

Jade Sophie Elodie Balana

Procedimentos Endodonticos Regenerativos: Revisão Narrativa

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências de saúde

Mestrado Integrado em Medicina Dentária

PORTO, 2022

Jade Sophie Elodie Balana

Procedimentos Endodonticos Regenerativos: Revisão Narrativa

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências de saúde

Mestrado Integrado em Medicina Dentária

PORTO, 2022

Jade Sophie Elodie Balana

Procedimentos Endodonticos Regenerativos: Revisão Narrativa

**“Trabalho apresentado à Faculdade de Ciências de Saúde da
Universidade Fernando Pessoa, como parte dos requisitos para a
obtenção do Grau de Mestre em Medicina Dentária.”**

Jade Sophie Elodie Balana

Procedimentos Endodônticos Regenerativos: Revisão Narrativa

RESUMO

A gestão de dentes necróticos imaturos é sempre um desafio terapêutico para o praticante há décadas. Estes dentes têm paredes radiculares finas e frágeis com um ápice amplamente aberto, tornando a terapia endodôntica tradicional complexa.

Nos últimos anos, novas técnicas endodônticas têm aparecido na literatura. Permitiriam a continuação do desenvolvimento radicular em dentes necróticos imaturos. Para atingir este objectivo, os investigadores estudaram várias técnicas: revascularização do coágulo sanguíneo, terapia com SC, implantação de polpa, implantação de scaffold, impressão de células tridimensionais, scaffold injectável e terapia genética.

Estes tratamentos podem ser benéficos uma vez que apresentam a possibilidade de restaurar a funcionalidade da polpa, fazendo uma polpa vital capaz de promover uma maturação apical correcta.

O objectivo deste trabalho é analisar os diferentes protocolos existentes da medicina regenerativa e especialmente o que se relaciona com a revascularização.

Palavras-chaves: Dentes Imaturos; Procedimentos Pulpar Regenerativos; Pasta Triple Antibiotico; Terapia do Canal; Revascularização

ABSTRACT

The management of immature necrotic teeth is always a therapeutic challenge for the practitioner for decades. These teeth have thin and fragile root walls with a wide open apex, making traditional endodontic therapy complex.

In recent years, new endodontic techniques have appeared in the literature. They would allow the continuation of root development in immature necrotic teeth. To achieve this goal, researchers have studied various techniques: blood clot revascularisation, stem cell therapy, pulp implantation, scaffold implantation, three-dimensional cell printing, injectable scaffold and gene therapy.

These treatments may be beneficial as they present the possibility of restoring pulp functionality, making a vital pulp capable of promoting correct apical maturation.

The aim of this work is to analyse the different existing protocols of regenerative medicine and especially the one related to revascularisation.

Keywords: Immature Teeth; Pulp Regeneration Procedures; Triple Antibiotic Paste; Root Canal Therapy; Pulp Revascularisation

INDICE

RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	vi
AGRADECIMENTOS	viii
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	ix
I - INTRODUÇÃO	1
1- Materiais e Métodos.....	2
II - DESENVOLVIMENTO	2
1- Revascularização Pulpar	2
a. Indicação de Revascularização	2
b. Princípios e Mecanismos de Revascularização	3
2- Princípios Biológicos da Terapia Regenerativa	3
a. Fator de Crescimento	3
b. Células Estaminais	4
c. Scaffold	4
3- Protocolo Clínico de Revascularização por Coagulação Sanguínea	5
a. Instrumentação.....	5
b. Irrigação / Desinfecção Intracanal	6
c. Medicação Intracanal	7
d. Indução do Coagulo Sanguíneo	7
e. Selamento Coronal.....	8
4. Revascularização Melhorada.....	8
a. Melhorado pela Adição de PRP.....	9
b. Melhorado pela Adição de PRF.....	10
III - DISCUSSÃO	11
IV - CONCLUSÃO	14
VI- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	16

AGRADECIMENTOS

A mes parents, vous avez fait de moi ce que je suis. Vous m'avez transmis la détermination, l'envie de réussir et le goût du perfectionnisme dans mon travail. Même si cela n'a pas toujours été facile, je vous remercie de m'avoir soutenu dans toutes mes décisions et j'espère vous remplir de fierté. Merci de croire en moi, merci pour votre patience, pour votre soutien, pour tout l'amour que vous m'avez donné.

A ma soeur, mon bébé merci pour ta patience durant ces 5 longues années loin de toi, merci d'avoir toujours cru en moi et de m'avoir soutenu. Je t'aime fort.

Merci à ma famille de m'avoir toujours encouragé et soutenu toutes ces années.

A mes Grands-parents, merci pour votre amour, votre soutien depuis toujours. Merci pour tout ce temps que vous nous avez consacré et toutes ces valeurs transmises.

A ma tatie Sophie, merci pour chaque parole que tu as pu avoir, merci pour ton amour inconditionnel, merci d'avoir été là dans les moments les plus durs.

A Yoan, merci pour ton soutien inconditionnel, ton amour et ta patience. Merci d'avoir été présent durant toutes ces années.

Ao meu orientador, o Professor Duarte Antunes Guimarães pela dedicação, pelo apoio e paciência ao longo destes meses. Obrigada por tudo.

A Salomé, ma binôme, mon amie depuis 5 ans et pour longtemps encore. Merci pour ces années passées, merci pour ta bienveillance, notre complémentarité qui nous a permise de grandir et d'évoluer toutes les deux.

A tous mes copains de la fac, merci pour ces nombreux souvenirs, discussions, fous rires partagés avec vous pendant ces 5 ans.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AAE - American Association of Endodontists

CR - Canais Radiculares

Ca(OH)₂ - Hidróxido de Cálcio

DPI - Dentes Permanentes Imaturos

DPSC - Células Estimais da Polpa Dentária

EDTA - Acido Etilenodiaminotetracético

EGF - Fator de Crescimento Epidérmico

GF - Fatores de Crescimento

MTA - Agregado de Trióxido Mineral

PDGF - Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas

PER - Procedimentos Endodônticos Regenerativos

PRF - Fibrina Rica em Plaquetas

PRP – Plasma Rico em Plaquetas

SC - Células Estaminais

SCAP - Célula-Estimais Papilar Apical Reservatório

TAP - Pasta Antibiótica tripla

I - INTRODUÇÃO

O objetivo principal e predominante de todo tratamento endodôntico é a conservação das estruturas naturais do que resta e a cicatrização dos tecidos danificados pela infecção (Mittal et al, 2021). A polpa dentária é um tecido altamente vascularizado e innervado localizado dentro de paredes dentinárias rígidas, e desempenha várias funções, como responder a sinais externos, fornecer nutrição e melhorar a sensibilidade neuronal, reparando a polpa por meio da mineralização (Goldberg et al, 2015).

Portanto, a perda desse tecido resulta em perda da vitalidade do dente e requer tratamento endodôntico. A terapia do Canal Radicular (CR) é um tratamento clássico e eficaz que é utilizado atualmente na prática odontológica, oferecendo altas taxas de sucesso para doenças pulpares e periapicais; entretanto, os dentes após terapia do CR são suscetíveis a alterações na defesa pulpar e função sensorial, até mesmo fraturas, como consequência da perda pulpar (Su et al, 2011). A cavidade pulpar dos dentes permanentes imaturos (DPI) é ampla e o forâmen apical é aberto. Além disso, esses dentes são mais propensos a fraturas devido às paredes dentinárias finas e fracas do CR.

A polpa dentária pode ser lesada por trauma acidental, desgaste excessivo ou invasão por bactérias orais acidogênicas levando a uma lesão de cárie. Neste último caso, a penetração de bactérias através do esmalte (ou cimento) e, em seguida, da dentina desencadeia mecanismos de defesa dentro do tecido DP que se desenvolvem rapidamente e, finalmente, levam, na ausência de remoção de bactérias pelo dentista, a eventos imunes/inflamatórios irreversíveis agudos que totalmente destruir o DP (Ducret, et al, 2017).

Normalmente, demora cerca de 3 a 5 anos para a raiz dos DPI amadurecerem. Nesta fase, se ocorrer necrose pulpar ou inflamação periapical, o tratamento endodôntico convencional não pode atender aos requisitos de infecção isolada, o que afetará a retenção e posterior restauração dos dentes (Xie Y. et al, 2021). Recentemente, houve um rápido progresso relacionado com a regeneração pulpar mediada por engenharia de tecidos que combina CS, biomateriais e fatores de crescimento (GF). O objetivo da Endodontia regenerativa é promover a recuperação normal da função pulpar em dentes inflamados ou necróticos, o que resultaria numa verdadeira regeneração do complexo pulpodentinário (Xie Z. et al, 2021).

1- Materiais e Métodos

Para a realização do presente trabalho efectuou-se uma pesquisa bibliográfica, nas bases de dados PubMed, B-on e Google Académico entre o meses de Outubro de 2021 e de Junho de 2022. Foram publicados os seguintes filtros de pesquisa: estudos realizados em humanos, redigidos em língua portuguesa, Inglesa e francesa com texto integral disponível. Através dos resumos foi possível iniciar a seleção dos relevantes, para a posterior obtenção dos artigos completos.

Foram utilizadas as seguintes palavras chave: Dentes Imaturos; Procedimentos de Regeneração Pulpar; Pasta Antibiótica Tripla; Tratamento Endodôntico; Revascularização Pulpar.

Foi utilizado o marcador "AND" para estabelecer uma relação entre os termos, no sentido de finalizar a pesquisa e obter resultados mais precisos.

Dos 280 artigos encontrados foram seleccionados em 48 artigos considerados relevantes. O interesse dos artigos encontrados foi inicialmente avaliado pelo título e posteriormente, pelo resumo e texto completo. Como critérios de exclusão foram eliminados artigos sem interesse e valor científico para o tema em questão. Os estudos incluídos avaliaram as técnicas de revascularização e regeneração pulpar.

II - DESENVOLVIMENTO

1- Revascularização Pulpar

a. Indicação de Revascularização

O trauma dentário em crianças resulta em danos ao tecido pulpar, com preocupação principalmente no dente imaturo, pois as opções de tratamento são limitadas nesses casos de ápices abertos (Krupinska et al, 2021). Para dentes imaturos necróticos, a revascularização é uma alternativa desejável à apexificação e apresenta bom prognóstico a curto e longo prazo (Park et al, 2015). A estipulação básica é um dente permanente com polpa necrosada e raiz imatura que não necessita de pino para a restauração final (Kim et al, 2018).

O grande tamanho ISO apical de seu foramen apical inicialmente fez dos dentes em desenvolvimento e imaturos de pacientes jovens uma boa indicação para o uso da estratégia de revascularização (AAE, 2016). Um DPI infectado com um ápice aberto tem maior potencial para um resultado de tratamento endodôntico positivo do que

dentos maduros, devido à rica vascularização, um grande suprimento de Células Estaminais da Polpa Dentária (DPSC) (Moodley et al, 2017), a célula-estaminais papilar apical reservatório (SCAP), e sua capacidade de produzir os odontoblastos primários envolvidos na apexogênese (Sonoyama et al, 2008; Banchs et al, 2004; Palma et al, 2019). Um paciente tratado deve estar atento e não apresentar sinais de alergia aos medicamentos utilizados durante o procedimento (Galler, 2016).

b. Princípios e Mecanismos de Revascularização

A Engenharia de tecidos é um campo crescente da ciência que liga os princípios da Medicina, Engenharia e Biologia para substituir, restaurar ou regenerar danos ou perdidos devido a doenças e/ou traumas (Parveen 2006). Os procedimentos endodônticos regenerativos (PER) oferecem uma nova esperança de converter um dente não vital num dente vital. Essas possíveis abordagens regenerativas incluem revascularização do CR, terapia com DPSC, implante de polpa, implante de scaffold, impressão de células 3D, scaffolds injetáveis e terapia gênica (Ghivari et al., 2017).

O desenvolvimento e as conquistas da engenharia de tecidos proporcionaram novas perspectivas e opções de tratamento em Endodontia para o reparo do complexo dentino-pulpar, cimento e tecidos periodontais. De acordo com a American Association of Endodontists (AAE), Endodontia regenerativa é definida como “procedimentos de base biológica projetados para substituir estruturas danificadas, incluindo dentina e raízes, bem como as células do complexo dentino-pulpar” (Krupinska et al, 2021). Com o objetivo de restaurar os CR voltando a um estado saudável, permitindo o desenvolvimento contínuo da raiz e dos tecidos adjacentes (Duncan et al, 2018)). É aceito que o tratamento endodôntico não cirúrgico e os PER servem o mesmo propósito essencial. A Endodontia regenerativa traz uma nova perspectiva ao tratamento de dentes com necrose pulpar; e, além disso, procedimentos simples e baratos podem ser realizados com instrumentos e materiais usados atualmente (Krupinska et al, 2021).

2- Princípios Biológicos da Terapia Regenerativa

a. Fator de Crescimento

GF são polipeptídeos que estimulam a proliferação celular e são as principais moléculas que regulam o crescimento celular em cultura e in vivo (Duncan et al, 2018). A regeneração tecidual requer sinais apropriados (GF e diferenciação) que ativam essas células (Ahmed et al, 2020). Os GF interagem com receptores celulares específicos para

ativar cascatas de sinalização intracelular, resultando em proliferação, diferenciação, migração e apoptose celular de muitos tipos celulares diferentes, incluindo células da polpa dentária e CS (Krupinska et al, 2021). A estimulação da divisão e diferenciação celular é coordenada por vários GF, como fatores de crescimento de fibroblastos, fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de crescimento epidérmico (EGF) e GF semelhante à insulina (Kim et al, 2022). Outros são conhecidos como fatores promotores da cicatrização de feridas, como é o caso das superfamílias fatores de transformação do crescimento - β dos tipos 1, 2 e 3. Existem vários reservatórios de GF para terapias endodônticas: fibrina rica em plaquetas (PRF), plasma rico em plaquetas (PRP), coágulos sanguíneos e a matriz dentinária (Krupinska et al, 2021). Outros, no entanto, demonstraram que os GF angiogênicos presentes na dentina eram insuficientes para induzir a diferenciação endotelial in vivo (Duncan et al, 2018).

b. Células Estaminais

As células estaminais (SC) são definidas como células não especializadas altamente proliferativas, que têm a capacidade de se diferenciar em vários outros tipos de células. SC são um componente essencial da engenharia de tecidos e procedimentos de localização de células, sendo auto-renováveis e tendo a capacidade de se diferenciar em várias linhagens de tecidos (Mason et Dunnill, 2008). Tem sido sugerido que as SC da polpa dentária têm a capacidade de diferir não apenas nos tecidos dentários, mas também têm a capacidade de diferenciação neuronal e muscular, podendo, portanto, desempenhar um papel fundamental no futuro tratamento médico de várias doenças (Krupinska et al, 2021). As seguintes fontes de DPSC humana foram caracterizadas (Capparè et al, 2020; Gong et al, 2016 *Cit in* Krupinska et al, 2021): DPSC, SC do dente decíduo esfoliado, do ligamento periodontal, células precursoras do folículo dentário, SCAP e células progenitoras de germes dentários (Krupinska, 2021). Estudos indicam que a polpa dentária contém cinco tipos de SC mesenquimais (Sangappa et al, 2014). As SC da papila apical são capazes de formar células semelhantes a odontoblastos, produzindo dentina in vivo e provavelmente são a fonte de odontoblastos primários para a formação de dentina radicular (Basal et al, 2015).

c. Scaffold

Como terceiro componente da tríade de engenharia de tecidos, o scaffold é descrito como um material biocompatível tridimensional (3D) que fornece suporte mecânico a moléculas ou células bioativas e atua como um molde de matriz extracelular,

predispondo a adesão e proliferação de um tipo celular específico, como células pulpares. (Ceccarelli et al, 2017). Quando o Scaffold é semeado com CS, elas podem proliferar e se diferenciar em novos tecidos que eventualmente substituem o Scaffold (Hameed, et al, 2019). O Scaffold ideal deve ser esterilizável, não citotóxico, não evocar resposta inflamatória, permanecer estável e fornecer suporte celular e vascularização. Deve ter capacidade indutiva com GF e morfogênicos adicionados para fixação celular, proliferação, migração e diferenciação mais rápidas em tecidos específicos (Yuan et al, 2011). Idealmente, o Scaffold deve ter alta porosidade para facilitar a deposição celular e permitir a troca eficiente de nutrientes e gases. Além disso, deve ter as propriedades físicas e mecânicas adequadas e ser totalmente biodegradável. No entanto, a degradação do arcabouço deve ser igual a uma taxa de formação de novos tecidos (Krupinska et al, 2021). Existem diferentes tipos de Scaffold conhecidos, dependendo da sua origem; Scaffold naturais (por exemplo, colágeno, ácido hialurônico, PRF, PRP, coágulo sanguíneo, quitosana) e artificiais (por exemplo, polímeros de ácido poliglicólico, ácido polilático, poliepsilncaprolactona, vitrocerâmica e vidros bioativos) diferem em seus atributos e propriedades (Vyas, 2017). Atualmente, muitos PER usam dentina e concentrados de plaquetas autólogas (coágulo sanguíneo, PRF ou PRP) para servir como suporte a proliferação e diferenciação de CS da papila apical ou outras células da polpa devido à presença de GF (Hameed et al, 2019).

3- Protocolo Clínico de Revascularização por Coagulação Sanguínea

A revascularização de DPI necrosados não é padronizado parecendo apoiar o seguinte protocolo: primeiro, uma avaliação radiográfica pré-operatória para determinar o grau de desenvolvimento radicular e a condição periapical do dente (Carmen et al, 2017), com testes pulpares de sensibilidade térmica, elétricos e de percussão (Levin, 2013). Exames extra-orais e intra-orais para procurar sinais de adenopatia ou inchaço.

a. Instrumentação

Após a anestesia local, o dente é isolado com dique de borracha e a coroa é limpa com clorexidina a 2 %. Em seguida, a câmara pulpar é acessada e os CR são irrigados abundantemente para desinfetá-los. Durante a primeira visita de revitalização, diferentes autores concordam em fazer instrumentação mínima (Krupinska et al, 2021), abundante desinfecção química e colocação de medicação endodôntica entre as consultas, enquanto na segunda consulta, a instrumentação mecânica gera sangramento (para

transplante endógeno de SC e GF) da região periapical e a formação de um coágulo de fibrina no CR, antes da restauração coronária (Sonoyama et al, 2008). Em 68% dos relatos de casos clínicos, não houve instrumentação mecânica das paredes do canal (Kontakiotis et al, 2015). Alguns estudos sugeriram que a instrumentação completa pode ser prejudicial ao PER, eliminando tecidos vitais da área apical do canal e também enfraquecendo as paredes das raízes (Galler, 2016), (Hameed et al, 2019). No entanto, o desbridamento mecânico parece ser necessário para a eliminação da estrutura do biofilme, pois a sua manutenção causa inflamação persistente e diminui consideravelmente as chances de sucesso do procedimento (Krupinska et al, 2021). Tem sido sugerido que o grande calibre ISO do foramen apical poderia ser benéfico para a migração de células da área apical para o CR, a fim de criar novo tecido (Kim et al, 2018). Estudos recentes mostraram que o tratamento mais eficaz é realizado com uma largura de foramen de 0,5-1,0 mm (Fang et al, 2018).

b. Irrigação / Desinfecção Intracanal

A desinfecção intracanal é considerada uma etapa essencial na Odontologia regenerativa, pois a infecção impede o reparo e a regeneração do tecido pulpar e também pode danificar as SC nos tecidos periapicais. A seleção cuidadosa dos irrigantes parece ser importante, devido às suas várias propriedades antimicrobianas, diferentes reações com os tecidos, lubrificação do CR e eliminação de doenças. O protocolo mais comum para controlar a infecção é a irrigação radicular com hipoclorito de sódio (NaOCl) e ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) ou clorexidina, seguida de obturação do sistema de CR com antibacteriano hidróxido de cálcio (Ca(OH)₂) ou uma pasta antibiótica tripla (TAP) (Bezgin et al, 2015).

O hipoclorito de sódio provou ser um dos irrigantes dos CR mais apropriados para eliminar microorganismos do espaço endodôntico devido ao seu efeito bactericida, bacteriostático e às suas propriedades de dissolução tecidual (Ducret, et al., 2017). Um estudo recente provou que o impacto do NaOCl nas propriedades mecânicas da dentina depende da concentração e do tempo de irrigação. Também é aceito que maiores concentrações de hipoclorito de sódio têm efeito tóxico na sobrevivência das SCAP. Portanto, as diretrizes atuais para os PER recomendam o uso de 1,5% a 3% de NaOCl, pois essa concentração de irrigante mostrou ser pouco prejudicial para SCAP e odontoblastos (Carmen et al., 2017).

Vários estudos mostraram que o EDTA desmineraliza suavemente a dentina e expõe as moléculas bioativas armazenadas na dentina sem afetá-las, permitindo a diferenciação odontoblástica das CS precursoras que entram em contato com elas (Galler et al, 2016). É proposto o uso alternado de NaOCl e EDTA, (Ducret et al, 2017). O efeito nocivo do NaOCl pode ser revertido pelo uso de EDTA a 17% após irrigação com NaOCl, o que pode ser benéfico para a preservação do tecido, bem como para melhorar a sobrevivência do SCAP (Kahler et al, 2017). Trevino et al. mostram que concluíram que 17% de EDTA promove a sobrevivência das SCAP e permite que elas se fixem na parede dentinária do CR (Carmen et al, 2017).

c. Medicação Intracanal

A medicação intracanal deve ser usada em concentrações que sejam bactericidas, mas não prejudiquem simultaneamente a viabilidade das CS. É aconselhado uso de Ca(OH)_2 ou TAP (Carmen et al, 2017). Em relação à TAP, a maioria dos autores recomenda o uso de proporções iguais de ciprofloxacino, metronidazol e minociclina, misturados com água estéril, pois a flora do CR é polimicrobiana. A TAP resulta num aumento do comprimento da raiz e um maior aumento na espessura da parede. O uso desta pasta não é isento de complicações. O uso de antibióticos está sempre associado ao risco de reação alérgica sistêmica (Kim et al 2018). A descoloração da estrutura dentária é um dos efeitos colaterais causados pela minociclina incluída na TAP (Kirchhoff et al, 2015). Problemas de descoloração podem ser evitados substituindo a minociclina por cefaclor, ou eliminado em pasta antibiótica dupla (Chen et al, 2011).

A outra medicação endodôntica recomendada, Ca(OH)_2 , mostrou aumento da proliferação de SCAP (Kahler et al, 2017) e nenhuma propriedade citotóxica. O Ca(OH)_2 retém seu caráter antimicrobiano por longos períodos de tempo, de modo que efetivamente erradica as bactérias da dentina da raiz infectada (Kharchi et al, 2020). O uso de Ca(OH)_2 como curativo do CR por um longo tempo pode levar ao enfraquecimento da dentina radicular e aumentar a possibilidade de fratura da parede radicular (Andreasen et al, 2002).

d. Indução do Coágulo Sanguíneo

O próximo passo no PER é a laceração dos tecidos periapicais com uma lima manual para induzir o sangramento no espaço do canal. Este procedimento deve ser realizado sob anestesia local e sem vasoconstritor. O fluxo sanguíneo pode fornecer MSC (Chrepa

et al, 2015), imunoglobulinas, citocinas e GF, como PDGF, TGF, IGF e EGF (Saoud et al, 2016). Outro objetivo é a formação de coágulos sanguíneos, que podem servir como Scaffold (Kim et al, 2018). Idealmente, o topo do coágulo sanguíneo deve atingir 2 a 3 mm abaixo da junção cimento-esmalte (Estrada et López, 2018).

e. Selamento Coronal

Uma vez que esta etapa é concluída, um cimento de agregado de trióxido mineral (MTA) é colocado sobre o coágulo sanguíneo ou suporte para selar o espaço do canal e prevenir a invasão bacteriana. O MTA exibe capacidade bioindutiva, propriedades restauradoras (Neto et al, 2016) e biocompatibilidade com tecidos dentários (Kahler et al, 2017). Para obter um bom selamento coronal, uma camada de 3-4 mm de ionômero de vidro deve cobrir o MTA, seguida de uma restauração de resina adesiva (AAE, 2016). Deve-se mencionar que pesquisas recentes encontraram um maior valor de resistência ao cisalhamento entre o cimento de silicato de cálcio (como Biodentine e MTA) revestido com compósito à base de resina do que ionômero de vidro (Altunsoy et al, 2015; Palma et al, 2018 *Cit in* Krupinska et al, 2021).

Estudos de acompanhamento de longo prazo são necessários para estabelecer resultados confiáveis sobre a taxa de sucesso dos PER (Kim et al, 2018). O acompanhamento abrangente deve incluir exames radiográficos e clínicos. Radiografias periapicais podem verificar o aumento do comprimento e largura das paredes radiculares, bem como a resolução da radiolucência apical (Shetty et al, 2021). Os intervalos de tempo viáveis para acompanhamentos são 3, 6, 12, 18 e 24 meses (Galler, 2016) e parecem depender diretamente do estágio de desenvolvimento radicular ou do diâmetro do foramen apical, sendo observada maior cicatrização com foramen apicais maiores que 1,5 mm (Ghivari et al, 2017).

4. Revascularização Melhorada

O PER estabeleceu uma nova abordagem à terapia radicular, para preservar a polpa vital do dente (Krupinska et al, 2021). Uma nova ideia para melhorar o prognóstico do tratamento é combinar o método tradicional PER com PRP ou PRF. Após induzir sangramento na região periapical, a quantidade de sangue não é adequada e a parte restante do canal é preenchida com o preparo de sangue centrifugado do paciente. Poucos autores utilizaram o PER e, em seguida, obtiveram a preparação do PRP a partir do sangue do paciente. Eles descrevem resultados muito bons (Metlerska, 2018).

a. Melhorado pela Adição de PRP

Técnicas regenerativas usando PRP têm se tornado cada vez mais populares em cirurgia oral, periodontia e endodontia como um complemento para promover técnicas de localização celular (Bezgin et al, 2015). A centrifugação do sangue faz com que as partículas migrem dependendo de seu tamanho, massa e densidade (Metlerska, 2018). Os concentrados de plaquetas mais populares são o PRP e PRF. Os concentrados de plaquetas contêm GF, estimulam a produção de colágeno, recrutam outras células para o local da lesão, produzem agentes anti-inflamatórios, iniciam o crescimento vascular, induzem células de diferenciação e melhoram o potencial de cicatrização de tecidos moles e duros (Sachdeva et al, 2015).

Durante a preparação do PRP, o sangue centrifugado é então misturado com trombina e cloreto de cálcio para induzir uma ativação maciça das plaquetas concentradas e uma gelificação da preparação. Embora o gel de fibrina deva ser um suporte perfeito para a ação das citocinas, essas pequenas moléculas solúveis são libertadas muito rapidamente para serem firmemente construídas dentro da matriz de fibrina durante a polimerização (Metlerska, 2018).

PRP representa a primeira geração de plasma autólogo e possui uma concentração de plaquetas 5 vezes maior que a do sangue total (Brass, 2010; Marx et al, 1998 *Cit in* Ulusoy et al, 2019). GF, que são derivados do PRP, incluem PDGF, EGF derivado de plaquetas (PDEGF), TGF- β , IGF-1, VEGF, EGF, fator de crescimento de células epiteliais (ECGF) e uma infinidade de outras moléculas sinalizadoras.

Embora represente uma oferta atraente de GF de origem local, uma desvantagem do uso clínico do PRP é a necessidade de equipamentos especiais de “cadeira” (por exemplo, uma centrífuga), reagentes para preparar o PRP, bem como flebotomia, o que aumenta o custo e invasividade do tratamento (Duncan et al, 2018). Outro problema técnico é o controle da colocação e liberação de GF do concentrado, o que pode levar a uma entrega rápida, em vez de sustentada, de GF bioativos. A fim de melhorar as suas propriedades físicas, foi sugerido que o PRP pode ser misturado com colágeno, hidrogéis, alginatos ou outros Scaffolds para solidificar a estrutura e modular sua taxa de degradação (Rodriguez et al, 2014 *Cit in* Duncan et al, 2018).

Os resultados de Miron et al mostraram que o PRP e o PRF injetável contêm potencialmente uma série de GF responsáveis pela regeneração tecidual que podem

induzir o comportamento dos fibroblastos. Embora o PRP tenha induzido níveis mais elevados de proliferação celular, o PRF injetável induziu maior migração celular e expressão de RNA mensageiro de TGF- β , GF derivado de plaquetas e do gene COL1a2 (Metlerska, 2018).

b. Melhorado pela Adição de PRF

A PRF como ferramenta de regeneração tecidual na medicina foi introduzida em 2001 (Arshad et al, 2021). PRF, é a segunda geração de concentrados de plaquetas, tem atraído mais atenção devido ao seu processo de produção simples e componente natural sem aditivos artificiais. Como reservatório de citocinas abundantes, cadeias de glicanos e glicoproteínas, estruturais aprisionadas na grade de fibrina de polimerização livre, pode promover recrutamento, proliferação e diferenciação celular (Metlerska, 2018). PRF é um biomaterial autógeno obtido imediatamente antes do procedimento a partir do próprio sangue do paciente, eliminando assim o risco associado à contaminação cruzada. Isso é alcançado pela formação de um coágulo de fibrina que ocorre durante a centrifugação do sangue humano (Arshad et al, 2021).

Atua como uma matriz para o crescimento do tecido. Evidências de espessamento progressivo das paredes dentinárias, alongamento das raízes, regressão da lesão periapical e fechamento apical têm sido relatados. por Shivashankar et al., após o uso de PRF num dente com necrose pulpar e ápice aberto (Arshad et al, 2021).

Embora o PRP e o PRF contenham um número semelhante de plaquetas, a polimerização do PRF envolve apenas componentes endógenos, tornando-se uma rede de fibrina mais adequada para o armazenamento de citocinas e proteínas, GF e para migração celular (Ulusoy et al, 2019). A PRF usada isoladamente ou com enxerto ósseo promove o crescimento ósseo e a vascularização. Esta matriz promove a migração, fixação celular e proliferação de osteoblastos que levam à formação óssea (Arshad et al, 2021).

O PRF é constituído por um complexo concentrado de fibrina composto por leucócitos, citocinas e glicoproteínas como a trombospondina. Comparado ao PRP, o PRF é mais económico, fácil de preparar e utilizável na prática clínica diária. (Arshad et al, 2021). As citocinas libertadas pelo PRF desempenham um papel importante na formação de vasos sanguíneos e na estimulação do sistema imunológico para combater patógenos estranhos (Arshad et al, 2021).

PRF é ideal para a revascularização de DPI com polpas necróticas, fornecendo um arcabouço rico em GF, aumentando a proliferação e diferenciação celular. Atua como uma matriz para o crescimento do tecido. Comparado ao PRP, que requer o uso de agentes anticoagulantes, o PRF não requer aditivos e forma uma estrutura de fibrina melhorada que protege os tecidos em desenvolvimento e controla a liberação gradual de GF à medida que a membrana se degrada (Duncan et al, 2018). Devido à consistência sólida da fibrina, o PRF tende a ser lentamente decomposto por remodelação, como um coágulo sanguíneo natural (Metlerska, 2018). O modo lento de polimerização da fibrina no PRF confere às citocinas maior viabilidade, o que afeta significativamente o processo de cicatrização (Kim et al, 2018).

Observou-se que após 1 a 2 semanas de tratamento com PRF, a cicatrização foi acelerada em relação ao PRP. Alguns afirmam que o PRF acelera o crescimento do tecido em comparação com o PRP (Narang et al, 2015), enquanto, inversamente, outros não mostraram resultados melhores em comparação com um coágulo sanguíneo sozinho (Zhou et al, 2017). Uma revisão sistemática recente demonstrou que não há diferença entre PRP, PRF e coágulo sanguíneo sozinho ao comparar medidas de resultado de aumento do espessamento sanguíneo, parede e fechamento da raiz.

III - DISCUSSÃO

O procedimento de revascularização da polpa pode trazer um resultado favorável, no entanto, o prognóstico do RET é imprevisível (Krupinska et al, 2021). As vantagens desta técnica são que as matrizes reparadoras se tornam parte integrante do dente, superando qualquer um dos problemas de retenção de uma restauração e possível micro infiltração bacteriana marginal. É uma técnica simples. Não há rejeição imunitária possível. Também reforça as paredes das raízes dos dentes imaturos (Megha et al, 2020).

Terapia com Células Estaminais Pós-Natal

Este método envolve a colocação de SC pós-natais em sistemas de CR desinfectados para regeneração (Bansal et al, 2014). A técnica consiste em injectar SC pós-natais em sistemas de CR desinfectados após a abertura do ápice para regeneração da polpa. As SC podem ser derivadas de múltiplos tecidos, incluindo pele, mucosa bucal, gordura e osso (Megha et al, 2020). As SC pós-natais são derivadas do cordão umbilical, bem como do sangue do cordão umbilical, sangue periférico, medula óssea, gordura

corporal, e vários outros tecidos corporais, incluindo tecido de polpa de dentes (Bansal et al, 2014). Um obstáculo importante é a identificação de uma fonte de SC pós-natal capaz de se diferenciar na população celular diversa encontrada na polpa adulta. A principal desvantagem é que as células têm taxas de sobrevivência comparativamente baixas e podem mesmo migrar para posições diferentes no corpo (Megha et al, 2020).

Implantação Pulpar

A transplantação de toda a polpa poderia fornecer o Scaffold ideal para a diferenciação dos DPSC no seu ambiente natural. Além disso, a maior parte dos nervos e vasos sanguíneos são formados, facilitando assim a revascularização e o processo conjuntivo da polpa transplantada. O autotransplante de polpa dentária a partir de polpa removida de um terceiro molar que requer extração para um dente hospedeiro que requer tratamento de CR pode abranger um procedimento clinicamente viável com um potencial impressionante de verdadeira regeneração da polpa, evitando a rejeição e inflamação do corpo. Contudo, o autotransplante de polpa dentária ainda não foi estudado (Pinheiro Feitosa et al, 2021).

As principais limitações do actual protocolo de tratamento residem em pacientes sem a presença de terceiros molares sujeitos a doação de polpa ou em casos de dentes com abscessos ou purulência ou quando os terceiros molares requerem odontosecção. Estudos futuros devem centrar-se na possível avaliação do transplante de polpa em indivíduos de diferentes famílias e num teste viável para confirmar a compatibilidade genética de um tal novo tipo de procedimento de transplante (Pinheiro Feitosa et al, 2021).

Implantação de Scaffold

As SC de polpa precisam de ser organizadas numa estrutura 3D que possa apoiar a organização celular e a vascularização para criar uma terapia mais prática de engenharia de tecidos endodónticos. Isto pode ser conseguido utilizando um Scaffold poroso de polímero semeado com SC de polpa (Megha et al, 2020). Implantado no CR vazio para criar um tecido de polpa endodóntica tridimensional concebido com organização celular e vascularização semelhante à da polpa nativa (Bansal et al, 2014). O Scaffold deve conter certos GF para a proliferação e diferenciação das SC, o que poderia levar a um melhor e mais rápido desenvolvimento dos tecidos (Nakashima et Akamine, 2005). No entanto, ainda não é claro que tipo de material de Scaffold, colagénio, polímero ou

fosfato de cálcio, pode fornecer o substrato de sobrevivência ideal para DPSCs e PDLSCs (Bansal et al, 2014).

Matriz de Scaffold Injectável

A polpa de engenharia de tecidos não é necessária para fornecer suporte estrutural ao dente, o tecido de engenharia de tecidos pode ser entregue numa matriz flexível de Scaffold 3D, tal como um hidrogel de polímero. Os hidrogéis podem ser entregues por seringa (Scaffold injectáveis). Têm a vantagem de terem semelhanças composicionais e estruturais únicas com o ECM natural. São não-invasivos. Fornecem um quadro desejável para a proliferação celular e a sobrevivência de uma estrutura de tecidos organizada. Podem superar vários desafios de vascularização, arquitectura de tecidos e sementeira simultânea de múltiplas células devido à sua capacidade de controlar a porosidade, morfologia da superfície, forma e tamanho. Apesar destes avanços, os hidrogéis estão numa fase inicial da investigação, e este tipo de sistema de entrega, embora promissor, ainda não provou a sua funcionalidade in vivo (Megha et al, 2020).

Impressão de Células Tridimensionais

Esta técnica ajuda a posicionar com precisão as células para criar construções de tecido que imitam a estrutura natural do tecido da polpa dentária. Teoricamente, um dispositivo do tipo jacto de tinta é utilizado para distribuir camadas de células suspensas num hidrogel para recriar a estrutura do tecido da polpa dentária. O posicionamento ideal das células numa construção de engenharia de tecidos incluiria a colocação de células odontoblastóides em torno da periferia para manter e reparar a dentina, com fibroblastos no núcleo da polpa suportando uma rede de células vasculares e nervosas.

A desvantagem de utilizar a técnica de impressão celular tridimensional é que seria necessária uma orientação cuidadosa da construção do tecido de celulose de acordo com a sua assimetria apical e coronal ao longo da colocação em sistemas de CR (Megha et al, 2020).

Terapia Génica

A terapia genética envolve principalmente vectores virais ou não-virais que podem fornecer genes para factores de crescimento, morfogéneos, factores de transcrição e moléculas de ECM em populações de células alvo (Megha et al, 2020).

Na endodontia, o método de entrega de genes pode ser utilizado para entregar genes de mineralização em tecido de polpa para promover a mineralização do tecido. Um portador chamado vector é utilizado para introduzir o gene terapêutico nas células alvo do paciente. O vector pode ser administrado por via intravenosa ou injetado directamente num tecido particular do corpo, onde é absorvido pelas células-alvo relevantes. Em alternativa, as células da amostra do doente são colhidas e expostas ao vector num ambiente de laboratório; as células que contêm o vector são depois reintroduzidas no doente. Cada uma das técnicas regenerativas tem méritos e deméritos, e algumas das técnicas são hipotéticas, ou estão numa fase inicial de desenvolvimento (Bansal et al, 2014).

Apesar dos avanços no campo da endodontia regenerativa, vários obstáculos precisam de ser ultrapassados: Isolar, desenvolver e definir a população de SC. SC não dentárias também devem ser exploradas para aplicações dentárias. São necessários scaffold vascularizados adequados que sejam biodegradáveis e tenham a mesma taxa de degradação que a taxa de formação da construção do tecido artificial. É necessária uma melhor compreensão e controlo dos factores de crescimento para alcançar a qualidade desejada na construção do tecido. Melhores estratégias de desinfecção. É necessário encontrar métodos para ultrapassar problemas como hemorragia insuficiente na segunda visita, descoloração do dente, falta de desenvolvimento radicular na região cervical do dente que é crítica para a força dentária (Nosrat et al, 2013). Resultados desfavoráveis, tais como desenvolvimento deficiente ou nenhum desenvolvimento radicular, deposição de tecido duro semelhante ao cimento nas paredes do CR ou formação de ilhas ósseas nos CR devem ser tratados (Bansal et al, 2014).

IV - CONCLUSÃO

As técnicas regenerativas como alternativa de tratamento para dentes necrosados ainda suscitam dúvidas. De fato, essas práticas podem ser benéficas com a possibilidade de restaurar a funcionalidade da polpa, tornando-a vital e capaz de estabelecer uma correta maturação apical. No entanto, algumas dessas técnicas são hipotéticas ou em estágio inicial de desenvolvimento. O método mais utilizado, com maior índice de sucesso, continua sendo a revascularização de coágulos sanguíneos, para a qual já existem diretrizes.

A melhora dos resultados obtidos bem como o real benefício trazido ao paciente em caso de sucesso representam argumentos favoráveis na busca do desenvolvimento a fim de posicioná-lo, um dia, como a melhor técnica para o tratamento de um imaturo necrótico dente.

No entanto, ainda não há consenso sobre o melhor protocolo operatório a ser utilizado e sobre a real composição dos tecidos formados no interior do espaço pulpar. Mais estudos parecem necessários, com resultados controlados em longo prazo, para que possamos realizar a técnica com segurança e previsibilidade. O futuro selecionará qual das múltiplas abordagens para a endodontia regenerativa será melhor para uso clínico. A revitalização pulpar representa, portanto, o futuro da odontologia endodôntica, seja em dentes imaturos e possivelmente em dentes maduros.

VI- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Ahmed, G.M. et al. (2020). *Tissue Engineering Approaches for Enamel, Dentin, and Pulp Regeneration: An Update*, Stem Cells International, 2020, pp. 1–15.

American Association of Endodontists (2016). *Clinical Considerations for a Regenerative Procedures*.

Andreasen, J.O., Farik, B. and Munksgaard, E.C. (2002). *Long-term calcium hydroxide as a root canal dressing may increase risk of root fracture: Calcium hydroxide and root fracture*, Dental Traumatology, 18(3), pp. 134–137.

Arshad, S. et al. (2021). *Platelet-Rich Fibrin Used in Regenerative Endodontics and Dentistry: Current Uses, Limitations, and Future Recommendations for Application*, International Journal of Dentistry. Edited by Z. Khurshid, 2021, pp. 1–8.

Banchs, F.; Trope, M. *Revascularization of Immature Permanent Teeth with Apical Periodontitis: New Treatment Protocol?* *J. Endod.* 2004, 30, 196–200.

Bansal, R. (2014). *Regenerative Endodontics: A Road Less Travelled*, JOURNAL OF CLINICAL AND DIAGNOSTIC RESEARCH.

Bezgin, T. et al. (2015). *Efficacy of Platelet-rich Plasma as a Scaffold in Regenerative Endodontic Treatment*, Journal of Endodontics, 41(1), pp. 36–44.

Carmen, L. et al. (2017). *Revascularization in Immature Permanent Teeth with Necrotic Pulp and Apical Pathology: Case Series*, Case Reports in Dentistry, 2017, pp. 1–8.

Ceccarelli, G. et al. (2017). *Emerging Perspectives in Scaffold for Tissue Engineering in Oral Surgery*, Stem Cells International, 2017, pp. 1–11.

Chen, M.Y.-H. et al. (2012). *Responses of immature permanent teeth with infected necrotic pulp tissue and apical periodontitis/abscess to revascularization procedures*, International Endodontic Journal, 45(3), pp. 294–305.

Chrepa, V. et al. (2015). *Delivery of Apical Mesenchymal Stem Cells into Root Canals of Mature Teeth*, Journal of Dental Research, 94(12), pp. 1653–1659.

Ducret, M. et al. (2017). *Current challenges in human tooth revitalization*, Bio-Medical Materials and Engineering. Edited by J.-F. Stoltz, J. Magdalou, and D. Bensoussan, 28(s1), pp. S159–S168.

Duncan, H.F., Kobayashi, Y. and Shimizu, E. (2018). *Growth Factors and Cell Homing in Dental Tissue Regeneration*, Current Oral Health Reports, 5(4), pp. 276–285.

Estrada, M.M. and Álvarez López, B. (2018). *Biomateriales tissue engineering and treatment of tooth with apex unripe: revascularization*, Journal of Dental Health, Oral Disorders & Therapy, 9(6).

Fang, Y. et al. (2018). *Influence of Apical Diameter on the Outcome of Regenerative Endodontic Treatment in Teeth with Pulp Necrosis: A Review*, Journal of Endodontics, 44(3), pp. 414–431.

Feitosa, V.P. et al. (2021). *Dental Pulp Autotransplantation: A New Modality of Endodontic Regenerative Therapy—Follow-Up of 3 Clinical Cases*, Journal of Endodontics, 47(9), pp. 1402–1408.

Galler, K.M. et al. (2016). *EDTA conditioning of dentine promotes adhesion, migration and differentiation of dental pulp stem cells*, International Endodontic Journal, 49(6), pp. 581–590.

Ghivari, S., Khanchandani, D. and Jamadar, A. (2017). *Regenerative endodontic treatment for necrotic immature permanent premolar: A report of case*, Journal of the International Clinical Dental Research Organization, 9(2), p. 86.

Procedimentos Endodónticos Regenerativos: Revisão Narrativa

- Gong, T. et al. (2016). *Current Advance and Future Prospects of Tissue Engineering Approach to Dentin/Pulp Regenerative Therapy*, Stem Cells International, 2016, pp. 1–13.
- Hameed, M. et al. (2019). *Management of Immature Necrotic Permanent Teeth with Regenerative Endodontic Procedures - A Review of Literature*, Journal of the Pakistan Medical Association, (0), p. 1.
- Kahler, B., Chugal, N. and Lin, L. (2017). *Alkaline Materials and Regenerative Endodontics: A Review*, Materials, 10(12), p. 1389.
- Kahler, S.L. et al. (2018). *The Effect of Long-term Dressing with Calcium Hydroxide on the Fracture Susceptibility of Teeth*, Journal of Endodontics, 44(3), pp. 464–469. Vyas, T. (no date) ‘Stem Cell in Modern Dentistry: A Review Article’, p. 10.
- Kharchi, A.S., Tagiyeva-Milne, N. and Kanagasigam, S. (2020). *Regenerative Endodontic Procedures, Disinfectants and Outcomes: A Systematic Review*, Primary Dental Journal, 9(4), pp. 65–84.
- Kim, J. et al. (2022). *Clinical Efficacy of Sealer-based Obturation Using Calcium Silicate Sealers: A Randomized Clinical Trial*, Journal of Endodontics, 48(2), pp. 144–151.
- Kim, S.G. et al. (2018). *Regenerative endodontics: a comprehensive review*, International Endodontic Journal, 51(12), pp. 1367–1388.
- Kirchhoff, A.L. et al. (2015). *Tooth discoloration and internal bleaching after the use of triple antibiotic paste*, International Endodontic Journal, 48(12), pp. 1181–118.
- Kontakiotis, E.G. et al. (2015). *Regenerative Endodontic Therapy: A Data Analysis of Clinical Protocols*, Journal of Endodontics, 41(2), pp. 146–154.
- Krupińska, A.M., Skośkiewicz-Malinowska, K. and Staniowski, T. (2021). *Different Approaches to the Regeneration of Dental Tissues in Regenerative Endodontics*, Applied Sciences, 11(4), p. 1699.
- Levin, L.G. (2013). *Pulp and Periradicular Testing*, Journal of Endodontics, 39(3), pp. S13–S19.
- Lourenço Neto, N. et al. (2016). *Immunolocalization of dentin matrix protein-1 in human primary teeth treated with different pulp capping materials: IMMUNOLocalIZATION OF DMP-1 IN HUMAN PRIMARY MOLARS*, Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials, 104(1), pp. 165–169.
- Mason, C. and Dunnill, P. (2008). *A brief definition of regenerative medicine*, Regenerative Medicine, 3(1), pp. 1–5.
- Megha, R. et al. (2020). *Technologies of Regenerative Endodontic Therapy – A Review* Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology.
- Metlerska, J., Fagogeni, I. and Nowicka, A. (2019). *Efficacy of Autologous Platelet Concentrates in Regenerative Endodontic Treatment: A Systematic Review of Human Studies*, Journal of Endodontics, 45(1), pp. 20-30. e1.
- Moodley, D. et al. (2017). *Management of necrotic pulp of immature permanent incisor tooth: A regenerative endodontic treatment protocol: case report*, 72(3), p. 4.
- Nakashima, M. and Akamine, A. (2005). *The Application of Tissue Engineering to Regeneration of Pulp and Dentin in Endodontics*, Journal of Endodontics, 31(10), pp. 711–718.
- Nosrat, A. et al. (2013). *Is Pulp Regeneration Necessary for Root Maturation?*, Journal of Endodontics, 39(10), pp. 1291–1295.
- Palma, P.J. et al. (2019). *Does Apical Papilla Survive and Develop in Apical Periodontitis Presence after Regenerative Endodontic Procedures?*, Applied Sciences, 9(19), p. 3942.

Procedimentos Endodónticos Regenerativos: Revisão Narrativa

- Parveen, S.; Krishnakumar, K.; Sahoo, S.K.(2006). *New era in health care: Tissue engineering. J. Stem Cells Regen. Med. 1*, 8–24.
- Park, H.-B. et al. (2015). *Treatment of non-vital immature teeth with amoxicillin-containing triple antibiotic paste resulting in apexification*, *Restorative Dentistry & Endodontics*, 40(4), p. 322.
- Sachdeva, G.S. et al. (2015). *Regenerative endodontic treatment of an immature tooth with a necrotic pulp and apical periodontitis using platelet-rich plasma (PRP) and mineral trioxide aggregate (MTA): a case report*, *International Endodontic Journal*, 48(9), pp. 902–910.
- Sangappa et al. (2014). *Regenerative endodontic: current progress*, *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences*, 13(4), pp. 88–95.
- Saoud, T.M. et al. (2016). *Treatment of Mature Permanent Teeth with Necrotic Pulps and Apical Periodontitis Using Regenerative Endodontic Procedures: A Case Series*, *Journal of Endodontics*, 42(1), pp. 57–65.
- Sonoyama, W. et al. (2008). *Characterization of the Apical Papilla and Its Residing Stem Cells from Human Immature Permanent Teeth: A Pilot Study*, *Journal of Endodontics*, 34(2), pp. 166–171.
- Rodriguez, I.A. et al. (2014). *Platelet-Rich Plasma in Bone Regeneration: Engineering the Delivery for Improved Clinical Efficacy*, *BioMed Research International*, 2014, pp. 1–15.
- Ulusoy, A.T. et al. (2019). *Evaluation of Blood Clot, Platelet-rich Plasma, Platelet-rich Fibrin, and Platelet Pellet as Scaffolds in Regenerative Endodontic Treatment: A Prospective Randomized Trial*, *Journal of Endodontics*, 45(5), pp. 560–566.
- Xie, Y. et al. (2021). *Revascularisation versus apexification for treatment of immature teeth based on periapical healing and root development: A systematic review and meta-analysis*, *EUROPEAN JOURNAL OF PAEDIATRIC DENTISTRY*, 22(3), pp. 207–214.
- Xie, Z. et al. (2021). *Functional Dental Pulp Regeneration: Basic Research and Clinical Translation*, *International Journal of Molecular Sciences*, 22(16), p. 8991.
- Yuan, Z. et al. (2011). *Biomaterial Selection for Tooth Regeneration*, *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 17(5), pp. 373–388.