porém não ficou evidente calcificação completa do canal radicular (SOARES *et al.*, 2013).

Correlacionando a desinfecção nos protocolos regenerativos atuais há uma variedade de medicamentos utilizados, em revisão observou-se que 51% dos casos incluíram o uso de uma pasta triantibiótica e 37% hidróxido de cálcio como medicação intracanal (DIOGENES *et al.*, 2013).

A Associação Americana de Endodontistas (AAE) definiu um protocolo padronizado para desinfecção em revascularização na endodontia, que engloba o debridamento químico do sistema de canais radiculares com 20 mL de hipoclorito de sódio a 1,5%, seguido de curativo de demora com pasta antibiótica dupla ou tripla, ou hidróxido de cálcio (LATHAM *et al.*, 2016).

As infecções dentárias são polimicrobianas, sendo assim antibióticos únicos não têm potencial de promover uma área livre de bactérias no canal e o uso de antibioticoterapia inespecífica é capaz de destruir a flora bacteriana normal, o que permite a recolonização de patógenos residuais. Por consequência, é prudente para evitar a resistência microbiana, fazer uso de uma combinação de antibióticos contra todos os patógenos endodônticos (ABBOTT, 2000). A pasta antibiótica tripla (TAP) que é uma combinação de minociclina, metronidazol e ciprofloxacina, têm sido a forma mais utilizada de medicamento intracanal para sua desinfecção. Estes antibióticos mostraram eficiência contra patógenos endodônticos de dentes decíduos *in vitro* e *in vivo*. Na revascularização pulpar, os medicamentos são manipulados com água, solução salina ou propilenoglicol, de maneira que se tornem uma mistura espessa e cremosa, numa concentração total de pelo menos 1 g / mL (ARRUDA *et al.*, 2018). O tempo de permanência da TAP considerado necessário para a desinfecção bacteriana dos canais varia entre 1 e 4 semanas (LÓPEZ *et al.*, 2017).

A minociclina está inserida no grupo das tetraciclinas, possui amplo espectro e é bacteriostática, inibe colagenases de mamíferos, o que impede a degeneração tecidual, e também células clásticas, evitando atividades reabsortivas. Essas características estão interligadas com o fato de que doenças inflamatórias como a periodontite, fisiologicamente

incluem numerosas colagenases teciduais, promovendo uma melhor formação de colágeno e osso (MOHAMMADI, ABBOTT, 2009).

O metronidazol revela um amplo espectro de ação contra protozoários e bactérias anaeróbicas, mata as células bacterianas entrando pela membrana e ligando-se ao DNA destas (GREENSTEIN, 1993). O ciprofloxacino é uma fluoroquinolona de segunda geração, que abrange a maioria das cepas de patógenos bacterianos causadores de infecções gastrointestinais, respiratórias, urinárias e abdominais (DRUSANO *et al.*, 1986).

Um estudo teve como objetivo determinar se dentes imaturos simulados infectados por *Enterococcus faecalis* podem ser completamente desinfectados e avaliar os prováveis efeitos residuais na toxicidade de células-tronco. Utilizou sessenta e oito incisivos superiores livres de cárie divididos em grupos: grupo 1, pasta triantibiótica (ciprofloxacina, metronidazol e minociclina) em concentrações de 10, 1 e 0,1 mg / mL; grupo 2: pasta antibiótica dupla (ciprofloxacina e metronidazol) nas mesmas concentrações; grupo 3: hidróxido de cálcio; e controles negativo e positivo. Os resultados deste estudo sugerem que a TAP na concentração de 10 mg / mL foi o medicamento mais eficaz na eliminação de bactérias do sistema radicular, com menor toxicidade às células tronco e com baixo índice de descoloração. Os dados mostraram que o hidróxido de cálcio e as concentrações atuais referenciadas de antibióticos não foram eficientes em eliminar completamente bactérias necróticas simuladas em dentes permanentes imaturos (LATHAM *et al.*, 2016).

Foi evidenciado em estudo com 37 crianças entre 3 e 8 anos uma elevada taxa de sucesso na desinfecção com o uso de pasta triantibiótica e hidróxido de cálcio, aos 6 e 12 meses, o índice de êxito foi de 100% e 96%, respectivamente (NAKORNCHAI *et al.*, 2010). Alguns estudos mostraram que há tolerância do tecido pulpar vital às pastas triantibióticas (PARYANI e KIM, 2013). A biocompatibilidade da TAP foi comprovada usando o tecido subcutâneo de ratos (WIGLER *et al.*, 2013). Altas taxas de sucesso na revascularização são relatadas com o uso de antibióticos como curativos intracanal. Todavia, é relevante destacar a descoloração dentária como consequência colateral importante do uso da minociclina, uma alternativa na busca de sanar esse efeito é a pasta antibiótica contendo apenas metronidazol e ciprofloxacina (MONTERO-MIRALLES *et al.*, 2018).

O hidróxido de cálcio possui um pH elevado, inicialmente esse fator causou desmotivação no seu uso como curativo intracanal para tratamento de revascularização. Além disso, um problema ligado ao tratamento com hidróxido de cálcio é que este pode causar a

interrupção das ligações entre as fibras de colágeno e cristais de hidroxiapatita, resultando em desmineralização e aumento do risco de fratura (KESWANI, PANDEY, 2013).

A aplicação do hidróxido de cálcio na desinfecção de dentes imaturos indica um novo uso deste medicamento já estabelecido na endodontia, parece atuar com menor efetividade contra algumas bactérias no canal radicular em comparação às pastas antibióticas, no entanto, mostra baixo índice de toxicidade para as células-tronco e está envolvido com fatores de crescimento bioativos da dentina (SABRAH *et al.*, 2013). O uso em curto prazo não parece ser suficiente para diminuir a resistência à fratura (YASSEN *et al.*, 2013). Além disso, um estudo comparativo entre o hidróxido de cálcio e a TAP em dentes extraídos com canais radiculares padronizados, abordando a capacidade de remoção do curativo do espaço do canal, após 28 dias de incubação e irrigação por diferentes técnicas, revelou que mais de 80% da pasta triantibiótica não pode ser removida, além da sua presença no interior dos túbulos dentinários. Por outro lado, mais de 80% do hidróxido de cálcio foi removido e sua presença era superficial no interior da dentina, dado relevante devido ao fato de que fármacos remanescentes podem ter um efeito no destino das células-tronco (BERKHOFF *et al.*, 2014). Porém, um estudo clínico comparando a TAP foi possível encontrar maior aumento na espessura da parede dentinária para o TAP quando comparado ao hidróxido de cálcio (RAHHAL *et al.*, 2019).

Uma pesquisa utilizou tratamento de revascularização com medicação intracanal de hidróxido de cálcio em molares imaturos com necrose, sob protocolo que preconizava irrigação com hipoclorito de sódio a 2,5%, medicação com hidróxido de cálcio colocada no terço coronal dos canais radiculares, formação de coágulo por meio da indução do sangramento apical e selamento coronal com Agregado Trióxido Mineral (MTA) branco. Após um período de 10 meses, todos os dentes demonstraram evidência radiográfica de cicatrização periapical, espessamento gradual das paredes dentinárias e desenvolvimento apical com ausência de sintomas (CEHRELI *et al.*, 2011).

O controle da contaminação é coadjuvante à engenharia de tecidos e a atividade antibacteriana pode ser programada no material do arcabouço. Peptídeos de baixo peso molecular e hidrogéis, por exemplo, por meio de superfícies ricas em lisina, viabilizam a interação eletrostática do peptídeo com a superfície bacteriana carregada negativamente, causando o rompimento da membrana bacteriana (GALLER *et al.*, 2011).

Diante da preocupação em relação ao sistema de liberação intracanal de medicamentos, a eletrofiação é uma técnica acessível baseada na nanotecnologia, envolvida

na fabricação de nanofibras de polímeros eluidores de antibióticos para uso no fornecimento de medicamentos. (KAMOOCKI *et al.*, 2015). Algumas evidências indicam que nanofibras antibióticas possuem propriedades antimicrobianas consideráveis avaliadas contra modelos de biofilme de dentina, com o mecanismo de liberação de antibióticos das nanofibras de polidioxanona (PDS), que é definido pela liberação inicial de explosão e ação sustentada por até quatorze dias, capaz de promover a morte celular bacteriana dentro dos túbulos dentinários (PANKAJAKSHAN *et al.*, 2016).

As nanofibras de polímeros eluidores de antibióticos foram testadas em estudo com PDS, isentas de antibióticos ou incorporadas com metronidazol, ciprofloxacina e minociclina, através da eletroexposição em construções 3D em forma de tubo. Um biofilme foi pressionado a penetrar nos túbulos dentinários mediante centrifugação em modelo *in vitro* de fatia de dentina. Houve então exposição dos espécimes infectados a dois grupos experimentais: eluição antibiótica tripla em forma de tubo 3D e TAP, e dois grupos de controle. Após análise quantitativa da eliminação do biofilme por meio da microscopia de varredura a laser foi possível observar uma população consistente de bactérias viáveis aderidas à dentina e túbulos dentinários. A morte bacteriana promovida pelo grupo de tubo 3D foi semelhante à promovida pelo grupo TAP, mas significativamente maior quando comparado a ambos o grupo de tudo 3D sem antibióticos e o controle (solução salina) (ALBUQUERQUE *et al.*, 2017).

4.4 ARCABOUÇOS

O sistema circulatório no organismo fornece nutrientes essenciais, moléculas de sinalização e elimina resíduos ou produtos tóxicos (VIJAYA, 2018). No sangue está presente um conjunto de proteases chamadas procoagulantes, que são ativadas após lesão tecidual e promovem a formação de um coágulo, constituindo um mecanismo de defesa contra a hemorragia (GALE, 2011). O coágulo é composto por elementos celulares detidos em uma rede de fibrina que serve como proteção provisória aos tecidos expostos; como matriz para a migração celular e é um depósito de citocinas e fatores de crescimento liberados em especial através da desgranulação das plaquetas ativadas. Inicialmente, o processo de reparo é ativado por essas moléculas bioativas que funcionam como sinalizadores para o recrutamento das células inflamatórias (ALBERTS *et al.*, 2002).

A formação de um coágulo sanguíneo induzido por sobre-instrumentação, irá funcionar como um arcabouço viabilizando um ambiente propício à regeneração tridimensional dos tecidos (LOVELACE *et al.*, 2011). A criação de uma matriz estéril que possibilite o desenvolvimento das células é o pilar principal da revascularização pulpar, o sucesso desse procedimento decorre da desinfecção, do coágulo sanguíneo, e do selamento coronário. (CHRISTINE *et al.*, 2013; NEHA *et al.*, 2011).

A matriz biológica como parte da engenharia tecidual é importante e necessária para definir uma posição espacialmente correta das células e regular as funções destas enquanto disponibiliza nutrientes e trocas gasosas. A diferenciação das células-tronco é controlada pelas moléculas da matriz extracelular, que é indicada como apropriada quando é capaz de selecionar e encontrar células, conter fatores de crescimento e biodegradar com o tempo (RAVINDRAN *et al.*, 2014). Além disso, uma matriz ideal possui propriedades mecânicas adequadas, é biocompatível e de fácil liberação (GALLER *et al.*, 2011).

As matrizes biológicas são ditas naturais ou sintéticas. Alguns exemplos de matrizes naturais são o colágeno, o ácido hialurônico, a dentina nativa ou desmineralizada e a fibrina. Já as sintéticas incluem o ácido poliglicólico, o ácido poli-L-láctico, a hidroxiapatita/fosfato tricálcico, asbiocerâmicas, os hidrogéis, entre outras (YANG *et al.*, 2012). Os procedimentos de revascularização atuais em sua maioria envolvem hemorragia provocada e a construção de um coágulo sanguíneo que representa a matriz biológica. No entanto, há a presença de células hematopoiéticas neste coágulo que podem sofrer morte e liberar enzimas intracelulares tóxicas ao meio, prejudicando a sobrevivência das células-tronco (DIOGENES *et al.*, 2013).

O plasma rico em plaquetas (PRP) é uma matriz que tem demonstrado potencial nos procedimentos de revascularização devido às suas concentrações aumentadas de fatores de crescimento, é biodegradável e forma um esqueleto de fibrina tridimensional. A fibrina rica em plaquetas (PRF) também é uma alternativa, contém moléculas bioativas, não requer manipulação bioquímica e é de fácil obtenção (TORABINEJAD, TURMAN, 2011). Essas matrizes autólogas têm sido usadas com evidente índice de sucesso, porém é pertinente enfatizar algumas limitações clínicas inerente ao seu uso como sendo um processo que necessita de coleta de sangue intravenoso, que pode ser uma adversidade no tratamento de crianças, além do manuseio bioquímico do sangue, e não apresentam resistência mecânica (VASUNDARA *et al.*, 2017). É notável a necessidade de maiores estudos para compreender o mecanismo preciso de ação do PRF na regeneração da polpa dentária *in vitro* e *in vivo* (HENGAMEH *et al.*, 2016).

A comparação do efeito do PRP, PRF e sangramento induzido na revascularização de dentes permanentes imaturos foi efetuada em ensaio clínico randomizado com sessenta pacientes ordenados em três grupos posteriormente à desinfecção do canal radicular. Após 12 meses, os pacientes não apresentavam dor, sem sinais clínicos e radiográficos de aumento de infecção. O PRP mostrou-se mais favorável que o PRF e o sangramento induzido em referência à cicatrização periapical. Os grupos obtiveram dados comparáveis em relação ao alongamento das raízes e espessamento lateral da parede dentinária (SHIVASHANKAR *et al.*, 2017).

Uma análise histológica da eficácia de protocolos de revascularização em dentes imaturos infectados com periodontite apical de cães envolvendo o uso de TAP e PRP avaliou os parâmetros: presença ou ausência: de novo tecido duro nas paredes dentinárias, fechamento apical e tecido vital dentro do espaço do canal. Os resultados indicaram diferenças significativas no índice de fechamento apical (34,5%) e tecido vital no espaço do canal (68,8%), o grupo que utilizou hipoclorito de sódio, TAP e PRP apresentaram maior sucesso nas três variáveis avaliadas. O menor índice foi encontrado no grupo que empregou hipoclorito de sódio e indução do coágulo sanguíneo. Essa análise sugere que o curativo intracanal com TAP e do PRP como arcabouço, aprimora a taxa de sucesso do procedimento de revascularização (STAMBOLSKY *et al.*, 2016).

Os hidrogéis são matrizes formadas por uma rede tridimensional de polímeros hidrofílicos e possuem a aptidão de absorção além do seu peso em água ou líquidos do tecido. São injetáveis na sua forma coloidal e sofrem geleificação por estímulos químicos ou físicos, são ajustáveis, biocompatíveis e liberam agentes quimiotáticos e angiogênicos (XU *et al.*, 2012). São exemplos de hidrogéis: colágeno, fibrina, proteoglicanos, quitosana, alginato, materiais sintéticos, polietilenoglicol (PGE) e peptídeos de montagem automática (SAP) (GALLER *et al.*, 2011). Obtêm destaque no campo da engenharia tecidual porque são um veículo terapêutico minimamente invasivo. No entanto, o tempo de geleificação prolongado, propriedades físico-químicas instáveis, citotoxicidade e mínima investigação *in vitro* e *in vivo* ainda obscurecem a utilização desses biomateriais na prática clínica (SALA, 2018).

Um estudo avaliou o efeito de bactérias residuais na revascularização da polpa conduzida por formação de tecido com células-tronco encapsuladas num *scaffold* de hidrogel em comparação com a indução de coágulo sanguíneo. Os autores induziram lesões periapicais em 24 dentes caninos de 6 furões. A desinfecção foi efetuada com hipoclorito de sódio a 1,25% e pasta antibiótica tripla, as células-tronco da polpa dentária foram injetadas em

metade dos dentes experimentais, e na outra metade foi induzido o coágulo sanguíneo. Após 3 meses, não houve diferença significativa entre os dois grupos experimentais no desenvolvimento radicular radiográfico, mas a quantidade de tecido mineralizado associado à dentina formada nos dentes com bactérias residuais foi significativamente menor do que em dentes sem bactérias residuais (VERMA *et al.*, 2016).

A difusão adequada de oxigênio e nutrientes no interior do sistema de canais radiculares é um desafio, pois o espaço do canal é destituído de vascularização lateral e milímetros distantes dos vasos sanguíneos apicais. Estudos demonstram que diante da hipóxia há maior rapidez na proliferação das células-tronco e também aumento do nível de fatores angiogênicos (ARANHA *et al.*, 2010). Existe um método chamado de célula da casa que consiste na injeção de uma matriz biológica no canal radicular com fatores quimiotáticos, promovendo a atração das células para a matriz de forma gradativa juntamente com os vasos sanguíneos (KIM *et al.*, 2010).

A eficácia clínica do PRP e PRF em relação à revascularização com o coágulo sanguíneo (BCR) para a regeneração de dentes permanentes imaturos foi analisada em uma meta-análise com 222 casos em pelo menos um ano de acompanhamento através de 12 artigos diferentes. Foram comparados pela capacidade de realizar o fechamento apical, resposta de cura da lesão periapical, alongamento da raiz e espessamento da parede dentinária. A taxa média de sucesso para fechamento ou redução apical após 1 ano foi: PRP (85,1%) PRF (85,2%) e BCR (58,8%). A taxa média de sucesso para o alongamento das raízes após 1 ano foi: BCR (64,1%), PRP (64,2%), e PRF (74,1%). A resposta cicatricial da lesão periapical foi de 88,9% para BCR, 100% para PRP e 100% para PRF. O espessamento da parede dentinária foi de 100% para BCR, PRP e PRF. Os resultados evidenciaram que embora o BCR seja o método de revascularização mais comum, o fechamento apical pode ser facilitado com o uso do PRF e PRP em relação ao BCR, bem como o uso adequado de procedimentos regenerativos pode ser bem-sucedido na desinfecção de bactérias da região periapical de dentes permanentes imaturos (MURRAY, 2018).

A inexistência de um critério específico para a utilização das matrizes na revascularização reflete a variedade de escolhas possíveis e é considerada ainda, uma questão em aberto. Bem como, a especificidade de algumas matrizes em relação às células estaminais e o esclarecimento a respeito das vantagens e desvantagens da utilização de certas matrizes em relação à outras (GOODIS *et al.*, 2012).

4.5 PROTOCOLO CLÍNICO

O termo procedimentos regenerativos endodônticos (REPs) têm sido usado para descrever amplamente procedimentos de cunho biológico na substituição de estruturas danificadas. No entanto, regeneração refere-se à competência de um organismo em reformular tecidos perdidos ou danificados ou órgãos à sua forma e função originais, e o tecido formado no interior do canal radicular após procedimentos de revascularização abrange estruturas do tecido pulpar, mas alguns tipos de células estão ausentes e tecidos não direcionados podem estar presentes no canal radicular, como osteoblastos e cemento. Sendo assim, o que ocorre em alguns casos pode não ser regeneração, mas cura ou reparo, descrito reconstituição de tecido com perda parcial da função do tecido original (GALLER, 2016).

Contata-se uma variação nos inúmeros trabalhos presentes na literatura e protocolos propostos para a revascularização e basicamente têm características comuns: dentes imaturos de pacientes jovens com necrose pulpar; tratamento suave com mínima ou nenhuma instrumentação das paredes dentinárias; uso de medicamento intracanal; indução de um coágulo sanguíneo ou o uso de PRP ou PRF no interior do canal e a presença de um selamento coronário efetivo (BRUSCHI *et al.*, 2019).

Atualmente o protocolo mais utilizado nos procedimentos de revascularização de dentes permanentes imaturos, necrose pulpar e periodontite apical é: anestesia local; isolamento com dique de borracha; abertura coronária e irrigação suave limitada à parte coronal da câmara; inserção de lima K ou guta percha para odontometria (pode ser fixado com cera ou algodão) com uso de radiografia; na irrigação é utilizada baixa concentração de hipoclorito de sódio (1,5 ou menos de 3%, 20 mL / canal, 5 minutos) com agulha posicionada 2mm aquém do forame apical afim de minimizar a toxicidade, procedimentos de irrigação por pressão negativa podem ser considerados; e soro fisiológico ou 17% de EDTA; secagem do canal com o pontas de papel absorvente, medicamentos intracanal, como hidróxido de cálcio ou TAP (uma combinação de volume de 1: 1: 1 de ciprofloxacina, metronidazol e minociclina) usando lentulo ou seringa, cobertos com material de preenchimento temporário. Diante da falta de sinais de infecção, a irrigação final é realizada com solução salina estéril e 17% de EDTA; secagem do canal com pontas de papel absorvente; uma lima K pré-curvada é levada 2mm após o forame apical e girada para induzir sangramento; formação de coágulo sanguíneo; utilização de material de cobertura, como o MTA (3 a 4mm de espessura) e restauração definitiva (JUNG *et al.*, 2019; SOUZA *et al.*, 2013).

5 CONCLUSÃO

O progresso da endodontia regenerativa está vinculado aos princípios da engenharia tecidual, com o intuito de restaurar as propriedades sensoriais, defensivas e imunológicas do complexo dentino-polpa. As abordagens celulares ainda estão no estágio pré-clínico dos experimentos, mas a perspectiva futura de regeneração do tecido pulpar baseado em células-tronco indica ser um objetivo alcançável.

Considera-se que protocolo clínico para o tratamento endodôntico na revascularização não está totalmente estabelecido, assuntos coadjuvantes à seleção e escolha de irrigantes, medicamentos e materiais para selamento de cavidades permanecem em discussão.

Enfim, é relevante afirmar que a revascularização de dentes imaturos com necrose pulpar manifesta resultados promissores, pois há aumento de espessura das paredes dentinárias e fechamento apical, condições não obtidas com o tratamento tradicional da apicificação. Ainda assim, é crucial um maior número de pesquisas com o propósito de obter um adequado conhecimento sobre o prognóstico a longo prazo de dentes tratados por meio dessa terapia.

REFERÊNCIAS

AKCAY, M.; ARSLAN, H.; YASA, B.; KAVRIK, F.; YASA, E. Spectrophotometric analysis of crown discoloration induced by various antibiotic pastes used in revascularization. **Journal of Endodontics**, v. 40, n. 6, p. 845-848, 2014.

ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; **Molecular biology of the cell**. 6 ED. New York: Garland Science, 2014. 1462 p.

ALBUQUERQUE, M. T. P.; NAGATA, J.; BOTTINO, M. C. Antimicrobial Efficacy of Triple Antibiotic-eluting Polymer Nanofibers against Multispecies Biofilm. **Journal of Endodontics**, v. 43, n. 9, p. 51-56, set. 2017.

ARANHA, A. M.; ZHANG, Z.; NEIVA, K. G.; COSTA, C. A.; HEBLING, J.; NÖR, J. E. Hypoxia enhances the angiogenic potential of human dental pulp cells. **Journal of Endodontics**, v. 36, n. 10, p. 1633-1637, out. 2010.

ARRUDA, M. E. F.; NEVES, M. A. S.; DIOGENES, A.; MDALA, I.; GUILHERME, B. P. S.; SIQUEIRA, J. F.; RÔÇAS, I. N. Infection Control in Teeth with Apical Periodontitis Using a Triple Antibiotic Solution or Calcium Hydroxide with Chlorhexidine: A Randomized Clinical Trial. **Journal of Endodontics**, v. 44, n. 10, p. 1474-1479, out. 2018.

BAKHTIAR, H.; ESMAEILI, S.; TABATABAYI, S. F.; ELLINI, M. R.; NEKOOFAR, M. H.; DUMMER, P. M. H. Second-generation Platelet Concentrate (Platelet-rich Fibrin) as a

Scaffold in Regenerative Endodontics: A Case Series. **Journal of Endodontics**, v. 43, n. 3, p. 401-408, mar. 2017.

BEGUE-KIM, C.; SMITH, A. J.; LORIOT, M.; KUPFERLE, C.; RUCH, J. V.; LESOT, H. Comparative analysis of TGF beta s, BMPs, IGF1, msxs, fibronectin, osteonectin and bone sialoprotein gene expression during normal and in vitro-induced odontoblast differentiation. **The International Journal of Developmental Biology**, v. 38, n. 3, p. 405-20, set. 1994.

BERKHOF, J. A.; CHEN, P. B.; TEIXEIRA, F. B.; DIOGENES, A. Evaluation of triple antibiotic paste removal by different irrigation procedures. **Journal of Endodontics**, v. 40, n. 8, p. 1172-1177, ago. 2014.

BRUSCHI, L.S.; GUADAGNIN V.; ARRUDA M. E. B. F.; DUQUE T. M.; PERUCHI C. T. R. A revascularização como Alternativa de Terapêutica Endodôntica para Dentes com Rizogênese Incompleta e Necrose Pulpar: Protocolos Existentes. **Revista da ACBO**, v.8, n.1, p. 25-32, 2019.

CEHRELI, Z.C.; ISBITIREN, B.; SARA, S.; ERBAS, G. Regenerative Endodontic Treatment (Revascularization) of Immature Necrotic Molars Medicated with Calcium Hydroxide: A Case Series. **Journal of Endodontics**, v. 37, n. 9, p. 1327-1330, 2011.

CHANYONG, J.; SANGWAN, K.; TAEUK, S.; YONG-BUM, C.; MINJU, S. Pulp-dentin regeneration: current approaches and challenges. *Journal of Tissue Engineering*, v. 10, jan. 2019.

CONSOLARO, A. **Biologia e patologia da polpa e periápice para as especialidades clínicas**. 1 ED. Maringá: Dental Press, 2018. 476 p.

CORDEIRO, A. M.; OLIVEIRA, G. M.; RENTERIA, J. M.; GUIMARÃES, C. A. Revisão sistemática: uma revisão narrativa. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgias**, v. 34, n. 6, p. 428-431, nov./dez. 2007.

DIOGENES, A.; HENRY, M. A.; TEIXEIRA, F. B.; HARGREAVES, K. M. An update on clinical regenerative endodontics. **Endodontic Topics**, v. 28, n. 2, p. 2-23, 2013.

DRUSANO, G.L.; STANDIFORD, H.C.; PLAISANCE, K.; FORREST, A.; LESLIE, J.; CALDWELL, J. Absolute oral bioavailability of ciprofloxacin. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v. 30, n.3, p. 444-446, set. 1986.

EGUSA, H.; SONOYAMA, W.; NISHIMURA, M.; ATSUTA, I.; AKIYAMA, K. Stem cells in dentistry--part I: stem cell sources. **Journal of Prosthetic Odontics Research**, v. 56, n. 3, p. 151-165, jul. 2012.

FERREIRA, M. V. L.; FERREIRA, I. N. M.; BARROS, K. A.; SOARES B. M.; TOUBES, K. M. P. S. Mecanismos envolvidos no processo de diferenciação celular estimulado pela apicogênese mediada por células-tronco. **Revista Política e Saúde Coletiva**, v. 1, n. 1, p. 65-74, jan. 2015.

GALE, A. J. Continuing education course #2: Current understanding of hemostasis. **Toxicologic Pathology**, v 39, n. 1, p. 273-280, jan 2011.

GALLER, K. M. Clinical Procedures for Revitalization: Current Knowledge and Considerations. **International Endodontic Journal**, v. 49, n. 10, p. 926-926, out. 2016.

GALLER, K. M.; D'SOUZA, R. N.; HARTGERINK, J. D.; SCHMALZ, G. Scaffolds for Dental pulp Tissue Engineering. **International Associations for Dental Research**, v. 23, n. 3, p. 333-339, jun. 2011.

GALLER, K. M.; D'SOUZA, R. N.; FEDERLIN, M.; CAVENDER, A. C.; HARTGERINK, J. D.; HECKER, S.; SCHMALZ, G. Dentin conditioning codetermines cell fate in regenerative endodontics. **Journal of Endodontics**, v. 37, n. 11 p. 1536-1541, nov. 2011

GIOVENTÙ, S.; ANDRIOLO, G.; BONINO, F.; FRASCA, S.; LAZZARI, L.; MONTELATICI, E.; SANTORO, F.; REBULLA, P. A novel method for banking dental pulp stem cells. **Transfusion and Apheresis Science**, v. 47, n. 2, p. 199-206, out. 2012.

GOLDBERG, M.; SMITH, A. J. Cells and extracellular matrices of dentin and pulp: a biological basis for repair and tissue engineering. **Critical Reviews in Oral Biology e Medicine**, v. 15, n. 1, p. 13-27, 2004.

GOODIS, H. E.; KINAIA, B. M.; CHOGLE, S. M. Regenerative endodontics and tissue engineering: what the future holds?. *Dental Clinics of North America*, v. 56, n. 3, p. 677-689, 2012.

GREENSTEIN, G. The role of metronidazole in the treatment of periodontal diseases. **Journal of Periodontology**, v. 64, n. 1, p. 1-15, jan.1993.

GU, K.; CHANG, S.; RITCHIE, H. H.; CLARKSON, B. H.; RUTHERFORD, R. B. Molecular cloning of a human dentin sialophosphoprotein gene. **European Journal of oral Sciences**, v. 108, n. 1, p. 35-42, fev. 2000.

HARGREAVES, K. M.; DIOGENES, A.; TEIXEIRA, F. B. Treatment options: biological basis of regenerative endodontic procedures. **Journal of Endodontics**, v. 39, n. 3, p. 30-43, mar. 2013.

HARGREAVES, Kenneth M.; BERMAN, Louis H. **Caminhos da polpa**. 11. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2017. 2892 p. Tradução de: AdemarTakahama Junior.

IWAYA, S.; IKAWA, M.; KUBOTA, M. Revascularization of an immature permanent tooth with apical periodontitis and sinus tract. **Dental Traumatology**, v.17, n. 4, p.185-187, ago. 2001.

KAMOOCKI, K.; NOR, J. E.; BOTTINO, M. C. Effects of ciprofloxacin-containing antimicrobial scaffolds on dental pulp stem cell viability-In vitro studies. **Archives of Oral Biology**, v. 60, n. 8, p. 1131-1137, ago. 2015.

KATCHBURIAN, Eduardo; ARANA, Victor. *Histologia e embriologia oral: texto, atlas, correlações clínicas*. 3 ED. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.

KELLNER, M.; STEINDORFF, M. M.; STREMPER, J. F.; WINKEL, A.; KÜHNEL, M. P.; STIESCH, M. Differences of isolated dental stem cells dependent on donor age and consequences for autologous tooth replacement. **Archives of oral biology**, v. 59, n. 6, 559-567, jun. 2014.

KESWANI, D.; PANDEY, R. K. Revascularization of an immature tooth with a necrotic pulp using platelet-rich fibrin: a case report. **International Endodontic Journal**, v. 46, n. 11, p. 1096-1104, nov. 2013.

KIM, J. Y.; XIN, X.; MOIOLI, E. K.; CHUNG, J.; LEE, C. H.; CHEN, M.; FU, S. Y.; KOCH, P. D.; MAO, J. J. Regeneration of dental-pulp-like tissue by chemotaxis-induced cell homing. **Tissue engineering .Part A**, v. 16, n. 10, p. 3023-3031, out. 2010.

LATHAM, J.; FONG, H.; JEWETT, A.; JOHNSON, J. D.; PARANJPE, A. Disinfection Efficacy of Current Regenerative Endodontic Protocols in Simulated Necrotic Immature Permanent Teeth. **Journal of Endodontics**, v. 42, n. 8, 1218-1225, ago. 2016.

LOPES, Helio; SIQUEIRA, José F. **Endodontia: biologia e técnica**. 4 ED. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015. 948 p.

LOVELACE, T. W.; HENRY, M. A.; HARGREAVES, K. M.; DIOGENES, A. Evaluation of the Delivery of Mesenchymal Stem Cells into the Root Canal Space of Necrotic Immature Teeth after Clinical Regenerative Endodontic Procedure. **Journal of Endodontics**, v. 37, n. 2, p. 133-138, fev. 2011.

MAFRA, R. P.; VASCONCELOS, R. G.; VASCONCELHOS, M. G.; QUEIROZ, L. M. G.; BARBOZA, C. A. G. Desenvolvimento dental: aspectos morfogênicos e relações com as anomalias dentárias do desenvolvimento. **Revista Brasileira de Odontologia**, v. 69, n. 2, p. 232-237, jul./dez. 2012.

MARTIN, D. E.; DE ALMEIDA, J. F. A.; HENRY, M. A.; KHAING, Z. Z.; SCHMIDT, C. E.; TEIXEIRA, F. B.; DIOGENES, A. Concentration-dependent Effect of Sodium Hypochlorite on Stem Cells of Apical Papilla Survival and Differentiation. **Journal of Endodontics**, v. 40, n. 1, p. 51-55, jan. 2014.

MELFI, Rudy c.; ALLEY, Keith E. **Embriologia e histologia oral de Permar: Manual para estudantes de odontologia**. 10 ED. São Paulo: Santos, 2010. 297 p.

MOHAMMADI, Z.; ABBOTT, P. V. On the local applications of antibiotics and antibiotic-based agents in endodontics and dental traumatology. **International Endodontic Journal**, v. 42, n. 7, p. 555-567, jul. 2009.

MONTERO-MIRALLES, P.; MARTÍN-GONZÁLEZ, J.; ALONSO-EZPELETA, O.; JIMÉNEZ-SÁNCHEZ, M. C.; VELASCO-ORTEGA, E.; SEGURA-EGEA, J. J. Effectiveness and clinical implications of the use of topical antibiotics in regenerative endodontic procedures: a review. **International Endodontic Journal**, v. 51, n. 9, p. 981-988, set. 2018.

MONTERO-MIRALLES, P.; MARTÍN-GONZÁLEZ, J.; ALONSO-EZPELETA, O.; JIMÉNEZ-SÁNCHEZ, M. C.; VELASCO-ORTEGA, E.; SEGURA-EGEA, J. J.

Effectiveness and clinical implications of the use of topical antibiotics in regenerative endodontic procedures: a review. **International Endodontics Journal**, v. 51, n. 9, p. 981-988, set. 2018.

MURRAY, P. E. Platelet-Rich Plasma and Platelet-Rich Fibrin Can Induce Apical Closure More Frequently Than Blood-Clot Revascularization for the Regeneration of Immature Permanent Teeth: A Meta-Analysis of Clinical Efficacy. **Frontiers in bioengineering and biotechnology**, v. 6, out. 2018.

NAGATA, J. Y.; GOMES, B. P.; LIMA, T. F. R.; MURAKAMI, L. S.; DE FARIA, D. E.; CAMPOS, G. R.; DE SOUZA-FILHO, F. J.; ADE, J. S. Traumatized immature teeth treated with 2 protocols of pulp revascularization. **Journal of Endodontics**, v. 40, n. 5, p. 606-612, mai. 2014.

NAKORNCHAI, S.; BANDITSING, P.; VISETRATANA, N. Clinical evaluation of 3Mix and Vitapex as treatment options for pulpally involved primary molars. **International Journal of Paediatric Dentistry**, v. 20, n. 3, p.214-221, mai. 2010.

NANCI, A. **Histologia oral**. 8 ED. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. 400 p.

NEHA, K.; KANSAL, R.; GARG, P.; JOSHI, R.; GARG, D.; GROVER, H. S. Management of immature teeth by dentin-pulp regeneration: a recent approach. **Medicina Oral, Patologia Oral y Cirurgia Bucal**, v. 16, n.7, p. 997-1004, Nov. 2011..

NOSRAT, A.; SEIFI, A.; ASGARY, S. Regenerative Endodontic Treatment (Revascularization) for Necrotic Immature Permanent Molars: A Review and Report of Two Cases with a New Biomaterial. **Journal of Endodontics**, v. 37, n. 4, p. 562-567, abr. 2011.

PALMA, P. J. R. **Apexificação e Revascularização Pulpar em Dentes Permanentes Imaturos**.Coimbra: FMUC, 2013.

PANKAJAKSHAN, D.; ALBUQUERQUE, M. T.; EVANS, J. D.; KAMOCCA, M. M.; GREGORY, R. L.; BOTTINO, M. C. Triple Antibiotic Polymer Nanofibers for Intracanal Drug Delivery: Effects on Dual Species Biofilm and Cell Function. **Journal of Endodontics**, v. 42, n. 10, p. 1490-1495, out.2016.

PARYANI, K.; KIM, S. G. Regenerative Endodontic Treatment of Permanent Teeth after Completion of Root Development: A Report of 2 Cases. **Journal of Endodontics**, v. 39, n. 7, p. 929-934, jul. 2013.

PILLI, V. S. Understanding the Clotting Cascade, Regulators, and Clinical Modulators of Coagulation. **Hematology - Latest Research and Clinical Advances**, p. 131-154, jun. 2018.

RAHHAL, J. G.; ROVAI, E. S.; HOLZHAUSEN, M.; CALDEIRA, C. L.; SANTOS, C. F.; SIPERT, C. R. Root canal dressings for revascularization influence *in vitro* mineralization of apical papilla cells. **Journal of Applied Oral Science**, v. 27, p. 1-7, abr. 2019.

RAVIDRAN, S.; HUANG, C. C.; GEORGE, A. Extracellular matrix of dental pulp stem cells: applications in pulp tissue engineering using somatic. **Frontiers in physiology**, v. 6, n.4, p. 395, jan. 2014.

RUPAREL, N. B.; DE ALMEIDA, J. F.; HENRY, M. A.; DIOGENES, A. Characterization of a stem cell of apical papilla cell line: effect of passage on cellular phenotype. **Journal of Endodontics**, v. 39, n. 3, p. 357-363, mar. 2013.

SABRAH, A. H.; YASSEN, G. H.; GREGORY, R. L. Effectiveness of antibiotic medicaments against biofilm formation of *Enterococcus faecalis* and *Porphyromonas gingivalis*. **Journal of Endodontics**, v. 39, n. 11, p. 2385-1389, nov. 2013.

SALA, R. L. **Hidrogéis Nanocompósitos Termossensíveis Aplicados no Crescimento de Células-tronco Mesenquimais e Condrócitos para a Engenharia Tecidual**. Tese (Doutorado em Físico-Química) – Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, 2018.

SEDGLEY, C. M.; CHERKAS, P.; CHOGLÉ, S. M. A.; GEISLER, T. M.; HARGREAVES, K. M.; PARANJPE, A. K.; YAMAGISHI, V. T. Regenerative Endodontics: Endodontics: Colleagues for Excellence. **American of Association of Endodontists**, p. 1-8, 2013.

SHIMIZU, E.; RICUCCI, D.; ALBERT, J.; ALOBAID, A. S.; GIBBS, J. L.; HUANG, G. T.; LIN, L. M. Clinical, radiographic, and histological observation of a human immature permanent tooth with chronic apical abscess after revitalization treatment. **Journal of Endodontics**, v. 39, n. 8, p. 1078-1083, ago. 2013.

SHIVASHANKAR, V. Y.; JOHNS, D. A.; MAROLI, R. K.; SEKAR, M.; CHANDRASEKARAN, R.; KARTHIKEYAN, S.; RENGANATHAN, S. K. Comparison of the Effect of PRP, PRF and Induced Bleeding in the Revascularization of Teeth with Necrotic Pulp and Open Apex: A Triple Blind Randomized Clinical Trial. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v. 11, n. 6, p. 34-39, jun. 2017.

SIMON, S.; SMITH, A. J.; BERDAL, A.; LUMLEY, P. J.; COOPER, P. R. The MAP kinase pathway is involved in odontoblast stimulation via p38 phosphorylation. **Journal of Endodontics**, v. 36, n.2, p. 256-259, fev. 2010.

SIQUEIRA, J. F.; ROÇAS, I. Present status and future directions in endodontic microbiology. **Endodontic Topics**, v. 30, p 3–22, mai. 2014.

SKOGLUND, A.; TRONSTAD, L.; WALLENIOUS, K. A microangiographic study of vascular changes in replanted and autotransplanted teeth of young dogs. **Oral Surgery, oral medicine, and oral pathology**, v. 45, n. 1, p. 17-28, jan. 1978.

SMITH, A. J.; SMITH, J. G.; SHELTON, R. M.; COOPER, P. R. Harnessing the natural regenerative potential of the dental pulp. **Dental clinics of North America**, v.56, n.3, p. 589-601, jul. 2012.

SOARES, A. J.; LINS, F. F.; NAGATA, J. Y.; GOMES, B. P. F. A.; ZAIA, A. A.; FERRAZ, C. C. R.; ALMEIDA, J. F.; SOUZA-FILHO, F. J. Pulp Revascularization after Root Canal Decontamination with Calcium Hydroxide and 2% Chlorhexidine Gel. **Journal of Endodontics**, v. 39, n. 3, p. 417-420, mar. 2013.

SOARES, Ilson J.; GOLDBERG, Fernando. **Endodontia**. 2 ED. Porto Alegre: Artmed, 2011. 524 p.

SOUZA, T. S.; DEONÍZIO, M. A.; BATISTA, A.; KOWALCZUCK, A.; SYDNEY, G. B. Regeneração endodôntica: existe um protocolo?. *Revista Odontológica do Brasil Central*, v. 22, n. 63, p. 128-133, 2013.

SOUZA, T. S.; DEONÍZIO, M. A.; BATISTA, A.; KOWALCZUCK, A.; SYDNEY, G. B. Regeneração endodôntica: existe um protocolo?. **Revista Odontológica do Brasil Central**, v. 22, n.63, p.128-133, 2013.

STAMBOLSKY, C.; RODRÍGUEZ-BENÍTEZ, S.; GUTIÉRREZ-PÉREZ, J. L.; TORRES-LAGARES, D.; MARTÍN-GONZÁLEZ, J.; SEGURA-EGEA, J. J. Histologic characterization of regenerated tissues after pulp revascularization of immature dog teeth with apical periodontitis using tri-antibiotic paste and platelet-rich plasma. **Archives of Oral Biology**, v. 71, p. 122-128, 2016.

TELLES, P. D.; MACHADO, M. A.; SAKAI, V. T.; NÖR, J. E. Pulp tissue from primary teeth: new source of stem cells. **Journal of Applied Oral Science: FOB**, v. 19, n. 3, p. 189-94, mai-jun. 2011.

THOMAS, H. F. Root formation. **The International Journal of Developmental Biology**, v. 39, n. 1, p. 231-237, fev. 1995.

TORABINEJAD, M.; TURMAN, M. Revitalization of tooth with necrotic pulp and open apex by using platelet-rich plasma: a case report. **Journal of Endodontics**, v.37, n.2, p. 265-268, fev. 2011.

TORABINEJAD, Mahmoud; WALTON, Richard E. **Endodontia Princípios e Práticas**. 4 ED. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. 496 p.

TREVINO, E. G.; PATWARDHAN, A. N.; HENRY, M.; PERRY, G.; DYBDAL-HARGREAVES, N.; HARGREAVES, K. M.; DIOGENES, A. Effect of irrigants on the survival of human stem cells of the apical papilla in a platelet-rich plasma scaffold in human root tips. **Journal of Endodontics**, v. 37, n. 8, p. 1109-1115, ago. 2011.

TZIAFAS, D.; KODONAS, K. Differentiation Potential of Dental Papilla, Dental Pulp, and Apical Papilla Progenitor Cells. **Journal of Endodontics**, v. 36., n. 5, p. 781-789, mai. 2010.

VERMA, P.; NOSRAT, A.; KIM, J.R.; PRICE J.B.; WANG, P.; BAIR, E.; XU, H.H.; FOUAD, A.F. Effect of Residual Bacteria on the Outcome of Pulp Regeneration In Vivo. **Journal of Dental Research**, v. 96, n. 1. p. 100-106, jan. 2016.

WIGLER, R.; KAUFMAN, A.Y.; LIN, S.; STEINBOCK, N.; HAZAN-MOLINA, H.; TORNECK, C. D. Revascularization: a treatment for permanent teeth with necrotic pulp and incomplete root development. **Journal of Endodontics**, v. 39, n. 3, p. 319-326, mar. 2013.

XU, X.; JHA, A. K.; HARRINGTON, D. A.; FARACH-ARSON, M. C.; KIA, X. Hyaluronic acid-based hydrogels: from a natural polysaccharide to complex networks. **Soft Matter**, v. 8, n. 12, 3280-3294, 2012.

YANG, B.; CHEN, G.; LI, J.; ZOU, Q.; XIE, D.; CHEN, Y.; WANG, H.; ZHENG, X.; LONG, J.; TANG, W.; GUO, W.; TIAN W. Tooth root regeneration using dental follicle cell sheets in combination with a dentin matrix-based scaffold. *Biomaterials*, v. 33, n. 8, p. 2449-2461, mar. 2012.

YASSEN, G. H.; VAILL, M. M.; CHU, T. G.; PLATT, J. A. The effect of medicaments used microhardness of radicular dentine. *International Endodontic Journal*, v. 46, n. 7, p. 688-695, jul. 2013.