

Inês Aguiar Tavares Ribeiro

Panorama Atual da Endodontia Regeneradora

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2015

Inês Aguiar Tavares Ribeiro

Panorama Atual da Endodontia Regeneradora

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2015

Inês Aguiar Tavares Ribeiro

Panorama Atual da Endodontia Regeneradora

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa
como parte dos requisitos para a obtenção do grau de
Mestre em Medicina Dentária

Sumário

Introdução: O endodontista é responsável pelo diagnóstico e tratamento de patologias da polpa e deve, sempre que possível, manter a sua vitalidade. O conhecimento pulpar é essencial para o desenvolvimento de um plano de tratamento adequado. O sucesso do tratamento depende não só dos materiais e instrumentos disponíveis, como da aptidão do clínico e colaboração do paciente.

Objetivo: Recolha bibliográfica sobre o estado atual da endodontia regeneradora para dentes permanentes imaturos necrosados, abordando as principais vantagens e limitações dos procedimentos clínicos disponíveis, com ênfase nos princípios biológicos da técnica de apexificação.

Materiais e métodos: Para tal, realizou-se uma pesquisa bibliográfica nos principais motores de busca (*PubMed*, *B-On* e *Science Direct*), como também em vários livros científicos, utilizando palavras-chave como: “*Regenerative Endodontics*”, “*Treatment Outcome*” e “*Stem Cells*”, que foram associadas de várias formas. Desta pesquisa, efetuada entre Março e Junho de 2015, foram escolhidos 57 artigos em inglês, dos quais foram utilizados 38. Além dos artigos, foram analisados cerca de 10 livros, dos quais foram utilizados 5.

Resultados: Vários fatores, como o tipo de caso, prática do clínico e disponibilidade de instrumentos e materiais, fazem variar as taxas de sucesso das terapias endodônticas. Normalmente, os tratamentos são eficientes no que concerne à eliminação da dor e controlo de infeção.

Conclusões: Esta nova técnica aparenta vir a ser uma boa ferramenta clínica e antevê-se uma potencial opção com perspectivas promissoras. No entanto, conclui-se que mais estudos clínicos deverão ser efetuados, com vista a proporcionar um melhor entendimento sobre este tipo de terapia, para assim se desenvolverem métodos que consigam ultrapassar as presentes dificuldades, que tornam a Endodontia Regeneradora tão controversa e imprevisível.

Abstract

Introduction: The endodontist is responsible for the diagnosis and treatment of the dental pulp related pathologies and he must, whenever possible, keep its vitality. The learning of the pulp is essential for the development of an adequate treatment. Its success relies upon both the treatment and available tools, and the practitioner's aptitude combined with the patient collaboration.

Objective: Bibliographic research and collection about the present state of regenerative endodontics for permanent necrotic immature teeth, addressing its main advantages and the available clinical procedures limitations, emphasizing the biological principles of the apexification technics.

Materials and methods: In order to do so, a bibliographic research was made with the help of the main web search engines (PubMed, B-on and Science Direct), and in various scientific books as well, using key-words such as: "Regenerative Endodontics", "Treatment Outcome" and "Stem Cells" which were assembled in several ways. From this research, conducted between March and June of 2015, 57 articles in English were chosen of which 38 were used. In addition to that, about 10 books were analyzed of which 5 were used.

Results: Various factors such as the type of case, the practitioner's experience and the availability of tools and materials, result in the variation of the success rates of the endodontic therapies. Ordinarily the treatments are effective concerning pain elimination and infection control.

Conclusions: This new technique could become a valuable clinical tool, as it is an option which has bright future perspectives. However, in conclusion more clinical studies should be accomplished in order to clearer understand this kind of therapy and so that the methods which can surpass the current difficulties can be developed, since these problems make Regenerative Endodontics quite controversial and unpredictable.

Dedicatória

“É na educação dos filhos que se revelam as virtudes dos pais.”

Coelho Neto

Aos meus pais.

Agradecimentos

Aos meus pais, por serem o meu apoio e incentivo nas horas difíceis, de desânimo e de cansaço. Pelo amor incondicional e pela transmissão de valores e educação, que fizeram de mim quem sou hoje.

À minha família, pelo amor e carinho, em todas as horas, e por nunca me deixarem desistir.

Aos meus amigos, pelas alegrias, tristezas e dores compartilhadas.

À Universidade e corpo docente, por contribuírem para a realização deste objetivo, em especial ao meu orientador, Dr. Luís França Martins, pelo empenho, dedicação e profissionalismo.

Ao meu namorado, pelo incentivo, por nunca duvidar, pela confiança e, acima de tudo, pela paciência.

A todos que, de uma maneira ou outra, fizeram parte do meu percurso académico.

Índice Geral

Índice de Figuras.....	i
Índice de Siglas e Abreviaturas.....	ii
I – Introdução.....	1
II – Desenvolvimento.....	2
1 – Materiais e métodos.....	2
2 – Panorama Atual da Endodontia Regeneradora.....	2
2.1 – Perspetiva Histórica.....	2
2.2 – Atualidade Clínica.....	4
2.3 – Introdução do conceito de Endodontia Regeneradora.....	6
3 – Fundamentos Biológicos.....	12
3.1 – Considerações Anatomofisiológicas.....	12
3.2 – Capacidade Inata Reparadora da Polpa.....	22
4 – Abordagem Clínica.....	25
4.1 – Considerações a ter antes e durante o tratamento.....	25
4.2 – Desinfecção Canalar.....	30
4.3 – Medicação Intracanal.....	32
4.4 – Protocolo Clínico.....	37
III – Conclusão.....	40
IV – Bibliografia.....	41

Índice de Figuras

Figura 1 – Regiões anatómicas pulpares.....	5
Figura 2 – Processo de seleção de um caso clínico para procedimento endodôntico regenerador.....	9
Figura 3 – Processo de angiogênese.....	15
Figura 4 – Principais componentes da Engenharia Tecidual.....	17
Figura 5 – Potenciais fontes de células estaminais pós-natais na cavidade oral.....	18
Figura 6 – Contraste entre polpa normal e polpa afetada.....	23
Figura 7 – Exemplo de revascularização com hidróxido de cálcio.....	36
Figura 8 – Exemplo de revascularização com MTA.....	37
Figura 9 – Exemplo de um protocolo de revascularização.....	38

Índice de Siglas e Abreviaturas

AAE	American Association of Endodontics
ADA	American Dental Association
Ca(OH) ₂	Hidróxido de Cálcio
CHX	Clorhexidina
CT	Comprimento de trabalho
EDTA	Ácido Etilenodiamido Tetra-Acético
MTA	Agregado Trióxido Mineral
NaClO	Hipoclorito de Sódio
PRP	Plasma Rico em Plaquetas
TAP	Pasta Antibiótica Tripla

I – Introdução

O endodontista é responsável pelo diagnóstico e tratamento de patologias pulpares e deve, sempre que possível, manter a sua vitalidade (Simon, 2014). O conhecimento pulpar é essencial para o desenvolvimento de um plano de tratamento adequado. O sucesso do tratamento depende não só dos materiais e instrumentos disponíveis, como da aptidão do clínico e colaboração do paciente (Kim *et al.*, 2012).

Perante um caso de necrose pulpar, em ápices maduros, o tratamento endodôntico convencional tem sido escolhido como primeira opção terapêutica. Já nos casos de necrose em ápices imaturos, a apexificação é que tem prevalecido. No entanto, a longevidade dentária é beneficiada pela vitalidade pulpar (Diogenes *et al.*, 2014).

Face a esta certeza, nos últimos anos, as terapias endodônticas regeneradoras têm emergido como nova opção de tratamento. Este campo tem avançado rapidamente e baseia-se, essencialmente, nos princípios da engenharia tecidual. Inclui a revascularização canalar, associada a matrizes, células estaminais e fatores de crescimento (Diogenes *et al.*, 2014).

O principal objetivo desta revisão é abordar o estado atual da endodontia regeneradora para dentes permanentes imaturos necrosados, abordando as principais vantagens e limitações dos procedimentos clínicos disponíveis, com ênfase nos princípios biológicos da técnica de apexificação (Hargreaves, 2011).

A pesquisa bibliográfica foi realizada a partir de conhecidos motores de busca e recorrendo a livros científicos, entre Março e Junho de 2015.

II – Desenvolvimento

1 – Materiais e métodos

A revisão bibliográfica foi realizada com base em artigos científicos publicados, maioritariamente, nos últimos 5 anos, nos motores de busca *PubMed*, *B-On* e *Science Direct* e, ainda, para complementar, foram consultados alguns livros científicos.

A pesquisa eletrónica foi cumprida recorrendo a palavras-chave como: “*Regenerative Endodontics*”, “*Treatment Outcome*” e “*Stem Cells*”.

Desta pesquisa, foram escolhidos 57 artigos em inglês, dos quais foram utilizados 38. Além dos artigos, foram analisados cerca de 10 livros, dos quais foram utilizados 5.

Os critérios de inclusão abrangeram bibliografia em inglês e português, maioritariamente publicada entre 2011 e 2015.

2 – Panorama Atual da Endodontia Regeneradora

2.1 – Perspetiva Histórica

A Endodontia é definida como a especialidade dentária que trata o trauma e infeções que envolvem a polpa dentária e dentina, assim como as lesões periapicais. Apenas nos Estados Unidos da América, todos os anos, são realizados cerca de 16 milhões de procedimentos endodônticos, sendo o mais comum o tratamento dos canais radiculares, que envolve a extirpação da polpa dentária afetada e preenchimento do canal e câmara pulpar com materiais bioinertes. Dependendo do caso, prática do clínico e disponibilidade de instrumentos e materiais, as taxas de sucesso das terapias endodônticas variam. Normalmente, os tratamentos são eficientes no que concerne à eliminação da dor e controlo de infeção. Desta forma, qual o porquê da Endodontia Regeneradora (Kim *et al.*, 2012)?

A American Association of Endodontics (AAE) merece crédito pela sua visão sobre a Endodontia Regeneradora. Contudo, após 16 anos da introdução do conceito na profissão, existe uma certa frustração no sentido de que a Endodontia Regeneradora surja como um exercício científico, em vez de uma realidade clínica. O professor Spångberg, em “*The Emperor’s new cloth*”, abordou a revascularização pulpar, através da indução do sangramento ou utilização de pasta antibiótica tripla (TAP), como equivalente à regeneração pulpar. “*The wrong emperor*”, do professor Kenneth Hargreaves e Dr. Alan Law declara que a revascularização pulpar da literatura clássica não utiliza os princípios da engenharia tecidual, nomeadamente células estaminais, matrizes e fatores de crescimento (Kim *et al.*, 2012).

Esta terapia, como todas as outras, apresenta fracassos. Reinfeções e fraturas dentárias são algumas das indesejadas e frustrantes complicações, tanto para o paciente, como para o médico dentista. Em janeiro de 2011, a American Dental Association (ADA), adotou um novo código de procedimento que consiste na indução de sangramento apical no sistema de canais, em dentes permanentes jovens, com polpa necrosada, que foi previamente retirada. A Endodontia Regeneradora foi proposta como uma alternativa ao tratamento endodôntico convencional (Kim *et al.*, 2012).

Na sociedade atual, a primordialidade de manutenção da saúde, incluindo a saúde oral, enfatiza a importância da preservação dentária para atingir uma ótima qualidade de vida (Nakashima, 2014). O tratamento de dentes imaturos permanentes contaminados parece ser um dos procedimentos mais desafiadores da área endodôntica (Alobaid *et al.*, 2014), visto que está repleto de desafios (Diogenes *et al.*, 2014). Estes dentes apresentam, normalmente, canais muito largos com ápice aberto, o que constitui um inconveniente para os clínicos, quer a nível da instrumentação e determinação do comprimento de trabalho (CT), quer a nível do controlo de substâncias irrigadoras, materiais de obturação e selamento apical. Além disso, os dentes imaturos estão mais sujeitos à fratura (Alobaid *et al.*, 2014), dependendo do grau de maturação radicular (Fouad, 2014).

2.2 – Atualidade Clínica

As terapias da polpa vital (por exemplo, a apicogênese ou proteção pulpar direta), nestes dentes, fornecem resultados favoráveis a longo prazo, já, em casos de polpa necrótica e periodontite apical, o prognóstico é muito menos previsível. Tradicionalmente, dentes imaturos necrosados têm sido tratados através de apexificação e apicogênese, tratamentos estes que fornecem pouco ou nenhum benefício na promoção da continuação do desenvolvimento radicular. A Endodontia Regeneradora tem emergido como uma importante alternativa ao tratamento de dentes com prognóstico questionável, resultado da sua fragilidade dentinária e escassa imunocompetência (Diogenes *et al.*, 2014).

O tratamento habitual é feito, então, através da aplicação intracanal de hidróxido de cálcio (Ca(OH)_2) até à formação de uma barreira calcificada, seguida da obturação do sistema da canais radiculares. Este procedimento foi, posteriormente, modificado, para incluir a colocação de uma barreira apical artificial (“*plug*”) de Agregado Trióxido Mineral (MTA), colmatando num menor número de consultas e resultados mais satisfatórios (Althumairy, 2014). Contudo, estes procedimentos apenas resultam no tratamento dos sinais e sintomas, com pouco ou nenhum benefício para a continuação do desenvolvimento radicular (Diogenes *et al.*, 2014), restaurando, simplesmente, a integridade estrutural, função e estética dentária (Schmalz, 2014).

Nos últimos 10 anos, vários estudos têm sido publicados com a descrição de um novo protocolo de revascularização e regeneração endodôntica, que suscita a continuação do desenvolvimento radicular e resposta positiva a testes de sensibilidade pulpar nos dentes imaturos (Althumairy, 2014). Os objetivos passam também pelo ganho de imunocompetência e nociceção normal, assim como pela regeneração do complexo dentino-pulpar (Diogenes *et al.*, 2014). Porém, devido à carência de evidências a longo prazo que suportem a terapia regeneradora, esta metodologia só é realizada quando a obturação canal, apexogênese, apexificação e pulpotomia parcial já foram ponderadas e demonstram mau prognóstico (DClinDent *et al.*, 2014), apesar destas últimas não promoverem a vitalidade biológica dos tecidos (Schmalz, 2014).

Segundo Hargreaves (2011), a polpa dentária parece ser um tecido fácil de regenerar, devido ao seu volume relativamente pequeno (Hargreaves, 2011; Simon, 2014) e à sua arquitetura simplista, semelhante a um núcleo de tecido conjuntivo frouxo, rodeado por uma camada de odontoblastos unidos à dentina (Hargreaves, 2011). Infelizmente, não é isso que acontece. A polpa não deixa de ser um complexo de tecido conjuntivo especializado (Simon, 2014) e a sua impressionante capacidade de regeneração está associada ao facto de este ser altamente vascularizado (Saghiri *et al.*, 2015). A polpa apresenta múltiplas funções na manutenção da homeostasia dentária e a preservação da sua função é crítica para a longevidade do dente (Nakashima, 2014). Além disso, a presença de tecido pulpar, em qualquer dente, é preferível, em termos biológicos, a qualquer outro material obturador, pois pode restaurar a resposta imune do hospedeiro para a polpa e regenerar dentina coronal (Fouad, 2014).

Assim, a Endodontia Regeneradora deve considerar duas identidades: a primeira é o complexo dentino-pulpar (também conhecido como complexo regenerado dentina/odontoblasto), que se direciona à preservação da vitalidade pulpar e proteção pulpar direta, e a segunda é a regeneração pulpar, que se foca na regeneração do tecido pulpar vital num canal vazia mas infetado (Simon, 2014).

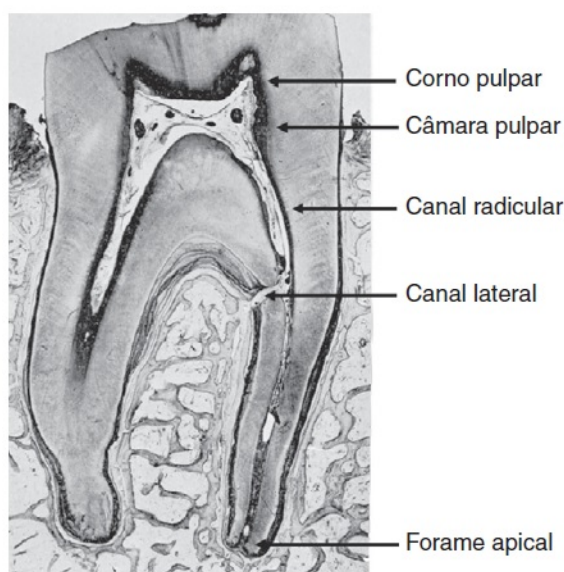


Figura 1 – Regiões anatômicas pulpares (adaptado de Torabinejad, 2010).

Estudos prévios de revascularização pulpar beneficiam a regeneração endodôntica. A revascularização pode ser realizada em dentes imaturos com forâmen de mais de 1mm de diâmetro. Assim, em 1966, Rule e Winter apresentaram um caso de continuação de formação radicular e fechamento apical de um pré-molar mandibular imaturo, após sangramento pulpar. O canal foi mecanicamente instrumentado e revestido com poliantibióticos, seguidos de uma colocação absorvível de iodofórmio (Kim *et al.*, 2012).

2.3 – Introdução do conceito de Endodontia Regeneradora

A Endodontia Regeneradora, cada vez mais, chama a atenção de clínicos e investigadores (Hargreaves, 2014) que objetivam a regeneração da função e da saúde do complexo dentino-pulpar (Hargreaves, 2011). A proteção pulpar direta e indução da formação de ponte de dentina já são usadas há mais de 70 anos, com o primeiro estudo a ser publicado por Zander em 1939. Se as condições ambientais forem as mais indicadas, os resultados clínicos são visíveis e tendem a motivar o clínico a manter a vitalidade pulpar o maior período de tempo possível, devido às vantagens que isto pode trazer em termos de prolongamento do tempo de vida do dente (Simon, 2014).

O conceito de Endodontia Regeneradora foi introduzido nos anos 70 por Nygaard-Ostby e Hjortdal, que apuraram o crescimento de novo tecido dentro de canais radiculares, após provocarem sangramento intracanal. Contudo, só a partir do início do ano 2000, é que foi dada substancial relevância a estas terapias, com maior incidência de estudos publicados nos últimos 3 anos (Kontakiotis *et al.*, 2015).

Nevin *et al.* mostrou um caso de sucesso de maturação radicular através da introdução de um gel de colagénio de fosfato de cálcio no ápice de um incisivo lateral maxilar intruído, após desbridamento canal (Kim *et al.*, 2012). O primeiro caso de revascularização de um dente permanente imaturo com polpa necrosada e periodontite apical foi publicado em 2001, resultando na parcial restauração das propriedades funcionais do dente envolvido (Kontakiotis, 2014) e reportado por Iwaya *et al.* (Saoud *et al.*, 2014). O dente em questão era um pré-molar mandibular, com fratura tubercular, necrosado e imaturo, pertencente a um paciente de 13 anos (Kim *et al.*, 2012).

Um caso similar foi reportado por Banchs e Trope, num paciente de 11 anos. O canal foi irrigado com hipoclorito de sódio (NaClO) a 5,25% e peridex, sem desbridamento mecânico. Foi colocada TAP dentro do canal, durante 1 mês, posteriormente removida, antes da indução do sangramento com uma sonda endodôntica. MTA foi colocado a cerca de 3mm abaixo da junção amelo-cementária e por cima do coágulo sanguíneo. O dente mostrou respostas ao frio num follow-up de 2 anos e continuação da formação radicular (Kim *et al.*, 2012).

Torabinejad e Turman relataram um caso de revascularização pulpar, usando plasma rico em plaquetas (PRP) num pré-molar maxilar acidentalmente extraído, reimplantado, imaturo e necrosado. A polpa necrótica foi extraída e o canal irrigado com NaClO a 5,25%. A TAP permaneceu no canal por 22 dias. O PRP preparado a partir do sangue do paciente foi injetado no espaço canal, posteriormente selado com cavit e amálgama, após o MTA ter sido colocado em cima do coágulo de PRP. Um follow-up de 5-6 meses demonstrou uma continuação da maturação radicular e espessamento do canal, observado radiograficamente, acompanhado de uma resposta positiva aos testes de vitalidade (Kim *et al.*, 2012).

Sumariamente, casos clínicos isolados têm mostrado resultados palpáveis de revascularização e algum nível de desenvolvimento dentinário e radicular em dentes imaturos e permanentes, após sangramento pulpar ou aplicação de PRP. Os resultados têm sido variáveis, dependendo de múltiplos fatores, como as respostas intrínsecas do paciente, severidade da patologia e aptidão do clínico (Kim *et al.*, 2012).

Em 2007, surge, então, um comité permanente de Endodontia Regeneradora, formado pela AAE (Hargreaves, 2014). Os procedimentos regeneradores começam a destacar-se como um campo essencial e de evolução do tratamento dentário (Hargreaves, 2011) e em 2004, a TAP foi usada pela primeira vez, apesar do uso de antibióticos na Endodontia Regeneradora já estar documentando décadas antes do primeiro caso de revascularização (Diogenes *et al.*, 2014). Clinicamente, o objetivo deste tratamento é manter a vitalidade pulpar, assim como a função de homeostasia, evitando a exodontia ou pulpectomia. O sucesso assenta nos sintomas reportados pelos pacientes, assim como nos resultados de testes elétricos, térmicos, de precursão e radiográficos. Os resultados clínicos e sintomas

podem não estar correlacionados com o real estado histológico do dente (Simon, 2014). Por vezes, os resultados dos testes de sensibilidade ao frio ou elétricos são difíceis de interpretar no sentido de diagnosticar a vitalidade pulpar, visto que podem existir diversos graus de necrose e inflamação num dente com vários canais (Murray, 2015).

Em 2011, um estudo demonstrou um número substancial de células mesenquimais indiferenciadas presentes nos canais radiculares após tratamento regenerador. Esta descoberta representou um ponto de viragem, visto que os protocolos prévios ao estudo ambicionavam a máxima desinfeção sem ter em conta o impacto nas células estaminais. Os tratamentos regeneradores contemporâneos e princípios da bioengenharia centram-se na interação da matriz com células estaminais e fatores de crescimento (Diogenes *et al.*, 2014).

A Endodontia Regeneradora centra-se na restituição das estruturas e funções do complexo dentina/polpa, em casos de dentes imaturos jovens permanentes (Aksel, 2014), assim como das suas estruturas de suporte (Hargreaves, 2011). O seu primeiro objetivo passa pelo tratamento da periodontite apical, seguido do aumento da espessura e comprimento da raiz e, por último, pela recuperação de uma resposta positiva a testes pulpares (Kontakiotis *et al.*, 2015). A manutenção da saúde pulpar, nos casos de inflamação, e a regeneração pulpar, na necrose, são condições excelentes para alcançar tais finalidades (Hargreaves, 2011). No entanto, apesar de desejáveis, o segundo e terceiro objetivos não são essenciais para determinar o sucesso do tratamento endodôntico regenerador (Hargreaves, 2014).

Devido aos seus baixos níveis de evidência, os procedimentos de Endodontia Regeneradora devem apenas ser utilizados quando outro tipo de abordagem seja contraindicada, como, por exemplo, a extração e colocação de implantes dentários em crianças, que não completaram o seu crescimento craniofacial (Hargreaves, 2014).

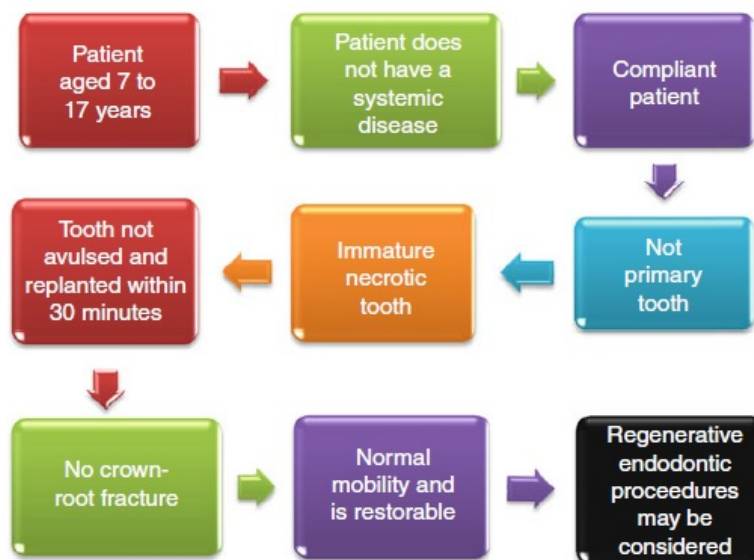


Figura 2 – Processo de seleção de um caso clínico para procedimento endodôntico regenerador (adaptado de Murray, 2015).

Numa abordagem endodôntica regeneradora são considerados dois conceitos essenciais: revascularização e regeneração do complexo dentina/polpa (Aksel, 2014). Comumente, a revascularização pulpar tem sido definida como a reintrodução de vascularização no sistema de canais radiculares, enquanto a regeneração ainda não foi concretamente definida, sendo um conceito ligeiramente vago (Kim *et al.*, 2012).

No âmbito do paradigma da revascularização, o dente imaturo necrosado deve ser desinfetado e instrumentado para além do ápice, de forma a permitir o sangramento intracanal. O resultado deste procedimento culmina na formação de tecido vascularizado subsequente ao coágulo sanguíneo (Hargreaves, 2014).

No entanto, não existem evidências de odontoblastos presentes no mesmo, não estando, então, identificadas condições suficientes para uma verdadeira regeneração do complexo dentino-pulpar (Hargreaves, 2014), mas sim, formação de tecido mais similar a ligamento periodontal do que a tecido pulpar (Alobaid *et al.*, 2014).

Por outro lado, o paradigma da regeneração endodôntica é baseado nos conceitos da engenharia tecidual (Aksel, 2014). Os protocolos clínicos incluem o envolvimento de células estaminais, fatores de crescimento e matrizes (Aksel, 2014). Desta forma, assiste-se a uma mútua do paradigma da revascularização e a uma ascensão do paradigma da

regeneração (Hargreaves, 2014), embora a revascularização seja um tratamento alternativo facilmente aceite (Saoud *et al.*, 2014).

A regeneração pulpar não pode ocorrer sem revascularização ou angiogénese, mas a revascularização indica a restauração da vascularização, sem, necessariamente, a reposição de odontoblastos na superfície dentinária. No entanto, as células sanguíneas são indispensáveis constituintes pulpares, o que faz com que a regeneração pulpar não esteja completa sem a presença de odontoblastos na superfície da dentina, sem nocicepção, sem fibras nervosas simpáticas e parassimpáticas e, fundamentalmente, sem células estaminais para repor todas as células pulpares na polpa regenerada, quando estas sofrem apoptose (Kim *et al.*, 2012).

Então, os resultados ideais, esperados de um tratamento endodôntico regenerador são a regeneração histológica do complexo dentina/polpa, a continuação do desenvolvimento da raiz, ausência de sinais e sintomas de infeção e, por último, a satisfação do paciente (Hargreaves, 2014).

A terapia celular para doenças incuráveis, como Parkinson, diabetes ou patologias da medula podem ser bem aceites, apesar dos riscos e custo elevado, mas quando se trata de uma terapia dentária, as coisas podem não ser bem assim (Kim *et al.*, 2014).

Clínicos e investigadores dedicam-se, há mais de 100 anos, a uma adequada desinfeção para prevenir e tratar a periodontite apical (Diogenes *et al.*, 2014). A recente adoção da ADA de induzir o sangramento pulpar em dentes imaturos permanentes é um passo muito importante para a Endodontia Regeneradora (Kim *et al.*, 2014), que tem nisto o seu foco principal, centrando-se nos princípios da bioengenharia para promover a normal fisiologia e continuação da formação radicular. Tem demonstrado taxas elevadas de sucesso no controlo de infeção e promoção do desenvolvimento e nocicepção da raiz. A escolha dos irrigantes e da medicação intracanal deve ser feita baseada na sua eficácia antimicrobiana e no mínimo prejuízo para as células estaminais e fatores de crescimento presentes no microambiente (Diogenes *et al.*, 2014).

Contudo, não existe uma terapia regeneradora para a maioria das doenças endodônticas. As células estaminais pulpares podem não estar sempre disponíveis no paciente que necessita do tratamento regenerador. Os recentes estudos que utilizam biomateriais, nomeadamente, fatores de crescimento e matrizes, podem acelerar a tradução clínica. Fornecendo as funções e a escala da polpa dentária e da dentina, a Endodontia Regeneradora está pronta para se tornar uma das primeiras soluções biológicas na Medicina Dentária Regeneradora (Kim *et al.*, 2014).

A Endodontia Regeneradora tem estado apenas focada no tratamento de dentes imaturos, mas é importante a sua extensão a dentes maduros, visto que as suas vantagens são enormes. A reconstituição do sistema neurovascular nos canais radiculares irá promover tecidos pulpares com sistema imune, funcionando como primeira defesa contra desafios microbianos. O ganho de função nervosa irá estimular um sistema de “alarme” durante ataques ao tecido pulpar e proteção contra futuros eventos. No entanto, nestes dentes, maiores desafios são encontrados, devido à presença em menor quantidade de células estaminais, vias apicais de migração celular mais estreitas e maiores dificuldades de desinfecção canal. Não nos podemos esquecer, ainda, que os dentes maduros possuem uma anatomia mais complexa, comparados com os dentes imaturos (Paryani, 2013).

Num futuro próximo, bancos de células estaminais serão um pré-requisito essencial para o tratamento endodôntico. O isolamento e criopreservação das células estaminais da polpa dentária são necessários para a Endodontia Regeneradora, fazendo com que o transporte das mesmas se realize de forma segura e em condições estáveis que permitam o uso clínico. Por último, estas células podem ser usadas no tratamento de outras doenças, de todas as áreas médicas. Pode ser possível regenerar o complexo dentino-pulpar com o aproveitamento das células estaminais, no entanto, ainda existem muitos desafios para ultrapassar (Nakashima, 2014).

3 – Fundamentos Biológicos

3.1 – Considerações Anatomofisiológicas

A polpa dentária pode ser definida como um único e complexo tecido de suporte de dentina que providencia a componente estrutural do órgão dentário. É composta por colagénio tipo I e tipo III e uma variedade de proteínas desprovidas de colagénio. Existe uma larga variedade de células na polpa, incluindo células imunológicas, fibroblastos, células progenitoras mesenquimais, células vasculares e células nervosas. A câmara pulpar é forrada por odontoblastos colunares que possuem projeções celulares, diretamente responsáveis pela manutenção da matriz de dentina (Colombo *et al.*, 2014).

Os fibroblastos são as células mais abundantes da polpa e mantêm a matriz de colagénio do tecido pulpar. A incursão microbiana é combatida pelos macrófagos. Existe uma rede de vasos sanguíneos que rodeiam a polpa dentária, permitindo o suporte respiratório e a inervação do tecido. Este complexo dinâmico é preservado num delicado balanço, com os odontoblastos a manterem os tecidos mineralizados e os outros tipos de células a suportarem a atividades dos mesmos (Colombo *et al.*, 2014).

A sua regeneração pode ser definida como a inervação, revascularização e restauração da camada de odontoblastos, que reveste a superfície da dentina (Paryani, 2013), e um novo tipo de tecido substitui o afetado. É fundamental mencionar o conflito existente entre os conceitos de “regeneração” e “revascularização”. Tendo em conta que o tecido novo e o tecido afetado, histologicamente, não são iguais, alguns autores afirmam que o termo “regeneração” se encontra mal aplicado, apesar da função de ambos ser idêntica (Andreasen, 2012). A polpa exhibe capacidade de iniciar mecanismos de defesa contra invasão bacteriana (Koyuncuoglu *et al.*, 2013).

A polpa dentária é um tecido mesenquimal altamente especializado, caracterizado pela presença de odontoblastos e pelo facto de ser revestido por tecido rígido mineralizado. Traumas pulpares, quer sejam mecânicos, químicos, térmicos ou microbianos, desencadeiam respostas inflamatórias, que envolvem o complexo vascular e linfático, assim como reações tecidulares locais. Se boas condições ambientais estiverem reunidas,

os odontoblastos elaboram dentina terciária (reparadora), menos organizada e mineralizada, quando comparada a dentina secundária ou primária. A nova dentina protege a polpa das bactérias e seus produtos (Demarco *et al.*, 2011).

A dentina apresenta uma estrutura tubular que se mantém em relação íntima com o tecido pulpar, através dos processos odontoblásticos. Quando o dente sofre alguma agressão, seja cárie severa, trauma ou preparação cavitária profunda, os odontoblastos sucumbem, podendo originar estados de pulpíte irreversível ou necrose. Normalmente, a terapia endodôntica convencional é a indicada nestes casos. Contudo, o tratamento tradicional é prejudicial em casos de pacientes jovens, com dentes imaturos (Demarco *et al.*, 2011).

A dentição que se encontra em desenvolvimento está em risco de necrose pulpar, devido a trauma e anomalias de desenvolvimento, como dentes invaginados. A perda de um dente imaturo permanente, num paciente jovem, com dentição mista, pode ser devastadora, a nível funcional, oclusal e em termos de desenvolvimento maxilofacial (Diogenes *et al.*, 2014), daí a importância de perceber o normal desenvolvimento tecidual para a promoção de uma correta estratégia de Endodontia Regeneradora (Schmalz, 2014).

A necrose pulpar em dentes permanentes mas imaturos é um desafio clínico, devido às suas finas e curtas raízes, que elevam o risco de fratura. O desejo do tratamento regenerador é tratar a periodontite apical, promover o desenvolvimento radicular e restaurar a função do tecido pulpar. A revascularização clássica, procedimento de, simplesmente, reimplantar um dente avulsionado, não repõe os objetivos supracitados do tratamento regenerador. O diâmetro da abertura apical (superior a 1mm), o tempo extra oral (menor que 45 minutos) e a arcada (mandibular) são fatores que auxiliam o sucesso do reimplante (Hargreaves, 2013).

O osso encontra-se a ser, constantemente, remodelado e o novo tecido gerado é repostado em poucos meses. Significa que, gradualmente, novo tecido irá emergir, com o antigo por baixo, a alturas diferentes, o que fará com que, a certo ponto, exista homogeneidade entre o antigo e o novo tecido. A remodelação dentinária, por outro lado, não ocorre, logo, o tecido nunca será substituído. Histologicamente falando, a dentina terciária que surge é similar à secundária, mas, verdadeiramente, não é a mesma e, por isso, não existe uma

formação contínua. Células denominadas com o prefixo “tipo” (por exemplo, células tipo-odontoblasto ou células tipo-osteoblasto) permitem a distinção entre o tecido normal e o tecido alterado, sugerindo um reparo tecidular, em vez de uma regeneração (Simon, 2014).

O primeiro objetivo do tratamento endodôntico, num dente infetado, é desinfetar o sistema de canais radiculares e o segundo objetivo é prevenir a reinfeção. Ambos são necessários para o sucesso da terapia do tecido perirradicular. A utilização de material biológico para preencher o espaço canal evita desvantagens do material sintético, como a toxicidade, e incentiva à imunocompetência, permitindo a defesa normal da polpa a bactérias (Simon, 2014). A polpa dentária apresenta capacidade limitada de regeneração e ocorre uma relação ambígua: a inflamação pode prejudicar ou favorecer a regeneração pulpar (Hui *et al.*, 2014).

Há cerca de 50 anos, baseado no estudo da importância da formação do coágulo sanguíneo no processo de cicatrização, Nygaard-Ostby avaliou a possibilidade de regeneração do tecido pulpar do sistema de canais radiculares, por intermédio da laceração do tecido periapical com uma lima endodôntica (Hargreaves, 2011). Os componentes chave incluem a desinfecção dos canais e introdução posterior de células estaminais e fatores de crescimento, associados a uma matriz, recorrendo a métodos minimamente tóxicos para as células estaminais (Berkhoff *et al.*, 2014). O sucesso da terapia regeneradora passa pela cura da periodontite apical, espessamento e alongamento das paredes radiculares e, por último, pela recuperação de uma resposta positiva aos testes de sensibilidade (Kontakiotis *et al.*, 2015).

A angiogénese refere-se ao processo de formação de novos vasos sanguíneos, a partir de capilares pré-existentes. Este processo apresenta uma enorme importância na regeneração pulpar e manutenção da homeostasia (Saghiri *et al.*, 2015).

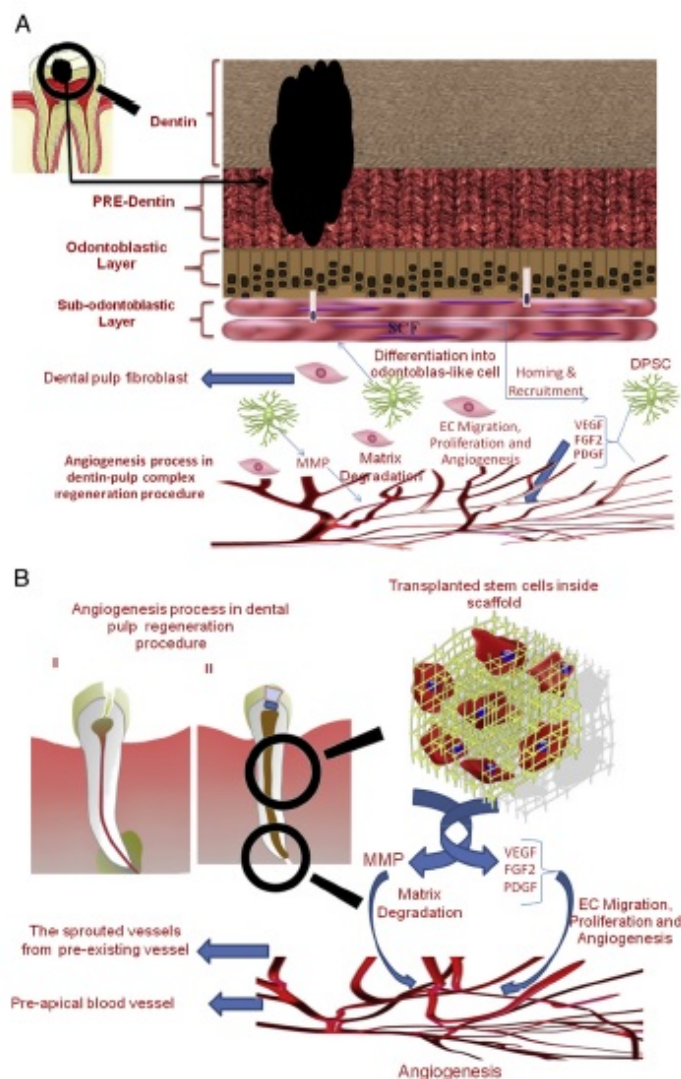


Figura 3 - Processo de angiogênese (adaptado de Saghiri, 2015).

A regeneração pulpar inclui o isolamento, propagação e reimplantação de células estaminais dentro do canal radicular, o que faz com que a angiogênese seja indispensável para que esta se verifique, sendo a responsável por restabelecer o suporte sanguíneo ao complexo dentino-pulpar, o que permite a troca de oxigênio, nutrientes e células estaminais pré-vasculares, que são imprescindíveis ao processo (Saghiri *et al.*, 2015). A inervação e vascularização da polpa dentária estão intimamente relacionadas com a homeostasia, angiogênese, vasculogênese e neurogênese, essenciais para a regeneração pulpar (Nakashima, 2014).

A engenharia tecidual pode ser definida como uma emergente ciência interdisciplinar, cujo objetivo passa pelo desenvolvimento de estratégias de regeneração de órgãos ou

tecidos danificados (Demarco *et al.*, 2011). Foca-se na regeneração, em vez do reparo. O reparo tecidual é definido como o desenvolvimento de um tecido de substituição (como por exemplo, tecido cicatricial) sem restauração da função, ao contrário da regeneração tecidual, que engloba a formação de novo tecido que reproduz a anatomia e função do tecido original (Hargreaves, 2013). Os tecidos periapicais dos dentes imaturos são ricos em células estaminais que têm potencial de regeneração tecidual, mas é mandatório a erradicação de bactérias do espaço canal, para o sucesso do tratamento (Nagy *et al.*, 2014).

Tem sido sugerido que os agentes de proteção pulpar direta induzem a irritação tecidual. Esta reação inflamatória inicial surge do contato da polpa dentária com o biomaterial, induzindo o processo de mineralização e reparação, sendo este procedimento apontado como uma situação de reparo, em vez de regeneração do complexo dentino-pulpar (Simon, 2014). Estas abordagens, de reparo e regeneração, dependem dos princípios básicos da engenharia tecidual, nomeadamente da interação entre fatores de crescimento/matrizes e células estaminais (Schmalz, 2014).

Resumidamente, as células estaminais são células indiferenciadas com diversos graus de potência e plasticidade, capazes de se auto-renovar e diferenciar em várias linhagens. As matrizes funcionam como quadros, por período de tempo limitados. São elas que providenciam um ambiente que permita a diferenciação e proliferação celular. As matrizes de origem natural apresentam maior biocompatibilidade, enquanto que as matrizes de origem sintética permitem o controlo das suas propriedades físicas e químicas, como, por exemplo, o grau de degradação, microestrutura e força mecânica. Os fatores de crescimento atuam como estimuladores ou inibidores. Podem estar ativos mesmo em concentrações muito baixas e controlam as interações epitélio-mesenquimais, que regulam a diferenciação e função das células responsáveis pela criação de tecidos dentários (Demarco *et al.*, 2011).

Portanto, a tríade da engenharia tecidual requer uma interação entre células estaminais e fatores de crescimento, numa matriz bioativa reabsorvível (Fouad, 2014).

O primeiro elemento da engenharia tecidual são, então, as células estaminais. As células estaminais podem ser encontradas na polpa dentária, papila apical e até mesmo no tecido periapical inflamado (Hargreaves, 2013). Estas possuem capacidade de proliferação e diferenciação (Nagy *et al.*, 2014) e são fundamentais para perceber todo o processo envolvido na engenharia (Simon, 2014).

O segundo elemento em que a engenharia tecidual se foca são os fatores de crescimento. Apesar das células estaminais terem capacidade de ser diferenciadas, o simples fato de se lacerar a papila apical pode não ser suficiente para guiar a diferenciação para células do complexo dentino-pulpar. Os fatores de crescimento são importantes adjuntos do processo (Hargreaves, 2013), visto que controlam a morfogênese e diferenciação (Nagy *et al.*, 2014).

Por último, o terceiro elemento a considerar é a matriz, que pode ser endógena ou sintética (Hargreaves, 2013), e suporta a integridade do tecido regenerado (Nagy *et al.*, 2014). As células estaminais podem ser colocadas no interior do canal através da desorganização dos tecidos da papila apical, com recurso a uma lima endodôntica, que provoca a formação de um coágulo sanguíneo (Simon, 2014).

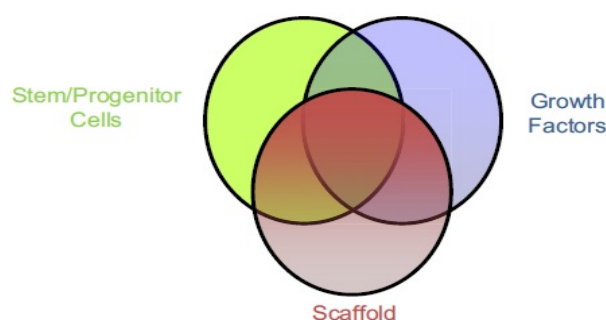


Figura 4 - Principais componentes da engenharia tecidual (adaptado de Hargreaves *et al.*, 2013).

As células estaminais mesenquimais são uma população heterogênea e o seu perfil molecular é muito dinâmico devido à sua habilidade de expressar uma enorme abundância de marcadores, dependendo da sua ativação, diferenciação ou passagem (Ruparel *et al.*, 2013). As várias populações de células estaminais pulpares, como células pulpares, células da papila apical e células de dentes decíduos exfoliados, localizadas desde os

nichos perivasculars até à papila apical do dente, aparentam ser derivadas de células estaminais mesenquimais. Curiosamente, o recrutamento destas células mesenquimais de fora do dente para zonas com polpa afetada tem sido reportado. Aparentemente, este recrutamento aumenta o número de células estaminais locais, num curto período de tempo e de forma significativa. O ambiente pulpar também é uma forte influência no comportamento celular, durante a regeneração (Schmalz, 2014).

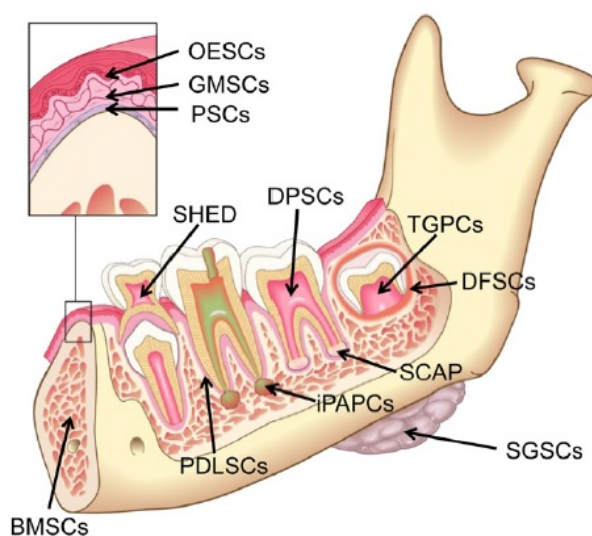


Figura 5 - Potenciais fontes de células estaminais pós-natais na cavidade oral (adaptado de Hargreaves *et al.*, 2013).

As células estaminais da polpa possuem a habilidade de aderir e proliferar, numa matriz, podendo até se diferenciar em células da linhagem dos odontoblastos. As células estaminais da papila apical são uma população heterogénea, capaz de diferenciação em odontoblastos e osteoblastos e com capacidade de regeneração dentinária consistente. O ligamento periodontal é uma estrutura de tecido conectivo especializado, que une a superfície radicular ao osso. As células estaminais do ligamento periodontal são, então, capazes de se diferenciar em células formadoras de osso e cimento. São as únicas células estaminais pós-natais que diferenciam das células da medula óssea e polpa dentária (Demarco *et al.*, 2011).

As células pulpares dentárias pós-natais contêm uma população de células heterogénea, responsável pela sua manutenção, defesa e capacidade de reparação (Dimitrova-Nakov *et al.*, 2014). As células estaminais anexam-se a uma superfície específica, como um

órgão-alvo, durante a organogênese, ou reparo, através da interação de moléculas específicas de adesão, como integrinas, expressas na membrana plasmática destas células. O efeito do substrato no comportamento das células estaminais é melhor demonstrado pelo efeito no nicho de células estaminais que, em adição aos fatores de crescimento, fornece um sinal de fixação, resultando no arrastamento celular, no estado de repouso. As células libertadas do seu nicho são “ativadas” e começam a proliferar e diferenciar (Diogenes *et al.*, 2014).

O processo de cultura de células estaminais dentárias, como células estaminais de dentes decíduos exfoliados e células estaminais da polpa dentária, é um bom exemplo das células a abandonarem o seu estado de inibição no nicho (polpa dentária e papila apical, respetivamente) e exibirem potencial de proliferação e diferenciação. A composição da matriz de dentina (substrato das células estaminais) é alterada por tratamento químico, durante o processo de desbridamento (Diogenes *et al.*, 2014).

Grandes concentrações de células estaminais são presentes ao canal quando ocorre a laceração dos tecidos apicais. Estas, em combinação com os fatores de crescimento e uma matriz, conduzem a uma regeneração histológica do tecido pulpar. O termo “revascularização” é melhor aplicado quando ocorre restabelecimento da vascularização no tecido isquémico, como na polpa de um dente avulsionado. A revascularização ignora a importância de fatores de crescimento e matrizes, que são requeridos para a recapitulação do complexo dentino-pulpar (Hargreaves, 2013).

Vários estudos demonstram que a transplantação de células estaminais pode originar tecido tipo-pulpar ectópico. Então, que células devem ser usadas num tratamento regenerador? A resposta poderia ser “células estaminais da polpa dentária”... Mas, considerando um paciente que necessita desta terapia num dente mas apresenta todos os outros sãos, qual seria a fonte de células pulpares? Os terceiros molares, se presentes, poderiam ser uma opção. Porém, o custo desta terapia seria impensável, devido ao tempo de extração das células estaminais do siso e processamento em laboratório (Kim *et al.*, 2012).

Recentemente, um importante estudo provou a possibilidade de isolamento de células estaminais de tecidos pulpare inflamados. A inflamação estimula o recrutamento e/ou diferenciação destas células. Outras células estaminais, incluindo as do ligamento periodontal (Kim *et al.*, 2012) (úteis em casos de destruição da bainha epitelial de Hertwing e tecidos da papila apical (Nagy *et al.*, 2014)), mucosa oral, papila apical, folículo dentário, medula óssea e células estaminais do tecido adiposo sofrem o processo das células estaminais pulpares no que diz respeito ao que é necessário para a regeneração pulpar, mas enfrentam uma incerteza adicional no que concerne à sua capacidade de regeneração de tecido pulpar (Kim *et al.*, 2012), mesmo tendo a capacidade de crescimento e proliferação através do ápice aberto (Nagy *et al.*, 2014).

A transplantação celular encontrou maiores dificuldades na translação em terapêutica clínica. A terapia que utiliza produtos das células estaminais derivados de espécies não humanas foi limitada, devido ao risco de imunorejeição de células animais não humanas. Os transplantes alogênicos apresentam risco de contaminação e imunorejeição. A criopreservação celular peca pelo seu custo adicional e perda de potencial celular, pois durante a manipulação das células, existe risco de contaminação (Kim *et al.*, 2012).

Como alternativa, Kim *et al.* sugeriu a regeneração do complexo dentino-pulpar através de “*cell homing*”. A terapia foi efetuada em dentes humanos extraídos clinicamente, com polpa extirpada e instrumentados, com a única exceção do preenchimento do sistema de canais radiculares (a gutta percha foi substituída por uma matriz de colagénio com fatores de crescimento), que foi previamente esterilizado em autoclave, com vista a remover qualquer componente orgânico ou biológico. Verificou-se, após 3-6 semanas, o surgimento de tecido tipo-polpa ao longo dos canais, com componentes vasculares, neurais e tipo-odontoblastos. Foi a primeira vez que se demonstrou a regeneração através de “*homing*” (Kim *et al.*, 2012).

O “*cell homing*” é definido, originalmente, pela migração de células estaminais hematopoiéticas desde a medula até à periferia e, ultimamente, até ao nicho de células estaminais. O conceito foi estendido até descrever o recrutamento das células endógenas do hospedeiro, incluindo células estaminais e progenitoras e, conseqüentemente, formação de tecido. Assim, a sua maior vantagem é a regeneração através de células

endógenas do hospedeiro e a eliminação dos passos celulares associados à transplantação (Kim *et al.*, 2012).

As matrizes são definidas como estruturas tridimensionais que se degradam depois de cumpridos os seus objetivos. Auxiliam as células no seu crescimento, ataque e diferenciação (Demarco *et al.*, 2011). São indispensáveis para a regeneração dentinopulpar, tendo em conta que suportam estruturalmente as células, enquanto estas sintetizam tecido. Estas matrizes tanto podem ser naturais como sintéticas. Idealmente, devem promover a ligação células e um ambiente útil para a regeneração. Os polímeros naturais incluem componentes da matriz extracelular, tal como fibronectina e colagénio, que são biodegradáveis e biocompatíveis (Kim *et al.*, 2012).

Zhang *et al.* usou uma esponja de colagénio, uma cerâmica porosa e uma malha de titânio fibrosa, com células estaminais da polpa implantadas. Observaram-se depósitos mineralizados, após 4 semanas, com expressão de sialoproteínas dentinárias. Após a junção às matrizes, sialofosfoproteínas dentinárias foram expressas, assim como tecido conectivo, exceto no grupo da cerâmica, onde se verificou alguma calcificação (Kim *et al.*, 2012).

O ácido hialorónico, polímero natural, também foi testado por Inuyama *et al.*, sendo praticamente equivalente às esponjas do colagénio, com a particularidade do número de leucócitos granulados ser significativamente inferior (Kim *et al.*, 2012).

A quitosana, quimicamente similar à celulose, também tem sido investigada como matriz para a regeneração pulpar. A proteção pulpar direta com monómero de quitosana mostrou que este induz uma mínima infiltração de células inflamatórias após 1 dia e promove a proliferação de fibroblastos pulpares ao fim de 3 dias. A indução de mineralização pelos odontoblastos ocorre após 5-7 dias. As matrizes sintéticas são não-tóxicas e biodegradáveis (Kim *et al.*, 2012).

O hidrogel gelatinoso atua como matriz reabsorvível e é o candidato ideal para o suporte dos fatores de crescimento, devido à sua biossegurança e inércia perante as proteínas. Os fatores de crescimento são controlados através da degradação do suporte do hidrogel e

não por difusão e o seu uso aumenta a maturação e desenvolvimento radicular (Nagy *et al.*, 2014).

Fatores de crescimento biologicamente ativos estão agarrados à matriz de dentina durante a dentinogênese. Alguns destes fatores de crescimento têm um efeito robusto na diferenciação e/ou proliferação das células estaminais mesenquimais, direcionando-as para um fenótipo de células tipo-odontoblastos (Diogenes *et al.*, 2014). Podem ser, então, considerados a chave para a formação e reparação de dentina e polpa (Demarco *et al.*, 2011). Alguns irrigantes, como o hipoclorito de sódio (NaOCl), desnaturam estes derivados dentinários (Diogenes *et al.*, 2014).

O sucesso da engenharia tecidual baseia-se no estabelecimento de uma rede vascular efetiva, capaz de fornecer oxigênio, nutriente e células imunitárias ao tecido (Demarco *et al.*, 2011). Apesar da promessa inicial, a Endodontia Regeneradora enfrenta algumas dificuldades na sua prática clínica. As células estaminais pulpares são essenciais para a regeneração. No entanto, podem não estar disponíveis no paciente que necessita deste tipo de terapia. Mesmo que estejam disponíveis autóloga ou alogenicamente, existem várias barreiras que precisam de ser ultrapassadas, tais como a imunorejeição, contaminação e transmissão de patógenos. Os custos excessivos também são uma questão a ter em conta. O “*cell homing*” surge como uma alternativa à transplantação celular e as matrizes são outra área de inovação da Endodontia Regeneradora (Kim *et al.*, 2012).

Atualmente, o desenvolvimento de tecidos complexos como a polpa, já não é inatingível e a próxima década será extremamente interessante para a pesquisa odontológica (Demarco *et al.*, 2011).

3.2 – Capacidade Inata Reparadora da Polpa

Colombo *et al.* (2014) afirma que é amplamente aceitável que o órgão dentário possui a capacidade inata de se auto-reparar, contendo todos os componentes necessários para a regeneração, tanto dos tecidos moles da matriz pulpar, como da dentina mineralizada (Colombo *et al.*, 2014).

Regeneração e reparo são dois processos diferentes, mas não deixam de estar relacionados. O reparo refere-se às respostas a agressões, envolvendo tanto processos de cicatrização como de fibrose, alterando permanentemente a estrutura tecidual. A regeneração refere-se à proliferação de células e tecidos que visam substituir células ou tecidos danificados, restaurando assim a função normal da estrutura tecidual (Ricucci *et al.*, 2014).

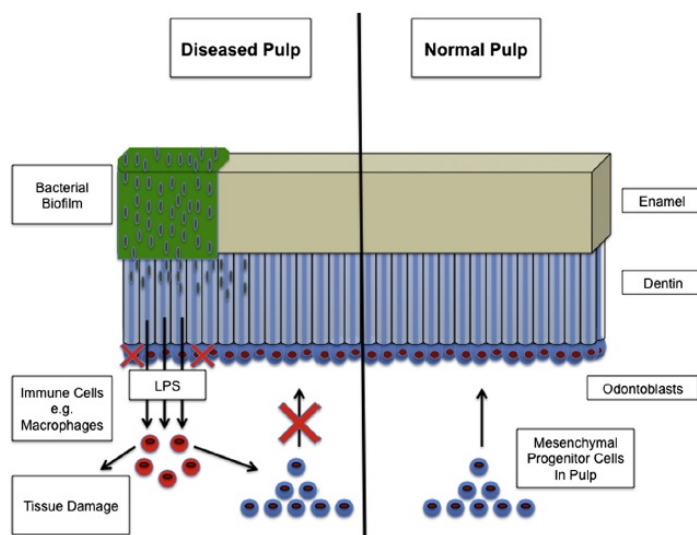


Figura 6 - Contraste entre polpa normal e polpa afetada (adaptado de Colombo *et al.*, 2014).

A população celular da polpa está constantemente a ser renovada por processos biológicos de divisão mitótica e apoptose, levada a cabo por células da camada pulpar de *Höhl* (Dimitrova-Nakov *et al.*, 2014). A capacidade de regeneração do complexo dentino-pulpar já foi demonstrada. Parece dever-se à presença de células progenitoras e de sinalização adequada indutiva da regeneração, proveniente de várias origens (Chmilewsky *et al.*, 2014).

No dente, a regeneração deste complexo pode tomar formas variadas, dependendo do grau do agente causador e da severidade da alteração tecidual. A regeneração pode ir desde a simples regulação positiva da atividade sintética da camada odontoblástica (gera dentina protetora reacionária) até à angiogénese e neurogénese (em casos de estímulos mais severos) (Chmilewsky *et al.*, 2014). A reparação dos tecidos de origem mesenquimal envolve, invariavelmente, um aumento de deposição de colagénio, com o objetivo da redução do tamanho da lesão, com a formação de tecido cicatricial (Ricucci *et al.*, 2014).

Se um dente estiver sujeito a um estímulo leve, por períodos de tempo prolongados, como é o caso da abrasão, os odontoblastos produzem dentina reacionária, depositando-a a um ritmo lento. Essa dentina é caracterizada como sendo ligeiramente irregular. Quanto maior for o estímulo aplicado, pior a qualidade da dentina produzida, sendo cada vez menos permeável e regular (Chandra, 2010).

Caso o dente esteja sujeito a um estímulo severo, como uma cárie agressiva, os odontoblastos são lesados de forma irreversível, deixando túbulos vazios, denominados de tratos mortos, que permitem a entrada a bactérias e substâncias nocivas na polpa. À medida que a cárie vai progredindo, mais e mais odontoblastos são afetados de forma irreversível (Chandra, 2010).

A dentina terciária formada até então é dentina reacionária, sintetizada pelos mesmos odontoblastos responsáveis pela dentina de desenvolvimento. Esta dentina reacionária apresenta menor número de túbulos, ainda que menos mineralizada, o que atrasa a progressão da cárie e a passagem dos seus produtos metabólicos. Se o estímulo for suficientemente rápido, as camadas de dentina tornar-se-ão ainda mais atubulares, sendo possível que algumas células fiquem sequestradas entre o tecido osteoide, como é o caso dos odontoblastos, por exemplo (Chandra, 2010).

A angiogénese é um processo multi-passo complexo de formação de novos vasos sanguíneos, regulado por vários fatores de crescimento. Na polpa dentária, a angiogénese é fundamental para o desenvolvimento do dente e é um pré-requisito para o sucesso reparador, após injúria e inflamação. Os neuropeptídeos possuem um papel complexo na regulação angiogénica e nos processos de regeneração. Na verdade, os fibroblastos apresentam neuropeptídeos e recetores de neuropeptídeos, sendo possível acreditar que a expressão do fator de crescimento angiogénico, por parte dos fibroblastos, seja regulada por neuropeptídeos (El Karim *et al.*, 2009).

Fouad (2011) afirma que a polpa dentária detém grande potencial regenerativo, especialmente em dentes permanentes imaturos e atribui esse potencial à presença de células mesenquimais indiferenciadas (Fouad, 2011). O nosso conhecimento sobre as influências instrutivas do ambiente pulpar no contexto da renovação celular é ainda

limitado, no entanto, este ambiente é crítico na sinalização de eventos associados à indução de diferenciação de células tipo odontoblastos e consequente controlo regulatório da atividade secretora destas células (Schmalz, 2014).

A ideia da regeneração de nova dentina por novas células tipo odontoblastos, originadas através da diferenciação de células mesenquimais, tem sido bem aceite pela comunidade médico-dentária. Esta noção fornece a base contemporânea para os procedimentos das terapias da polpa vital (Ricucci *et al.*, 2014). Em casos de exposição pulpar, torna-se ideal a formação de tecido cicatricial sob a forma de dentina reparadora, capaz de selar a entrada a bactérias ou produtos irritantes para a polpa. Este tecido cicatricial origina aquilo a que se dá o nome de ponte de dentina, que se forma ao longo da polpa exposta (Smith, 2012).

4 – Abordagem Clínica

4.1 – Considerações a ter antes e durante o tratamento

Vários procedimentos clínicos relacionados à Endodontia Regeneradora, com finalidade de tratar a formação incompleta da raiz em dentes permanentes imaturos com desenvolvimento incompleto (ápice aberto), com diagnóstico de necrose pulpar, têm sido propostos (Hargreaves, 2011). A terapia endodôntica convencional envolve a remoção do tecido pulpar necrosado ou inflamado e inserção de um material sintético no sistema de canais (Galler *et al.*, 2011).

O risco de necrose pulpar em dentes imaturos está acrescido, devido à probabilidade de traumatismo, anomalias dentárias e cáries (Berkhoff *et al.*, 2014), embora a etiologia que mais parece contribuir para a necessidade de tratamento regenerador continue a ser o trauma (Saoud *et al.*, 2014). A necrose é prejudicial para a continuação e terminação da formação da raiz (Kontakiotis, 2014).

Historicamente, as infeções canulares deste tipo de dentes têm sido tratadas por apexificação (Berkhoff *et al.*, 2014; Nagy *et al.*, 2014), recorrendo a Ca(OH)_2 (Nagy *et al.*, 2014), logo, tem sido resolvido a sua periodontite apical mas não tem sido estimulado

o crescimento radicular (Berkhoff *et al.*, 2014) e as raízes mantêm-se finas, frágeis e propensas à fratura (Kontakiotis, 2014). Além disso, o uso a longo prazo de Ca(OH)_2 acarreta vários inconvenientes: várias consultas, necessidade de disciplina do paciente, probabilidade de contaminação canalar entre consultas, diminuição do brilho da dentina e aumento do risco de fratura (Nagy *et al.*, 2014).

A abordagem dos tratamentos regeneradores tem capacidade de restabelecer a vitalidade do dente, tendo em conta que a polpa apresenta potencial para promover a formação dentinária radicular (que alargará e permitirá o crescimento, prevenindo a fratura), assim como coronal. A polpa vital apresenta uma resposta imune que permite que esta resista a uma futura irritação bacteriana, proveniente de cáries ou micro-infiltração das restaurações. Por fim, um desenvolvimento normal das raízes resulta num desenvolvimento morfológico mais apropriado para a endodontia convencional, se esta for necessária posteriormente. Outros benefícios da polpa incluem a habilidade de reparar defeitos provenientes de cáries ou fraturas, através da dentina terciária, fornecendo respostas vasculares e sensoriais normais e promovendo uma função regular (Fouad, 2014).

A proteção pulpar direta está indicada para dentes que tenham sofrido exposição pulpar, cujo objetivo é promover o potencial de dentinogénese das células pulpares. Diversos materiais têm sido usados para este fim, como fosfatos tricálcicos, ionómero de vidro modificado por resina, resinas hidrofílicas e Ca(OH)_2 (Paranjpe *et al.*, 2011).

A infeção pulpar pode destruir a polpa e, se não for controlada, pode levar a uma necrose pulpar total e periodontite apical, assim como a reabsorção e/ou paragem do desenvolvimento radicular do dente imaturo permanente. O trauma também pode causar necrose pulpar e impedir o desenvolvimento radicular, mesmo quando a dentina coronal e esmalte continuam intactos, provavelmente devido ao prejuízo da vasculatura periapical e bainha epitelial de Hertwig's (Saoud *et al.*, 2014).

Durante as fases iniciais de inflamação pulpar, as terapias da polpa vital têm sido eficazes em termos de manutenção da habilidade da polpa radicular em continuar o desenvolvimento da raiz, em dentes imaturos. Tal como a experiência do operador, a

infecção pré-operatória é um fator determinante para o prognóstico do tratamento de dentes imaturos (reduz as hipóteses de recuperação em cerca de 15%-20%, quando comparada a casos de polpa vital) e é geralmente determinada pela falta de resposta aos testes de sensibilidade e presença de lesão radiolúcida periapical (Fouad, 2014).

Em dentes imaturos com ápice aberto, após avulsão traumática com pouco tempo extra oral, luxação extrusiva e intrusiva, transplante ou reimplante, o prognóstico de revascularização e continuação de maturação radicular ronda desde os 33% aos 100%. Se não houver infecção ou a contaminação for mínima e não houver instalação de biofilme bacteriano, a resposta do hospedeiro permitirá a revascularização do recinto pulpar, através do espaço do forâmen apical (o sucesso aumenta com o tamanho), e a continuação da mineralização, levando a um aumento de comprimento e largura da raiz. Por outro lado, em casos em que a infecção se estabeleceu por tempo suficiente para desenvolver um biofilme bacteriano dentro do canal, este tem que ser desinfetado até um grau que permita o processo de revascularização (Fouad, 2014).

A desinfecção é conseguida recorrendo a vários antibióticos, combinações de antibióticos ou Ca(OH)_2 , daí a considerável importância do clínico perceber a localização do biofilme bacteriano, a virulência microbiana e características de adesão, bem como a sensibilidade do microrganismo envolvido aos antibióticos. A desinfecção é mais relevante nos casos de endodontia regeneradora do que nos tratamentos endodônticos tradicionais, pois, no último, apenas baixar os níveis bacterianos e prevenir o acesso ao ápice é suficiente para a recuperação (Fouad, 2014).

A apexificação é o tratamento mais comum nos casos de pulpite irreversível ou necrose pulpar (Murray, 2015) e é definida como o método que induz, num dente necrosado, o desenvolvimento contínuo apical de uma raiz não formada completamente ou permite a formação de uma barreira calcificada no ápice aberto, não objetivando recuperar o tecido vital canalar (Hargreaves, 2011). O seu principal objetivo é a criação de um ambiente que permita a deposição de cimento, osso e ligamento periodontal que ajude no desenvolvimento da raiz (Raji, 2013). Pode distinguir-se de revascularização, pois esta promove a formação de tecido vital, que irá permitir a continuação da deposição mineral, reforçando a dentina e fomentando o crescimento radicular (Murray, 2015). Amplamente,

pode ser definida como o restabelecimento da vascularização do órgão ou tecido, então, não está totalmente relacionada com o objetivo desejado da Endodontia Regeneradora, visto que este é a regeneração do complexo dentino-pulpar e não só a revascularização canalar (Hargreaves, 2011).

A apicogênese é indicada para dentes que não têm sofrido perda de vascularização, logo, fomenta o desenvolvimento fisiológico continuado, assim como a formação final da raiz, em dentes vitais (Hargreaves, 2011).

A técnica da barreira apical foi introduzida como substituta da apexificação com Ca(OH)_2 . Nesta, o material é colocado no ápice, para facilitar a obturação. Considerando a sua habilidade seladora, biocompatibilidade e potencial de indução, o MTA é o material de eleição para esta técnica. Também deve ser realizada em mais do que uma sessão, em casos de existência de sinais de inflamação (Nosrat, 2012). Apesar desta técnica ser considerada um tratamento mais curto e resultar na cura da periodontite apical, continua sem estimular o desenvolvimento radicular e fechamento apical (Cehreli *et al.*, 2011).

As diferenças entre a regeneração e o reparo não são apenas semânticas, mas sim, realidades clínicas. O termo “reparo pulpar” deve ser usado para terapias que ambicionem promover a cura da polpa enquanto esta ainda está viva. Os sintomas clínicos devem ser de lesão reversível. Se não existir exposição pulpar, nem sinais de dano irreversível, os odontoblastos irão sintetizar dentina reacionária, o que levará a uma cura gradual da polpa. Após uma exposição pulpar moderada, a proteção pulpar direta com Ca(OH)_2 ou MTA promove o recrutamento e diferenciação de células progenitoras da polpa. A polpa será reparada espontaneamente. Isto apenas é possível na ausência de inflamação e presença de suficiente aporte sanguíneo (Goldberg, 2011). Pelo lado da regeneração, uma acumulação significativa de células estaminais indiferenciadas no espaço canal ar é o que contribui para a regeneração do tecido pulpar (Lovelace *et al.*, 2011).

O tratamento endodôntico regenerador é baseado na presença de células estaminais osteo/odonto progenitoras da papila apical, resistentes à infecção e necrose devido à proximidade do fornecimento sanguíneo periodontal (Nosrat, 2012). O sucesso das terapias de Endodontia Regeneradora depende de uma adequada desinfecção do sistema

de canais radiculares, assim como da sobrevivência e capacidade de diferenciação das células estaminais (Fouad, 2014).

Os clínicos, muitas vezes, enfrentam o desafio de realização de um correto desbridamento em canais amplamente infetados, que estão contraindicados para instrumentação mecânica (Diogenes *et al.*, 2014). É importante desinfetar o canal a um nível que permita o crescimento tecidual sem desregular o potencial bioativo da dentina radicular e a viabilidade das células estaminais, a partir das quais se pode desenvolver o tecido regenerador (Fouad, 2014).

Desta forma, o primeiro passo crítico destas terapias passa pela criação de um microambiente propenso à sobrevivência, proliferação e diferenciação das células (Berkhoff *et al.*, 2014). Geralmente, o tratamento regenerador é iniciado com o desbridamento químico do canal (Althumairy, 2014), recorrendo a cloroheixidina (CHX) e NaClO, por exemplo (Phumpatrakom, 2014), com pouca ou nenhuma instrumentação, seguido da aplicação de medicação intracanal (Althumairy, 2014). Todavia, sem instrumentação com uma lima endodôntica, os biofilmes endodônticos permanecem intactos e tornam-se muito mais resistentes aos agentes antimicrobianos. É importante salientar que, ao contrário do que acontece nos casos de ápice maturo, a intenção não é moldar o canal, mas sim, criar interrupções na camada de biofilme, criando permeabilidade máxima (Fouad, 2014). Quanto maior for a duração da necrose, pior o prognóstico do tratamento regenerador (Nosrat, 2012).

O tratamento é iniciado com a desinfecção química do canal, seguida da colocação da medicação intracanal. Isto ocorre durante a primeira visita. Na seguinte, pelo menos 1 semana depois, na ausência de sinais de inflamação (dor, edema, drenagem proveniente do canal e fístula), remove-se a medicação e induz-se o sangramento dentro do canal, através da irritação dos tecidos perirradiculares. Após a formação do coágulo sanguíneo, o clínico sela o canal com a aplicação de um “*plug*” de MTA sobre o mesmo. Com vista a facilitar o sangramento, é recomendável o uso de anestésicos locais sem vasoconstritor (Nosrat, 2012).

No caso de dentes decíduos, este tipo de terapia não é opção. Se estes dentes sofrerem algum tipo de trauma ou ataque, deverão ser, simplesmente, restaurados. Se esta opção não pode ser realizada, os dentes decíduos deverão ser extraídos. Esta regra deve-se ao risco que a tentativa de manter estes dentes traria na erupção do sucessor permanente. Outra contraindicação do tratamento endodôntico regenerador são os pacientes portadores de doenças genéticas, condições de saúde desfavoráveis e sistema imune comprometido (Murray, 2015).

4.2 – Desinfecção Canal

Irrigantes e desinfetantes podem ter um impacto significativo nos resultados do tratamento (Schmalz, 2014). Tradicionalmente, os irrigantes e medicamentos têm sido escolhidos pelo seu efeito antimicrobiano máximo, sem consideração para os efeitos nas células estaminais e microambiente dentinário (Diogenes *et al.*, 2014). É de conhecimento geral que concentrações de 2,5% a 5,25% de NaClO e 2% de CHX são os antimicrobianos mais eficazes. Porém, a estas concentrações, podem ser tóxicos para as células estaminais da papila apical, impedem a adesão das células estaminais à dentina e revogam a bioatividade dos fatores de crescimento dentinários (Fouad, 2014). Diversas soluções podem expor fatores de crescimento na dentina e estimular, diretamente, a dentinogênese reacionária (Schmalz, 2014).

O NaClO tem sido usado como irrigante e desinfetante, durante as terapias de regeneração pulpar (Aksel, 2014) e pode estimular a proliferação das células estaminais da papila apical (Phumpatrakom, 2014), sendo o agente de desbridamento químico mais largamente utilizado nos procedimentos endodônticos, incluindo tratamentos regeneradores. Apresenta uma excelente capacidade bactericida e de dissolução de tecido (propriedades cruciais para a desinfecção de dentes imaturos no tratamento regenerador, visto que envolve pouca ou nenhuma preparação mecânica) e exibe lubrificação para os instrumentos endodônticos (Diogenes *et al.*, 2014).

Apesar de ser o mais utilizado, em concentrações elevadas (superiores a 3%), é citotóxico para as células do ligamento periodontal e células estaminais da papila apical (Kontakiotis *et al.*, 2015) e, por isso, é comumente usado a 1,25% (Fouad, 2014). Para otimizar as

condições de diferenciação celular, formação tecidual e regeneração, uma última irrigação com ácido etilenodiamido tetra-acético (EDTA) tem sido realizada (Aksel, 2014), pois atenua efeitos indesejáveis (Diogenes *et al.*, 2014) e preserva a estrutura dentinária (Schmalz, 2014).

O condicionamento dentinário com EDTA a 17% promove a sobrevivência das células estaminais da papila apical, ao passo que o NaOCl é prejudicial (se em contacto com a papila apical). Estudos independentes demonstraram que o condicionamento dentinário com NaOCl a 5%-6% preveniram, tanto em modelos *in vitro*, como em modelos *in vivo*, a diferenciação de células estaminais de dentes decíduos exfoliados e células estaminais da polpa dentária em fenótipo de células tipo odontoblastos. Além disso, o efeito tóxico do NaOCl prolonga-se mesmo após a remoção do irrigante, o que sugere repercussão direta e indireta nas células estaminais. Visto isto, o condicionamento dentinário com NaOCl, a concentrações elevadas, diminui drasticamente a probabilidade de sobrevivência das células estaminais, assim como a capacidade da sua diferenciação em células tipo odontoblastos, porém, em concentrações de cerca de 1,5%, denota efeitos mínimos na sua sobrevivência e diferenciação, melhorados ainda com o acrescento de EDTA a 17% (Diogenes *et al.*, 2014).

Os fatores de crescimento presentes na dentina são suficientes para promover a sobrevivência, proliferação e a diferenciação das células estaminais. O EDTA solubiliza estes fatores da dentina, alargando a sua biodisponibilidade (Diogenes *et al.*, 2014). O uso adicional de CHX foi reportado em alguns casos, no entanto, também pode ser prejudicial para as células estaminais (Aksel, 2014; Kontakiotis *et al.*, 2015).

É conhecido que o NaOCl pode alterar a composição da matriz de dentina, diminuindo o conteúdo de carbono e nitrogénio e desmineralizando a matriz, quando usado em grandes concentrações. A 1%, não causa alterações significativas na composição ou propriedades mecânicas da dentina, que podem interferir com a capacidade das células de se agregarem, proliferarem e diferenciarem na superfície de dentina. Assim, o NaOCl pode afetar o destino das células estaminais, através da alteração da composição química de dentina, incluindo a desnaturação dos fatores de crescimento e moléculas acessórias (Diogenes *et al.*, 2014).

4.3 – Medicação Intracanal

Adicionado à irrigação, o uso de medicação intracanal contribui para a descontaminação dos canais radiculares (Aksel, 2014). A medicação ideal deve, pelo menos, manter o nível de proliferação celular ou permitir que as células re-prolifere após a sua remoção (Phumpatrakom, 2014). O tempo de permanência da medicação varia conforme os sinais e sintomas do paciente, mas, usualmente, perdura cerca de 2 a 4 semanas (Althumairy, 2014).

Os antibióticos são uma escolha óbvia, em virtude da sua seletividade, toxicidade reduzida e potencial efeito residual. A título de exemplo, o ácido clavulânico, inativa as beta-lactamases, prevalentes nas infecções endodônticas (Fouad, 2014). Numa segunda consulta, assumindo a abstinência de sinais e sintomas de infecção, o tratamento prossegue com a indução do sangramento intracanal e restauração coronal (Althumairy, 2014).

A TAP, medicamento intracanal comumente usado (Berkhoff *et al.*, 2014), é composta por metronidazol, ciprofloxacina e minociclina e apresenta atividade contra patógenos endodônticos e resultados satisfatórios a nível de desenvolvimento da raiz e revascularização pulpar (Aksel, 2014), desinfetando até 70% dos canais radiculares, comparando com o 1% do NaClO (Fouad, 2014). Hoshino *et al.* usou a combinação dissolvida num veículo de macrogol/propileno glicol, para desinfetar dentes decíduos, colocando-a no canal e tecidos circundantes, nomeando o procedimento de “*lesion sterilization and tissue repair therapy*”. O resultado foi a resolução dos sintomas, dentes assintomáticos até à exfoliação e erupção do sucessor permanente (Diogenes *et al.*, 2014).

Não obstante, as pastas podem causar alguns efeitos de resistência bacteriana, reações alérgicas e descoloração coronal (Aksel, 2014), devido à minociclina (Fouad, 2014). Assim, é recomendável o selamento das paredes de dentina com um adesivo *à priori* da colocação da TAP no interior do canal, apesar da descoloração não ser completamente prevenida (Aksel, 2014; Fouad, 2014).

A TAP tem demonstrado toxicidade contra células estaminais da papila apical, em concentrações superiores a 0,1g/ml, daí a imposição de ser totalmente removida do

sistema de canais radiculares no procedimento endodôntico regenerador, apesar das técnicas de irrigação correntes não serem totalmente eficazes, devido à penetração e adesão desta à dentina (Berkhoff *et al.*, 2014). Outra hipótese será a de ser usada em concentrações até 1mg/ml (Althumairy, 2014), idealmente 0,39 µg/ml, em que não foi demonstrada toxicidade para as células estaminais da polpa nem da papila apical, permitindo que estas proliferem (Phumpatrakom, 2014).

A concentração de 100µm de cada medicamento da TAP é suficiente para erradicar totalmente as bactérias do sistema de canais radiculares, por isso, a combinação antibiótica é muito eficaz contra os microrganismos endodônticos. A TAP é o medicamento intracanal mais utilizado. Os medicamentos são misturados com água, sal ou propileno glicol, até a mistura cremosa se formar. No entanto, qualquer agente tem uma janela terapêutica, que varia desde uma mínima inefetiva concentração, desprovida de efeitos terapêuticos, até efeitos tóxicos e/ou indesejados. Assim, a concentração ideal da mistura deve ser efetiva contra as bactérias, sem ser prejudicial para as células estaminais. A concentração terapêutica segura é cerca de 0,001-0,01 mg/ml, mas as formulações da TAP ronda os 1000 mg/ml (Diogenes *et al.*, 2014).

Outras combinações similares, como a pastas antibiótica dupla (ciprofloxacina e metronidazol), amoxicilina e ácido clavulânico e TAP modificada (a minociclina é substituída por cefaclor (Diogenes *et al.*, 2014), sugerido por Thibodeau e Trope (Nosrat, 2012)), apresentam toxicidade similar. Em contraste, a preparação comercial de Ca(OH)₂ não apresenta detrimento na sobrevivência das células da papila apical (Diogenes *et al.*, 2014).

A descoloração do dente após a terapia regeneradora é o problema mais relatado após o uso de minociclina da TAP. A maior razão para tal é o contacto da minociclina com as paredes de dentina coronária. Um estudo recente sugere o selamento das paredes com adesivo e resina composta, antes da colocação da TAP no canal. A olho nu, o problema estaria solucionado, mas no colorímetro, a descoloração continuava a ser visível. Desta forma, é de concluir que este problema não seria completamente resolvido por esta via. Apesar de o maior causador deste problema ser a minociclina, alguns estudos demonstram

que o MTA cinzento e branco também podem trazer esta desvantagem, quando colocados a nível coronal (Nosrat, 2012).

A medicação é aplicada em todo o comprimento do canal, por períodos que variam de semanas a meses. Contacta com as células da papila apical por um período prolongado, levando à toxicidade e redução do número de células estaminais mesenquimais viáveis e ainda existe a possibilidade da interação dos antibióticos residuais que se encontram nas paredes dentinárias com as células estaminais que são entregues ao sistema de canais radiculares, após a etapa de evocação do sangramento (Diogenes *et al.*, 2014).

Contrariamente ao Ca(OH)_2 , a TAP demonstra grande capacidade de penetração e ligação à dentina. Porém, esta propriedade aumenta a probabilidade das células estaminais mesenquimais entregues aos canais entrarem em contato direto com a medicação residual. O Ca(OH)_2 pode ser considerado a primeira linha de medicação intracanal dos tratamentos endodônticos regeneradores. Pastas como a TAP podem ser usadas como medicamentos primários ou após a colocação de Ca(OH)_2 , se o tratamento precisar de uma desinfecção mais agressiva do que a da concentração do medicamento, respeitando a sua dose terapêutica (Diogenes *et al.*, 2014).

Somado aos efeitos diretos destes medicamentos, estes podem ter um efeito indireto nas células estaminais, alterando as propriedades da dentina. Alguns estudos demonstraram alterações que afetam a resistência e propensão à fratura, resultantes do pH baixo (aproximadamente $\text{pH}=3$) quando se realiza a suspensão em água ou sal, provocando desmineralização dentinária. Mas, tratamentos com Ca(OH)_2 , com níveis de pH elevados (cerca de 12), também alteram a composição dentinária, aumentando o risco de fratura. Para além das alterações mecânicas, as alterações da composição da matriz de dentina através da medicação intracanal também alteram o destino das células estaminais, quando contactam com o substrato modificado (Diogenes *et al.*, 2014).

Em 1920, Hermann introduziu o uso do hidróxido de cálcio (Ca(OH)_2) na endodontia (Lee *et al.*, 2014), como medicamento antibacteriano, protetor pulpar e promotor de formação de tecido mineralizado em procedimentos de apexificação (Berkhoff *et al.*, 2014). O hidróxido de cálcio é um medicamento intracanal antisséptico de ação lenta,

que precisa de 24 horas de contato para eliminar, totalmente, enterococci e de uma semana para alcançar uma taxa de redução bacteriana de 92,5%. Tem uma extraordinária habilidade de hidrolisar a porção lipídica das bactérias lipopolissacarídeas, resultando na inativação da sua atividade biológica e, conseqüentemente, na cessação da inflamação causada por estas no tecido perirradicular (Lee *et al.*, 2014). O Ca(OH)_2 tem sido visto como uma excelente alternativa, não só devido às suas propriedades antimicrobianas, como também à baixa probabilidade de causar descoloração, à libertação de fatores de crescimento e biomoléculas da dentina, assim como devido à sua disponibilidade na prática clínica rotineira (Aksel, 2014).

Os melhores resultados são verificados quando a colocação do material é restrita à porção coronal (Aksel, 2014), provavelmente devido ao facto do Ca(OH)_2 residual ter uma interação citotóxica com as células estaminais (Hargreaves, 2011). No entanto, devido ao seu elevado pH, o Ca(OH)_2 pode causar necrose tecidual e, por conseguinte, destruir a diferenciação tecidual que originaria novo tecido pulpar. Também deve ser referenciado o risco acrescido de fratura de dentes imaturos com Ca(OH)_2 , devido à sua reação com a dentina (Aksel, 2014), falha no controlo da infeção e suscetibilidade de reinfeção (Raji, 2013).

O uso prolongado de Ca(OH)_2 intracanal tem sido o tratamento de escolha para dentes imaturos necrosados. Contudo, requer que o paciente compareça em várias consultas ao longo de 6 meses, tempo que pode reduzir a resistência radicular e alterar propriedades dentinárias (Alobaid *et al.*, 2014). Outro inconveniente desta técnica é que a barreira que se forma, aparentemente calcificada, é, na realidade, porosa (Raji, 2013). A longo prazo, o sucesso do tratamento, dependendo do grau de maturação apical, ronda os 28%-77% (Fouad, 2014). Radiograficamente, quando o Ca(OH)_2 é limitado à porção coronal, o espessamento radicular é maior do que quando este ultrapassa este limite (Nosrat, 2012).

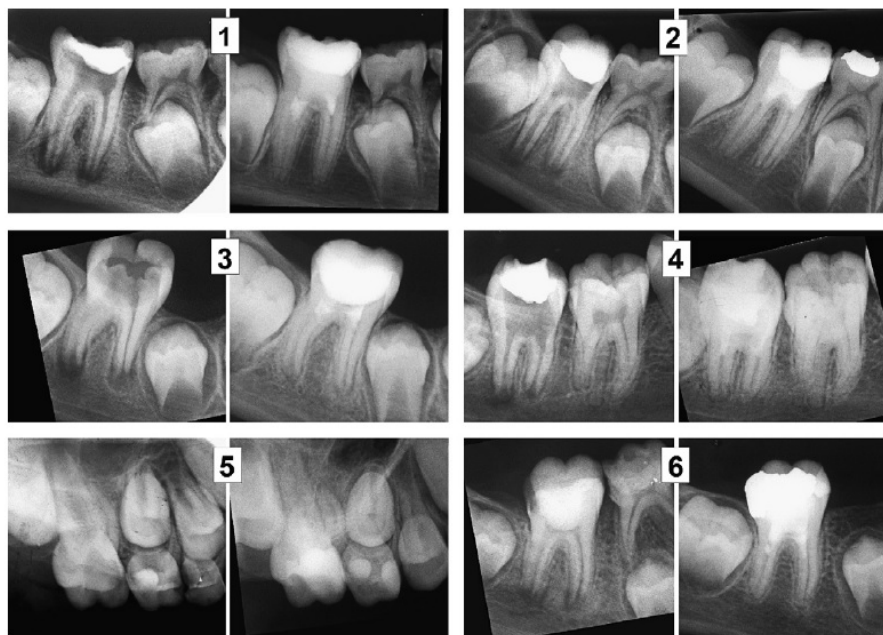


Figura 7 – Exemplo de revascularização com hidróxido de cálcio. As imagens da esquerda representam o pré-operatório e as imagens da direita representam o pós-operatório (adaptado de Cehreli *et al.*, 2011).

Torabinejad *et al.* introduziu o MTA em 1993 (Lee *et al.*, 2014) e em 1998 foi aprovado para aplicações endodônticas pela US Food and Drug Administration (Raji, 2013). Este material tem sido usado, comumente, em procedimentos de proteção pulpar direta, visto que está demonstrada a sua capacidade de libertar fatores solúveis capazes de ajudar na diferenciação celular (Paranjpe *et al.*, 2011).

O MTA, além de ser bastante biocompatível, tem ótimas propriedades seladoras, de osteogênese e cementogênese. Além disso, promove a formação de cristais de apatite sobre a superfície de contato exterior, daí ser adotado como medicamento intracanal em procedimentos de apicificação e apicogênese (Lee *et al.*, 2014). As suas propriedades osteoindutoras e osteocondutoras foram demonstradas nos tecidos periradiculares, como o ligamento periodontal, osso e cimento (Raji, 2013).

O MTA deve ser colocado sobre o coágulo sanguíneo, seguido de uma bola de algodão molhado, cerca de 1-2 mm apicais da junção amelocementária (Aksel, 2014), minimizando o potencial de microinfiltração (Hargreaves, 2011). Ao ser colocado na área cervical, e sendo estendido até ao terço coronal, previne a formação de tecido

mineralizado nessa área, que é crítico para a força mecânica do dente e pode descolorar a coroa (Fouad, 2014). O MTA parece oferecer um maior número de vantagens, relativamente ao Ca(OH)_2 , no que se refere ao número de vezes que o paciente tem que comparecer na consulta dentária, na colaboração do paciente, taxa de sucesso e risco de posterior fratura (Hargreaves, 2013). O MTA não parece enfraquecer a dentina como o Ca(OH)_2 , no entanto, o risco de fratura continua a ser significativo (Fouad, 2014; Nagy *et al.*, 2014). A ponte de dentina induzida pelo MTA demonstra maior homogeneidade, quando comparada com a do Ca(OH)_2 (Koyuncuoglu *et al.*, 2013).

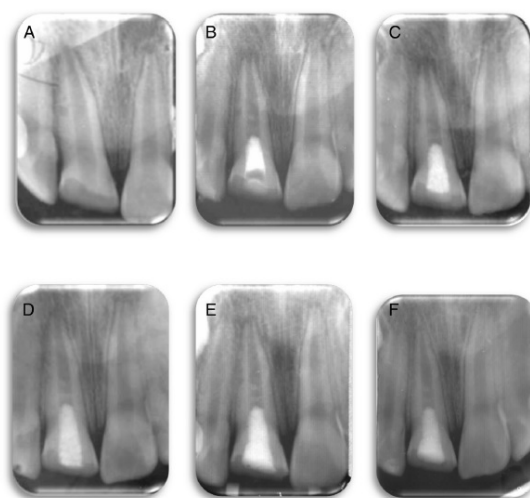


Figura 8 – Exemplo de revascularização com MTA (adaptado de Saoud *et al.*, 2014).

Tal como os irrigantes, os medicamentos intracanales apresentam potencial para alterar o substrato (dentina) ideal para a proliferação e diferenciação das células estaminais. É importante o delicado balanço entre desinfecção e sobrevivência das células estaminais e a seleção de irrigantes e medicamentos deve ser feita tendo em conta uma concentração efetiva contra microrganismos e minimamente tóxica para as células estaminais. É possível que estas recomendações sejam alteradas, com a evolução do campo da Endodontia Regeneradora (Diogenes *et al.*, 2014).

4.4 – Protocolo Clínico

O mais recente protocolo de revascularização introduz o sangramento estimulado dos tecidos da papila apical, após desinfecção canal, com formação de um coágulo sanguíneo (Alobaid *et al.*, 2014), estimulando as células estaminais e induzindo a formação tecidual

e continuação do desenvolvimento radicular (Aksel, 2014). Um coágulo sanguíneo estável não serve apenas como matriz de migração das células estaminais dentro do canal, como também contém fatores de crescimento, necessários para o crescimento e diferenciação celular (Kontakiotis *et al.*, 2015), que estimulam a diferenciação, crescimento e maturação de fibroblastos, odontoblastos e cementoblastos (Nagy *et al.*, 2014). Como passo final, o orifício canalar é selado com MTA e procede-se à restauração definitiva (Cehreli *et al.*, 2011).

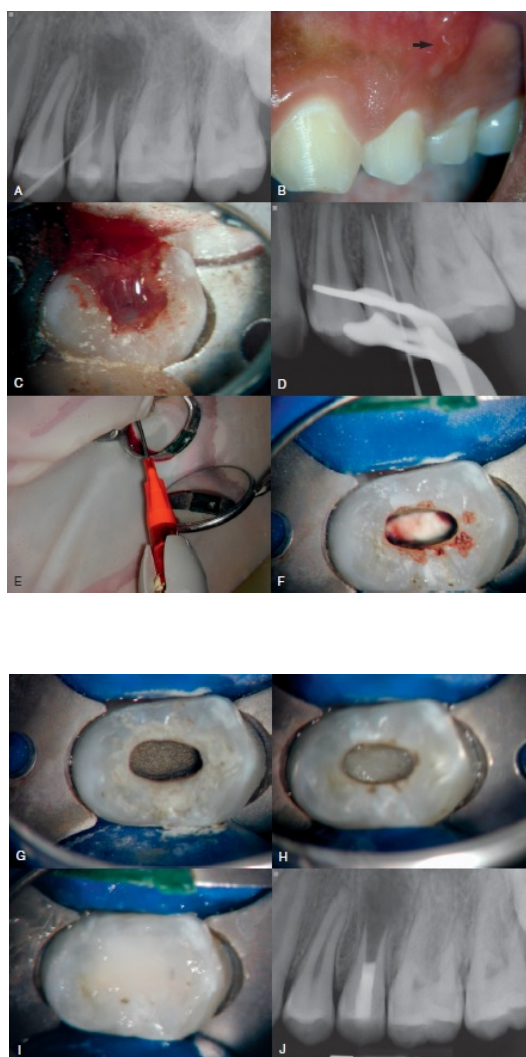


Figura 9 – Exemplo de um protocolo de revascularização (adaptado de Hargreaves, 2011).

Como a Endodontia Regeneradora é uma promessa de tratamento alternativo para dentes imaturos necrosados, vários protocolos têm sido propostos: um “*plug*” apical de MTA, uma matriz de coágulo sanguíneo e um protocolo com coágulo sanguíneo e matriz injetável, com fatores de crescimento de fibroblastos. A maioria dos casos evidencia cura

periapical, visível radiograficamente e continuação da formação radicular nos dentes necrosados. A utilização de uma matriz de hidrogel artificial e fatores de crescimento de fibroblastos não são essenciais para o reparo (Nagy *et al.*, 2014).

Diogenes *et al.* (2014) propõe a realização do seguinte protocolo de Regeneração Endodôntica: na primeira consulta, realiza-se o consentimento informado, com a explicação dos riscos e tratamentos alternativos. O isolamento absoluto é realizado, após uma adequada anestesia local ser administrada. Realiza-se o acesso aos canais, determinando-se o CT radiograficamente, posicionando uma lima a 1mm do fim da raiz. Irrigação com NaOCl a 1,5% (20 ml/canal durante 5 minutos), seguida de irrigação com EDTA a 17% (20 ml/canal durante 5 minutos), com a agulha de irrigação posicionada a cerca de 1mm do fim da raiz. De seguida, com cones de papel, secam-se os canais radiculares e coloca-se o Ca(OH)₂ ou a pasta antibiótica, em concentrações inferiores a 1 mg/ml. A cavidade de acesso é restaurada, temporariamente (Diogenes *et al.*, 2014).

Numa segunda visita, após 2-4 semanas da primeira consulta, um cuidado exame para determinar a presença de sensibilidade moderada ou severa à palpação e precursão deve ser realizado. Caso seja detetado algum sinal de sensibilidade, fístula ou edema, o tratamento realizado na primeira consulta deve ser repetido. No entanto, neste panorama, deve ser escolhido o uso de TAP. Após anestésiar com mepivacaína a 3%, realiza-se o isolamento absoluto. Segue-se o acesso aos canais com a remoção da medicação intracanal, irrigando-se com EDTA a 17% durante 10 minutos (30 ml/canal). Após a secagem com os cones de papel, passa-se para a indução do sangramento, com uma lima K25 pré-curvada que passa 2 mm do foramén apical, com o objetivo do sangue se espalhar por todo o sistema de canais, até à junção amelocementária. Uma vez o coágulo sanguíneo formado, um pouco de collaplug pré-medido é colocado sobre o coágulo, para servir como matriz para a posicionar, aproximadamente, 3 mm de MTA branco. Uma camada de 3-4 mm de ionómero de vidro é colocada sobre o MTA e fotopolimerizada durante 40 segundos. Passa-se para a restauração a compósito e o caso é examinado aos 3 meses, 6 meses e anualmente, durante 4 anos (Diogenes *et al.*, 2014).

Os testes de vitalidade podem ser considerados subjetivos. No entanto, as evidências radiográficas falam por si (Simon, 2014).

III – Conclusão

Ao realizar uma análise cuidada da presente pesquisa é possível concluir que, o clínico, perante uma situação de realização de terapia regeneradora, tem que estar ciente das suas limitações. Dado o carácter sensível desta técnica, torna-se fundamental que o médico dentista não só possua destreza e habilidade técnicas suficientes como também domine conhecimentos sobre diversas temáticas, nomeadamente, anatomia dentária e pulpar, virtudes/limitações da técnica, protocolo clínico mais indicado e instrumentos e materiais necessários.

O objetivo mais proeminente da Endodontia Regeneradora passa pela total restauração da função dentária. As terapias que utilizam células estaminais resultam num tecido bem vascularizado e inervado, numa matriz extracelular idêntica à polpa dentária (quer a nível de densidade, quer a nível de arquitetura) e numa regeneração da função. Para a obtenção do sucesso de regeneração do complexo dentino-pulpar, as células estaminais devem estar sujeitas às melhores condições possíveis.

As técnicas regenerativas são, neste momento, dirigidas a dentes imaturos permanentes. Contudo, no futuro, está aberta a possibilidade de extensão destes conhecimentos a dentes maduros jovens. Apesar de ser uma promessa na área endodôntica, a Endodontia Regeneradora ainda apresenta muitas limitações, fracassos e casos de reinfeção e a sua taxa de sucesso é relativamente baixa.

Esta nova técnica aparenta vir a ser uma boa ferramenta clínica e antevê-se uma potencial opção com perspectivas promissoras. No entanto, conclui-se que mais estudos clínicos deverão ser efetuados, com vista a proporcionar um melhor entendimento sobre este tipo de terapia, para assim se desenvolverem métodos que consigam ultrapassar as presentes dificuldades, que tornam a Endodontia Regeneradora tão controversa e imprevisível.

Os anos vindouros serão fundamentais para o desenvolvimento desta área.

IV – Bibliografia

Aksel, H. e Serper, A. (2014). Recent considerations in regenerative endodontic treatment approaches. *Journal of Dental Sciences*, 9, pp. 207-213.

Alobaid, A. *et al.* (2014). Radiographic and Clinical Outcomes of the Treatment of Immature Permanent Teeth by Revascularization or Apexification: A Pilot Retrospective Cohort Study. *Journal of Endodontics*, 40(8), pp. 1063-1070.

Althumairy, R., Teixeira, F., e Diogenes, A. (2014). Effect of Dentin Conditioning with Intracanal Medicaments on Survival of Stem Cells of Apical Papilla. *Journal of Endodontics*, 40(4), pp. 521-525.

Andreasen, O. (2012). Pulp and periodontal tissue repair – regeneration or tissue metaplasia after dental trauma. A review. *Dental Traumatology*, 28, pp. 19-24.

Berkhoff, J. *et al.* (2014). Evaluation of Triple Antibiotic Paste Removal by Different Irrigation Procedures. *Journal of Endodontics*, 40(8), pp. 1172-1177.

Cehreli, Z. *et al.* (2011). Regenerative Endodontic Treatment (Revascularization) of Immature Necrotic Molars Medicated with Calcium Hydroxide: A Case Series. *Journal of Endodontics*, 37(9), pp. 1327-1330.

Chandra, B. e Krishna, V. (2010). Diseases of the Dental Pulp In: Chandra, B. e Krishna, V. *Grossman's Endodontic Practice*. 12 ed. New Delhi: Wolters Kluwer Health, pp. 74-96.

Chandra, B. e Krishna, V. (2010). The Dental Pulp and Periradicular Tissues In: Chandra, B. e Krishna, V. *Grossman's Endodontic Practice*. 12 ed. New Delhi: Wolters Kluwer Health, pp. 1-42.

Chmilewsky, F. *et al.* (2014). Sources of Dentin-Pulp Regeneration Signals and Their Modulation by the Local Microenvironment. *Journal of Endodontics*, 40(4), pp. S19-S25.

Colombo, J. *et al.* (2014). Scaffolds to Control Inflammation and Facilitate Dental Pulp Regeneration. *Journal of Endodontics*, 40(4S), pp. S6-S12.

DClinDent, B. *et al.* (2014). Revascularization Outcomes: A Prospective Analysis of 16 Consecutive Cases. *Journal of Endodontics*, 40(3), pp. 333-338.

Demarco, F. *et al.* (2011). Dental Pulp Tissue Engineering. *Braz Dent J*, 22(1), pp. 3-14.

Dimitrova-Nakov, S. *et al.* (2014). Pulp Stem Cells: Implication in Reparative Dentin Formation. *Journal of Endodontics*, 40(4S), pp. S13-S18.

Diogenes, A. *et al.* (2014). Translation Science in Disinfection for Regenerative Endodontics. *Journal of Endodontics*, 40(4S), pp. S52- S57.

El Karim, I. *et al.* (2009). Neuropeptides Regulate Expression of Angiogenic Growth Factors in Human Dental Pulp Fibroblasts. *Journal of Endodontics*, 35(6), pp. 829-833.

Fouad, A. e Levin, L. (2011). Pulpal Reactions to Caries and Dental Procedures In: Hargreaves, K. e Cohen, S. *Cohen's Pathways of the Pulp*. 10 ed. St Louis, Missouri: Mosby/Elsevier, pp. 504-528.

Fouad, A. e Verma, P. (2014). Healing after Regenerative Procedures with and without Pulpal Infection. *Journal of Endodontics*, 40(4S), pp. S58-S64.

Galler, K. *et al.* (2011). Dentin Conditioning Codetermines Cell Fate in Regenerative Endodontics. *Journal of Endodontics*, 37(11), pp. 1536-1541.

Goldberg, M. e Schmalz, G. (2011). Toward a strategic plan for pulp healing: from repair to regeneration. *Clin Oral Invest*, 15, pp. 1-2.

Hargreaves, K. e Law, A. (2011). Regenerative Endodontics In Hargreaves, K. e Cohen, S. *Cohen's Pathways of the Pulp*. 10ed. St. Louis, Missouri: Mosby/Elsevier, pp. 602-636.

Hargreaves, K., Diogenes, A. e Teixeira, F. (2013). Treatment Options: Biological Basis of Regenerative Endodontic Procedures. *Journal of Endodontics*, 39(3S), pp. S30-S43.

Hargreaves, K., Diogenes, A. e Teixeira, F. (2014). Paradigm Lost: A Perspective on the Design and Interpretation of Regenerative Endodontic Research. *Journal of Endodontics*, 40(4S), pp. S65-S69.

Holland, G. e Torabinejad, M. (2010). A Polpa Dental e os Tecidos Perirradiculares In Torabinejad, M. e Walton, R. *Endodontia – princípios e prática*. 4ed. Elsevier, pp. 1-20.

Hui, T. *et al.* (2014). EZH2, a Potential Regulator of Dental Pulp Inflammation and Regeneration. *Journal of Endodontics*, 40(8), pp. 1132-1138.

Kim, S. *et al.* (2012). Regenerative Endodontics: Barriers and Strategies for Clinical Translation. *Dent Clin North Am*, 56(3), pp. 639-649.

Kontakiotis, E. *et al.* (2015). Regenerative Endodontic Therapy: A Data Analysis of Clinical Protocols. *Journal of Endodontics*, 41(2), pp. 146-154.

Kontakiotis, E., Filippatos, C. e Agrafioti, A. (2014). Levels of Evidence for the Outcome of Regenerative Endodontic Therapy. *Journal of Endodontics*, 40(8), pp. 1045-1053.

Koyuncuoglu, G. *et al.* (2013). Management of open apices in thirteen traumatized permanent incisors using mineral trioxide aggregate: Case series. *Pediatric Dental Journal*, 23, pp. 51-56.

Lee, L. *et al.* (2014). Comparison of clinical outcomes for 40 necrotic immature permanent incisors treated with calcium hydroxide or mineral trioxide aggregate

apexification/apexogenesis. *Journal of the Formosan Medical Association*, 114, pp. 139-146.

Lovelace, T. *et al.* (2011). 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*, 37(2), pp. 133-138.

Murray, P. (2015). Treatments for Traumatized and Diseased Immature Teeth: Pulpotomy, Cvek Partial Pulpotomy, Apexification, Apexogenesis, and Regenerative Endodontics In Murray, P. *A Concise Guide to Endodontic Procedures*. 1ed. FL, USA: Springer, pp. 73-94.

Nagy, M. *et al.* (2014). Regenerative Potential of Immature Permanent Teeth with Necrotic Pulps after Different Regenerative Protocols. *Journal of Endodontics*, 40(2), pp. 192-198.

Nakashima, M. e Iohara, K. (2014). Mobilized Dental Pulp Stem Cells for Pulp Regeneration: Initiation of Clinical Trial. *Journal of Endodontics*, 40(4S), pp. S26-S32.

Nosrat, A., Homayounfar, N., e Oloomi, K. (2012). Drawbacks and Unfavorable Outcomes of Regenerative Endodontic Treatments of Necrotic Immature Teeth: A Literature Review and Report of a Case. *Journal of Endodontics*, 38(10), pp. 1428-1434.

Paranjpe, A. *et al.* (2011). Direct Contact with Mineral Trioxide Aggregate Activates and Differentiates Human Dental Pulp Cells. *Journal of Endodontics*, 37(12), pp. 1691-1695.

Paryani, K. e Kim, S. (2013). Regenerative Endodontic Treatment of Permanent Teeth after Completion of Root Development: A Report of 2 Cases. *Journal of Endodontics*, 39(7), pp. 929-934.

Phumpatrakom, P. e Srisuwan, T. (2014). Regenerative Capacity of Human Dental Pulp and Apical Papilla Cells after Treatment with a 3-Antibiotic Mixture. *Journal of Endodontics*, 40(3), pp. 399-405.

Raji, V., Karunakar, P. e Madhavi, N. (2013). Mineral trioxide aggregate in management of immature teeth with open apices – A report of clinical cases. *Journal of Pierre Fauchard Academy*, 27, pp. 2-8.

Ricucci, D. *et al.* (2014). Is hard tissue formation in the dental pulp after the death of the primary odontoblasts a regenerative or a reparative process?. *Journal of Dentistry*, 42, pp. 1156-1170.

Ruparel, N. *et al.* (2013). Characterization of a Stem Cell of Apical Papilla Cell Line: Effect of Passage on Cellular Phenotype. *Journal of Endodontics*, 39(3), pp. 357-363.

Saghiri, M. *et al.* (2015). Role of Angiogenesis in Endodontics: Contributions of Stem Cells and Proangiogenic and Antiangiogenic Factors to Dental Pulp Regeneration. *Journal of Endodontics*, 41(6), pp. 1-7.

Saoud, T. *et al.* (2014). Clinical and Radiographic Outcomes of Traumatized Immature Permanent Necrotic Teeth after Revascularization/Revitalization Therapy. *Journal of Endodontics*, 40(12), pp. 1946-1952.

Schmalz, G. e Smith, A. (2014). Pulp Development, Repair, and Regeneration: Challenges of the Transition from Traditional Dentistry to Biologically Based Therapies. *Journal of Endodontics*, 40(4S), pp. S2-S5.

Simon, S., Tomson, P. e Berdal, A. (2014). Regenerative Endodontics: Regeneration or Repair?. *Journal of Endodontics*, 40(4), pp. S70-S75.

Smith, A. (2012). Formation and Repair of Dentin in the Adult In: Hargreaves, K., Goodis, H. e Tay, F. *Seltzer and Bender's Dental Pulp*. 2 ed. Carol Stream, Illinois: Quintessence Publishing, pp. 61-96.