

Francesco Palma

Revascularização pulpar

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2019

Francesco Palma

Revascularização pulpar

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2019

Francesco Palma

Revascularização pulpar

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

Resumo

Diversos tratamentos foram propostos para o tratamento de dentes permanentes imaturos com polpa comprometida, incluindo apexificação com Ca(OH)_2 ou de criação de uma barreira apical com MTA. Contudo, estes não permitem a continuação do desenvolvimento radicular. A revascularização pulpar permite o espessamento da dentina radicular e o estabelecimento de uma correta morfologia apical, assim sendo, tornou-se parte dos tratamentos endodônticos em caso de dentes permanentes imaturos com polpa comprometida. No entanto, as análises histológicas sugerem que são necessários mais estudos para melhorar a previsibilidade dos resultados e para entender a fundo as interações biológicas entre células estaminais, *scaffolds* e fatores de crescimento.

O objetivo deste trabalho é a avaliar o estado do conhecimento atual, entender as limitações e avaliar qual o melhor protocolo clínico.

Na realização desta revisão narrativa foi efetuada uma pesquisa bibliográfica utilizando as bases de dados online *Pubmed* e *Google Scholar* incluindo apenas publicações de língua inglesa.

Palavras-chave: revascularização pulpar, células estaminais, endodontia regeneradora

Abstract

Several treatments have been proposed to treat irreversibly damaged pulp of immature permanent teeth, including apexification with Ca(OH)₂ or creation of an apical plug of MTA. However, they don't promote root development. Pulp revascularization promotes root dentin thickening and the establishment of a correct apical morphology, thus, it becomes part of the spectrum of endodontic treatments for irreversibly damaged pulp of immature permanent teeth. However, histological analysis suggest that further studies are needed to improve the predictability of results and to understand better the biological interactions between stem cells, scaffolds and growth factors. The objective of this study is to evaluate the current state of knowledge, to understand the limitations of the technique, and to determine the best clinical protocol. To realize this narrative review, was carried out a bibliographical research using the online databases "Pubmed" and "Google Scholar" including only publications in English language.

Keywords: *Pulp revascularization, Stem cells, Regenerative endodontics.*

Dedicatória

À minha família.

Agradecimentos

Antes de tudo agradeço à minha orientadora Mestre Alexandra Martins pela disponibilidade e pelo apoio na realização deste trabalho.

Aos professores da Universidade Fernando Pessoa, que contribuíram a minha formação.

Aos meus amigos.

A todos os colegas que fizeram parte deste caminho, foram cinco anos inesquecíveis.

À minha família, que foi sempre presente mesmo a mais de dois mil quilómetros de distância e que permitiu a realização deste sonho, nunca vou parar de vos agradecer. Obrigado.

Índice Geral

Índice de abreviaturas	X
Índice de anexos	XI
I – Introdução	1
1 – Materiais e métodos	1
II – Desenvolvimento	2
1 – O complexo pulpo-dentinário	2
1.1 – As células estaminais	2
1.2 –Fatores de crescimento e angiogénese	4
2 – O conceito atual de revascularização pulpar	5
2.1 – Mecanismos fisiológicos à base da revascularização	6
3 – Passos clínicos	7
3.1 – Desinfecção	7
3.2 – <i>Scaffolds</i>	8
3.3 – Selamento coronal	10
4 – Limitações comuns	10
5 – Histologia dos tecidos regenerados	11
III – Discussão	13
IV – Conclusão	15
V – Bibliografia	16
VI – Anexos	19

Índice de abreviaturas

BMSCs – células estaminais da medula óssea

Ca(OH)₂ - Hidróxido de cálcio

CEJ - linha amelocimentária

DPSCs – células estaminais da polpa dentaria

EDTA- ácido etilenodiaminotetracético

FGF – fator de crescimento de fibroblastos

MSCs – células estaminais mesenquimatosas

MTA – mineral trioxide aggregate

NaOCl – hipoclorito de sódio

PDGF – fator de crescimento derivado de plaquetas

PDLSCs – células estaminais do ligamento periodontal

PGA - ácido poli-glicólico

PLL - ácido poli-L-lático

PRF – plasma rico em fibrina

PRP – plasma rico em plaquetas

SCAPs – células estaminais da papila apical

SHEDs – células estaminais de dentes decíduos esfoliados

SNTSCs – células estaminais de dentes supranumerários

TAP - pasta antibiótica tripla

TGF-β - fator de transformação de crescimento bete

VEGF – fator de crescimento do vascular endotelial

Índice de Anexos

Tabela n. 1	19
-------------------	----

I – Introdução

O completo desenvolvimento radicular de um dente permanente demora entre 1 a 4 anos após a sua erupção. Se durante este intervalo de tempo, em que o dente é considerado imaturo, ocorrerem danos pulpare irreversíveis, causados por trauma, infecções ou anomalias dentárias como o *dens invaginatus*, o normal desenvolvimento dentário seria afetado resultando numa rizogênese incompleta ou na perda prematura do elemento dentário (Chen *et al.*, 2015). Diversos tratamentos foram propostos para o tratamento de dentes permanentes imaturos com polpa comprometida, incluindo a técnica de apexificação com Hidróxido de cálcio (Ca(OH)₂) ou de criação de uma barreira apical com Mineral Trioxide Aggregate (MTA) (Wigler *et al.*, 2013). Apesar destes terem uma elevada taxa de sucesso na formação de uma barreira apical e na resolução da patologia apical, apresentam algumas desvantagens, como a permanência de paredes radiculares curtas e finas, uma vez que não permitem a continuação do desenvolvimento radicular (Aly *et al.*, 2019). Face a estas considerações, a inclusão da apexificação em protocolos de tratamento futuros parece questionável. Os tratamentos endodônticos regeneradores são considerados uma válida alternativa terapêutica no tratamento de dentes permanentes imaturos necróticos (Antunes *et al.*, 2015). A deposição de tecido duro no processo de revascularização pulpar favorece o espessamento da dentina radicular, permitindo uma continuação do desenvolvimento radicular e o estabelecimento de uma correta morfologia apical. Tudo isto reforça a integridade e a resistência mecânica das raízes dentárias (Antunes *et al.*, 2015; Aly *et al.*, 2019).

Com a realização desta revisão bibliográfica pretende-se avaliar qual o estado do conhecimento atual e quais as limitações da técnica de revascularização pulpar. Pretende-se, também, apurar qual o melhor protocolo clínico.

1 - Materiais e métodos

Para a realização desta revisão narrativa da literatura foi realizada uma pesquisa bibliográfica utilizando as bases de dados online *Pubmed* e *Google Scholar* entre janeiro e maio do presente ano académico. As palavras chave utilizadas foram “*Pulp revascularization*”, “*Stem cells*” e “*Regenerative endodontics*”. Quanto à escolha dos artigos, apenas foram incluídas publicações de língua inglesa, divulgados entre o 2008 e o 2019, com algumas exceções. Foi também consultado um livro disponível na biblioteca da Universidade Fernando Pessoa.

II – Desenvolvimento

1 - O Complexo pulpo-dentinário

A polpa e a dentina funcionam como uma unidade, e os odontoblastos representam o elemento crucial neste sistema. A polpa dentária é um tecido altamente vascularizado e innervado, cuja função principal é a produção de dentina, incluindo dentina primária, secundária e terciária. Este tecido também fornece nutrientes à dentina e atua como biossensor para detectar estímulos perigosos. Os odontoblastos, organizados numa fina camada na periferia do tecido pulpar, são células especializadas capazes sintetizar a dentina (Hargreaves, 2016; Zhang e Yelick, 2010).

Anatomicamente, a polpa é praticamente circundada por tecido duro. A única via de comunicação entre a câmara pulpar e os tecidos circundantes são os canais radiculares e os ápices radiculares. Assim, todos os vasos sanguíneos e linfáticos principais passam através do ápice radicular, fornecendo nutrientes e permitindo troca de resíduos metabólicos (Zhang e Yelick, 2010). A limitada acessibilidade a este meio dificulta a eliminação de inflamações, uma vez ocorrida. A manutenção da função pulpar é crítica para a homeostasia do dente. A perda da polpa é frequentemente seguida de fratura dentária e/ou doença periodontal, culminando na perda do elemento dentário. (Tatullo *et al.*, 2015; Zhang e Yelick, 2010)

A polpa danificada possui um potencial limitado para a sua reparação. Em caso de estímulos muito fortes e/ou em progressão rápida, como acontece em cáries profundas, abrasões severas, e fraturas, os odontoblastos primários seriam destruídos. Em seguida, as células mesenquimatosas indiferenciadas que se encontram no tecido pulpar, podem diferenciar-se em odontoblastos formando dentina de reparação. As células mesenquimatosas indiferenciadas da polpa dispõem também da capacidade de diferenciação em outros tipos de células, incluindo fibroblastos, para reparar o tecido mole danificado. A habilidade no estimular as células estaminais em diferenciar-se em células semelhantes a odontoblastos, é crítica na reparação da dentina (Zhang e Yelick, 2010).

1.1 – As Células estaminais

A literatura reporta a existência de três tipos de células estaminais, divididas em três categorias principais: as células estaminais embrionárias, as células estaminais pluripotentes induzidas e as células estaminais adultas. Destas, só as células estaminais adultas são consideradas uma

alternativa válida, em particular as células estaminais mesenquimatosas, as quais demonstraram uma extraordinária capacidade de poderem dar origem a diferentes tipos de células mesodérmicas (Silva *et al.*, 2016).

Há mais de uma década atrás, Gronthos *et al.* (2000) demonstraram a existência de células estaminais mesenquimatosas no tecido pulpar. Estas células progenitoras, designadas células estaminais da polpa dentária (DPSCs), são pluripotentes, ou seja, possuem a capacidade de se diferenciar em inúmeros tipos celulares, nomeadamente odontoblastos, osteoblastos e condroblastos (Gronthos *et al.*, 2000; Bronckaers *et al.*, 2013).

Vários são os métodos de isolamento e expansão das DPSCs. O protocolo inicialmente proposto por Gronthos *et al.* (2000), usou terceiros molares impactados. Entretanto surgiu um outro protocolo usando dentes decíduos esfoliados como fonte de células estaminais; estas conhecidas como células estaminais de dentes decíduos esfoliados (SHEDs) (Tatullo *et al.*, 2015). Huang *et al.* (2008) relataram a possibilidade de isolamento de células de dentes supranumerários (SNTSCs).

Uma importante característica das DPSCs é a capacidade para se diferenciarem em odontoblastos com estabilidade, sendo assim menos propensa a formação de teratomas (Silva *et al.*, 2016). Vários estudos indicaram que as DPSCs também possuem potencial angiogénico *in vivo* (Bronckaers *et al.*, 2013).

Nos tecidos orais foram identificadas diferentes populações de células estaminais adultas, mas as que parecem ter mais relevância no processo de revascularização são as células estaminais da papila apical (SCAPs), as células estaminais do ligamento periodontal (PDLSCs), as células estaminais da medula óssea (BMSCs) e as DPSCs (Hargreaves, 2016). No desenvolvimento radicular em dentes permanentes imaturos, foi demonstrado que as SCAPs podem diferenciar-se em odontoblastos, os quais depositam a dentina responsável pelo crescimento fisiológico das raízes dentárias (Sonoyama *et al.*, 2008).

Entre as células envolvidas no processo de revascularização, as DPSCs parecem desempenhar tarefas importantes, dada a sua capacidade de diferenciação em células responsáveis pelo crescimento radicular e angiogénese. Autorrenovação e elevada taxa de proliferação são algumas das características que tornam estas células fundamentais na regeneração pulpar (Araújo *et al.*, 2016).

1.2 – Fatores de crescimento e angiogénese

No coágulo sanguíneo criado no protocolo de revascularização e na própria matriz da dentina, estão presentes fatores de crescimento como fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), fator de crescimento de fibroblastos (FGF), fator de transformação de crescimento beta (TGF- β), e fator de crescimento semelhantes à insulina (IGF) (Jung *et al.*, 2019). Estes, são um extenso grupo de proteínas que, ligando-se aos recetores celulares, promovem várias funções, entre as quais vasculogénese, angiogénese e promoção da proliferação e diferenciação dos odontoblastos e das DPSCs e das SCAPs (Zhang e Yelick, 2010; Jung *et al.*, 2019). A angiogénese é o mecanismo de crescimento de novos capilares a partir dos vasos já existentes (Carmeliet, 2000 *cit. in* Hilkens *et al.* 2014). As células estaminais contribuem para a formação de novos vasos de duas formas distintas: por efeito parácrino, segregando fatores pro-angiogénicos, ou por diferenciação própria em células endoteliais. No que concerne ao mecanismo parácrino, foi demonstrado que as DPSCs segregam vários fatores pro-angiogénicos como VEGF, PDGF e FGF. A expressão destas proteínas resultou num aumento após lesão e situações de hipóxia (Bronckaers *et al.*, 2013). O VEGF promove o crescimento dos vasos sanguíneos, a neurogénese e a neuroprotecção (Nageh *et al.*, 2018). A angiogénese é um processo indispensável na regeneração pulpar. A sobrevivência do tecido pulpar vital e do tecido formado após a regeneração pulpar estão estritamente ligados à formação de novos vasos nos sítios de intervenção (Saghiri *et al.*, 2015).

Durante o processo de aposição da dentina primária, os odontoblastos segregam alguns fatores de crescimento que durante a fase de mineralização permanecem fossilizados no tecido inorgânico da dentina (Hargreaves, 2016). Contudo, estes fatores de crescimento podem tornar-se solúveis depois da desmineralização da matriz dentinária. A desmineralização pode acontecer por ação dos ácidos produzidos por bactérias cariogénicas ou por ação de alguns materiais como ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), MTA ou Biodentine[®], que são usados no protocolo de revascularização pulpar (Smith *et al.*, 2008 *cit. in* Hargreaves 2016; Tomson *et al.*, 2007 *cit. in* Hargreaves 2016).

2 - Conceito atual de revascularização pulpar

A necrose pulpar nos dentes imaturos pode ser devida a trauma, cáries, ou alterações anatómicas como *dens evaginatus* e *dens invaginatus* (Galler *et al.*, 2016). De acordo com Diogenes *et al.* (2016), o trauma dentário tem uma incidência que varia desde 2.6% até 35% em pacientes em

desenvolvimento cranioesquelético. Sendo que o desenvolvimento radicular demora de 1 a 4 anos para se completar (Chen *et al.*, 2015), em muitos casos o trauma causa o bloqueio do crescimento radicular. Quase metade destes dentes traumatizados, pode desenvolver necrose, mas só em 8.5% dos casos podem ocorrer sinais e sintomas patológicos, como dor, periodontite apical e descoloração. *Dens evaginatus* e *dens invaginatus* são considerados as anomalias dentárias mais comuns na etiologia da necrose pulpar nos dentes permanentes imaturos (Shah *et al.*, 2008; Diogenes *et al.*, 2013).

A apexificação é o tratamento recomendado nos casos de dentes permanentes imaturos com polpa comprometida. A criação duma barreira apical pode ser induzida através do uso de Ca(OH)_2 ou diretamente constituída com o uso de MTA (Chen *et al.*, 2015). O Ca(OH)_2 , em aplicações periódicas, promove a deposição de tecido mineralizado até formar uma barreira apical (Galler *et al.*, 2016; Araújo *et al.*, 2016). Recentemente, foi concebido o conceito de revascularização pulpar como alternativa à apexificação no tratamento de dentes permanentes imaturos com polpa comprometida, sendo que esta técnica possui o potencial para promover uma continuação no crescimento radicular (Chen *et al.*, 2015).

A revascularização pulpar tem como principal objetivo a reposição de tecido da dentina radicular e de células do complexo pulpo-dentinário, permitindo a função normal da polpa e a continuação do crescimento radicular. Para alcançar estes objetivos são necessários três princípios da endodontia regeneradora: células estaminais, fatores de crescimento e *scaffolds* (Jung *et al.*, 2019).

Outras das vantagens relacionadas com a técnica de revascularização pulpar são, restabelecimento da vitalidade pulpar e da resposta imunitária contra as agressões bacterianas e toxinas, assim como da percepção da dor, formação de dentina reacional e reparadora, e sobretudo a continuação do desenvolvimento radicular (El Ashiry *et al.*, 2016; Galler, 2016).

A revascularização pulpar tornou-se assim parte do espectro dos tratamentos endodônticos em caso de dentes permanentes imaturos com polpa comprometida, e pode ser considerada uma válida alternativa aos tratamentos endodônticos tradicionais (Galler *et al.*, 2016).

2.1 – O mecanismo da revascularização

O sucesso no processo de revascularização é alcançado através da remoção do tecido pulpar recorrendo a medicação. Contudo, os eventos celulares implícitos nesta técnica ainda não são completamente conhecidos (Wigler *et al.*, 2013).

É possível que algumas células pulpares permaneçam vitais na parte mais apical do canal radicular (Banchs e Trope, 2004). Estas células podem proliferar e diferenciarem-se em odontoblastos sob a influência das células da bainha epitelial de Hertwig, as quais são muito resistentes mesmo em presença de lesões perirradiculares (Shah *et al.*, 2008; Galler, 2016). Os odontoblastos recém-formados podem desta forma estender a formação de dentina atubular no sentido apical e no sentido lateral, reforçando a raiz (Shah *et al.*, 2008).

Uma outra origem de células estaminais é a polpa dentária. Mesmo em dentes adultos com formação radicular completa, está presente uma pequena percentagem de células estaminais pluripotentes (Gronthos *et al.*, 2002 *cit in.* Shah *et al.* 2008). Estas células estão localizadas no nicho perivascular dos vasos sanguíneos e são capazes de se diferenciar em diferentes tipos celulares envolvidos no *turnover* tecidular (Shah *et al.*, 2008; Galler, 2016).

O terceiro mecanismo pode ser atribuído à presença de PDLSCs (Nageh *et al.*, 2018), capazes de proliferar e crescer na constrição apical e nas paredes radiculares laterais. Este fenómeno pode ser demonstrado pela presença de fibras de Sharpey no tecido neoformado (Shah *et al.*, 2008).

O quarto possível mecanismo de desenvolvimento radicular, pode ser atribuído às BMSCs ou às SCAPs. A indução do sangramento por sobre-instrumentação favorece a entrada de células estaminais mesenquimatosas (MSCs) no canal. Estas células estão localizadas no nicho perivascular da lesão perirradicular, e possuem uma ampla capacidade de proliferação e diferenciação (Galler, 2016; Shah *et al.*, 2008).

Um outro possível mecanismo poderia ser o próprio coágulo sanguíneo. Este, sendo rico em fatores de crescimento poderia desempenhar um papel importante na revascularização pulpar. Os fatores de crescimento, incluem PDGF, VEGF, fator de crescimento epitelial derivado de plaquetas e fator de crescimento de tecidos (Shah *et al.*, 2008).

3 – Passos clínicos

3.1 – Desinfecção

A resolução da infecção e do processo patológico permanece como objetivo primário de cada tratamento endodôntico. Contudo, a filosofia de desinfecção adotada nos tratamentos convencionais deve ser alterada e adaptada às necessidades biológicas requeridas nos protocolos de revascularização (Diogenes *et al.*, 2016).

Na maioria dos protocolos de revascularização pulpar os autores optam por utilizar uma instrumentação mínima; a decisão deve ser tomada individualmente dependendo de vários fatores: espessura das paredes radiculares, presença de tecido vital ou necrótico, e duração da infecção (Galler, 2016; Diogenes *et al.*, 2016).

Um outro grande obstáculo a ultrapassar, é a tentativa de encontrar um equilíbrio entre uma adequada desinfecção e uma sobrevivência, proliferação e diferenciação das células estaminais (Diogenes *et al.*, 2016). O hipoclorito de sódio (NaOCl) é o irrigante mais usado nos procedimentos endodônticos tradicionais e de regeneração. Este, possui propriedades diferentes, incluindo uma excelente eficácia bactericida, capacidade de dissolução de tecido orgânico, e uma eficaz lubrificação dos instrumentos endodônticos (Diogenes *et al.*, 2014).

A percentagem de concentração de NaOCl usada nos tratamentos radiculares varia entre o 0,5% até o 6%. Contudo, existe uma relação indiretamente proporcional entre potencia de desinfecção e citotoxicidade. Estudos demonstraram que entre o 0,5% e o 3% o NaOCl diminui a viabilidade celular até 60%, enquanto que o NaOCl a 6% reduz o número de células abaixo de 20% e limita a diferenciação celular (Martin *et al.*, 2013; Galler, 2016; Diogenes *et al.*, 2014). Este efeito deletério pode ser minimizado usando uma concentração de 1,5% de NaOCl seguido de uma concentração de 17% de EDTA. Foi demonstrado que uma irrigação com EDTA 17% seguida de uma irrigação com solução salina e ativação ultrassônica, promove a libertação de fatores de crescimento presentes na dentina por desmineralização; estes são conhecidos por participar ativamente no processo de reparação, estimulando a angiogénese e a diferenciação, proliferação e migração das células estaminais (Diogenes *et al.*, 2016; Widbiller *et al.*, 2017).

A irrigação com clorexidina não é aconselhada, sendo que esta pode ter efeitos citotóxicos nas células estaminais (Trevino *et al.*, 2011).

Após a irrigação do canal radicular, este deve ser seco com cones de papel estéreis de grande diâmetro. De seguida a medicação pode ser aplicada com duas substâncias distintas, cada uma capaz de levar a um resultado diferente (Wigler *et al.*, 2013).

Uma equipa guiada por Hoshino desenvolveu uma pasta antibiótica composta por minociclina, ciprofloxacina e metronidazol. A combinação destes três antibióticos com água, solução salina, ou propilenoglicol é conhecida como pasta antibiótica tripla (TAP) (Hoshino *et al.*, 1996 *cit in.* Diogenes *et al.* 2013)

Em altas concentrações, a TAP parece ter efeito negativo nas células estaminais, seja direta ou indiretamente (Althumairy *et al.*, 2014; Diogenes *et al.*, 2016). Este efeito colateral pode ser contornado diminuindo a concentração antibiótica total por volta de 1-5 mg/mL, com proporção 1:1:1 de cada antibiótico (American Association of Endodontists, 2018), ou então recorrendo ao uso do Ca(OH)₂ como medicação intracanal (Galler *et al.*, 2016; Diogenes *et al.*, 2016). Apesar do Ca(OH)₂ parecer menos eficaz contra algumas bactérias comparativamente com a TAP, o seu uso é associado a uma menor citotoxicidade das células estaminais, à libertação de fatores de crescimento, bem como a uma maior sobrevivência e proliferação de células estaminais na presença de dentina condicionada (Hargreaves, 2016).

Um outro fator a considerar na escolha da medicação intracanal, é a facilidade de remoção do canal radicular. Um estudo conduzido por Berkhoff *et al.* (2014) demonstrou que passados 28 dias após a aplicação dos medicamentos, mais de 80% da TAP não foi removida; por outro lado, mais do 80% do Ca(OH)₂ foi retirado. Isto assume uma particular relevância, sendo reconhecida a citotoxicidade da TAP contra as células estaminais (Berkhoff *et al.*, 2014; Hargreaves, 2016).

3.2 – Scaffolds

As *scaffolds* são usadas nos procedimentos de regeneração para proporcionar uma estrutura tridimensional através da qual as células estaminais e os fatores de crescimento podem interagir, crescer, e ser distribuídos corretamente de maneira tridimensional. A esta matriz, podem ser adicionadas uma variedade de substâncias incluindo fatores que facilitam o metabolismo e secreção de metabolitos, bem como fatores de crescimento e de diferenciação celular (Wigler *et al.*, 2013; Hargreaves, 2016). Deste modo, uma *scaffold* pode ser considerada um elemento fundamental no processo de regeneração (Hargreaves, 2016).

De acordo com Bansal *et al.* (2014) as *scaffolds* podem ser classificados em três tipos principais: 1) *Scaffolds* naturais, constituídas por colagénio e glicosaminoglicano; 2) *Scaffolds* sintéticos, ácido poli-L-lático (PLL), ácido poli-glicólico (PGA), copolímeros de PLL e PGA, e poli(ácido lático-co-ácido glicólico); 3) *Scaffolds* minerais, constituídas por hidroxiapatite e fosfato de cálcio.

A maioria dos estudos regenerativos recentemente publicados envolvem a estimulação do sangramento no interior do canal de maneira a promover a formação de um coágulo sanguíneo, o qual pode também ser considerado uma *scaffold* (Diogenes *et al.*, 2016). Este, por vezes é difícil de obter e não inclui muitas das características de uma *scaffold* ideal. Por outro lado, um coágulo sanguíneo estável fornece fatores que estimulam o crescimento celular e outros fatores que estimulam diferenciação celular em células semelhantes a odontoblastos (Wigler *et al.*, 2013).

A própria condução de sangue no canal radicular resulta numa propagação de MSCs e SCAPs no interior do canal (Lovelace *et al.*, 2011; Jung *et al.*, 2019) e é uma rica fonte em fatores de crescimento (Shah *et al.*, 2008).

O protocolo sugerido inicia-se com a inserção de uma lima K-file no interior do canal com comprimento que ultrapasse em 2mm o ápice radicular, de modo a provocar um sangramento até 3 mm abaixo da linha amelocimentária (CEJ); é aconselhado o uso de mepivacaína 3% sem vasoconstritor como anestético, de modo a não ter o efeito de vasoconstrição que poderia reduzir o sangramento desejado (Wigler *et al.*, 2013; Hargreaves, 2016).

O tempo médio para a formação do coágulo é cerca de 10-15 minutos. Depois, deve-se verificar a estabilidade do mesmo pressionando com um cone de papel estéril, e posteriormente aplicar o material designado para o selamento coronário (Galler, 2016; Wigler *et al.*, 2013).

Uma outra abordagem na criação das *scaffolds* envolve o uso de plasma rico em plaquetas (PRP) e plasma rico em fibrina (PRF). Os concentrados plaquetários possuem fatores de crescimento, estimulam a produção de colagénio, recrutam outras células no local da inflamação, produzem agentes anti-inflamatórios, induzem a diferenciação celular e melhoram o potencial curativo de tecidos duros e moles (Metlerska *et al.*, 2019). Apesar das vantagens descritas, muitos autores realçam que a realização de concentrados plaquetários requerem um equipamento especializado e que podem ser difíceis no caso de os pacientes serem crianças (Metlerska *et al.*, 2019).

3.3 – Selamento coronal

Uma vez assegurada a estabilidade e a posição do coágulo intracanal, 3 mm além da CEJ, o coágulo deve ser coberto por um material que seja biocompatível, assegure um selamento contra as bactérias e que possua capacidade de induzir mineralização tecidual. O MTA pode ser enquadrado como material ideal para cumprir os objetivos desejados (Galler, 2016). Se a estabilidade do coágulo não for suficiente, o MTA pode extravasar no interior do canal afetando a formação de novo tecido e causando também descoloração da coroa dentária. Portanto, alguns autores aconselham a colocação de matrizes colagêneas reabsorvíveis como *CollaPlug*[®] ou *CollaTape*[®] ou *CollaCote*[®] cortadas entre 2-3mm a mais do diâmetro do canal radicular na sua zona coronal. As matrizes devem ser posicionadas na parte superior do coágulo sanguíneo, de forma a permitir a sucessiva colocação do MTA (Hargreaves, 2016; Galler, 2016).

A Biodentina também é considerada uma alternativa válida ao MTA, uma vez que possui propriedades mecânicas muito similares à dentina humana e uma citotoxicidade muito baixa. Também devem ser tidos em conta, a manipulação relativamente simples, o baixo risco da descoloração da coroa dentária, bem como a sua condensação que pode ser realizada sem risco de extravasamento apical na zona do coágulo, ao contrário do MTA (Aly *et al.*, 2019; Hergreaves, 2016). Uma vez aplicado o MTA ou Biodentina, deve-se aplicar uma camada de 2-3mm de Ionómero de Vidro fotopolimerizável ou cimento de hidróxido de cálcio como restauração provisória (Galler *et al.*, 2016).

A *American Association of Endodontists* (2018) aconselha um follow-up aos 6, 12 e 24 meses, sendo que depois deste período deveria ser efetuado anualmente. Em caso de infecções bem instaladas aconselha-se um follow-up de 3 meses (Galler *et al.*, 2016). Os critérios de sucesso a avaliar no follow-up são agrupados em 3 fases: 1) objetivo primário, ou seja, a eliminação dos sintomas e a resolução da lesão apical; 2) objetivo secundário, ou seja, o aumento da espessura e/ou do comprimento radicular; 3) objetivo terciário, ou seja, resposta positiva aos testes de vitalidade pulpar, que em caso de ser positiva indica a presença de tecido vital pulpar melhor organizado (American Association of Endodontists, 2018).

4 – Limitações comuns

A técnica de revascularização pulpar é minimamente invasiva, mas a sua realização é tecnicamente desafiadora (Petrino *et al.*, 2010).

As limitações mais comuns incluem: dificuldade na estimulação do sangramento no interior do canal, deslocação apical do MTA e por fim descoloração da coroa dentária. O clínico deve ter em conta estas limitações no sentido de as poderem resolver adequadamente (Diogenes *et al.*, 2013).

As dificuldades ao provocar sangramento, encontram-se sobretudo nos estudos que utilizaram anestésicos locais com agentes vasoconstritores na sua composição; uma alternativa eficaz e segura é a utilização de mepivacaína 3% sem vasoconstritor, seguida da laceração da zona da papila apical com uma lima manual. Contudo, os clínicos devem ter cuidado ao efetuar os movimentos laterais de modo a não provocar danos na bainha epitelial de Hertwig que contem células que desempenham um papel fundamental no desenvolvimento radicular (Shah *et al.*, 2008; Diogenes *et al.*, 2013). Os danos na bainha epitelial de Hertwig podem ocorrer também devido ao trauma, periodontites apicais prolongadas ou abscessos. Sendo esta estrutura importante para a continuação do desenvolvimento radicular, os clínicos devem ter todos os cuidados necessários durante a estimulação do sangramento na ordem de minimizar potenciais lesões (Diogenes *et al.*, 2013).

A descoloração da coroa dentaria, é principalmente causada pela monocíclica, um dos três antibióticos constituintes da TAP, elaborada por Hoshino *et al.* (1996). Para contornar esta situação pode colocado adesivo na dentina da coroa dentaria, eliminação ou substituição da minociclina e por fim a utilização de Ca(OH)_2 como alternativa à TAP. A utilização de MTA pode também ser responsável da descoloração dentária (Diogenes *et al.*, 2013). O MTA deveria ser colocado na zona mais coronal do canal por forma de aumentar a espessura da dentina, diminuindo a suscetibilidade às fraturas desta área. Contudo, para contornar a descoloração da coroa dentaria, o MTA é frequentemente colocado abaixo da CEJ e no terço médio do canal radicular. A colocação de matrizes de colagénio acima do coágulo sanguíneo constitui uma matriz reabsorvível para o MTA e permite a sua manutenção ao nível desejado durante a aplicação (Hergreaves, 2016; Diogenes *et al.*, 2013).

5 - Histologia dos tecidos regenerados

A determinação da natureza histológica dos tecidos presentes nos dentes que foram tratados com a revascularização pulpar, requer a remoção do tecido presente no interior dos canais radiculares ou a própria extração do elemento dentário. A limitações ética quanto à realização

destes atos clínicos é óbvia, e comporta uma escassa quantidade de evidência científica (Torabinejad *et al.*, 2018; Lei *et al.*, 2015).

A literatura mostra-nos que a informação obtida nas análises histológicas das varias publicações é bastante divergente (Nageh *et al.*, 2018).

Alguns estudos relataram a presença de tecido mineralizado semelhante a osso ou cimento celular e acelular (Martin *et al.*, 2013; Becerra *et al.*, 2014; Nosrat *et al.*, 2015), tecido conectivo fibroso rico em fibroblastos (Becerra *et al.*, 2014, Nosrat *et al.*, 2015) e tecido semelhante a tecido periodontal (Nosrat *et al.*, 2015). Foram encontrados também restos epiteliais no tecido fibroso (Nosrat *et al.*, 2015) e foi relatada ausência de células semelhantes a odontoblastos (Nosrat *et al.*, 2015, Becerra *et al.*, 2014, Martin *et al.*, 2013).

Outros estudos relataram a presença de tecido conectivo fibroso vital, constituído por fibroblastos, células mesenquimatosas e alguns vasos sanguíneos (Shimizu *et al.*, 2012; Torabinejad e Faras, 2012).

Um estudo histológico conduzido por Lei *et al.* (2015), evidenciou a presença de tecido nervoso no interior do canal e na região apical, o que resultou num restabelecimento da sensibilidade dentária.

III - Discussão

Existem muitas diferenças entre os protocolos usados nas varias publicações, para a mesma técnica de revascularização pulpar.

No que diz respeito à instrumentação, alguns autores não utilizam qualquer instrumentação mecânica, pois pode fragilizar as paredes radiculares. Outros autores aconselham uma mínima instrumentação, que permita uma boa irrigação e um aumento na facilidade de perfusão sanguínea no interior do canal após a estimulação do sangramento. Galler (2016), relatou que a decisão tem que ser ponderada individualmente tendo em conta fatores como espessura das paredes radiculares e duração da infecção.

Quanto às soluções de irrigação, a solução mais usada é o NaOCl, com concentrações que variam entre o 1.5% e 5.25%. Um estudo conduzido por Martin *et al.* (2013) comparou o efeito citotóxico de varias concentrações de solução de NaOCl em raízes de dentes extraídos; a utilização duma concentração de 1.5% seguido de EDTA 17% e solução salina resultou numa maior sobrevivência e diferenciação de SCAPs. A *American Association of Endodontists* (2018) também aconselha o uso de baixas concentrações, por volta do 1.5%, seguido de EDTA 17%. Contudo, a *European Society of Endodontology* aconselha a utilização de uma concentração entre 1,5% e 3%.

Trevino *et al.* (2011) demonstraram que a clorexidina 2% possui efeitos citotóxicos, a publicação relatou falta de células viáveis após irrigação com clorexidina. Sendo assim, a utilização de clorexidina como irrigante não é aconselhada.

No que concerne à medicação intracanal, entre os autores há unanimidade na utilização da tripla pasta antibiótica elaborada por Hoshino. Contudo, esta deve possuir uma concentração total que varia entre 1 e 5 mg/ml, pois de acordo com Althumairy *et al.* (2014), concentrações mais altas podem ter um efeito negativo na sobrevivência das SCAPs, envolvidas no processo de revascularização. No entanto, a *European Society of Endodontology* aconselha a utilização do Ca(OH)₂ (Galler *et al.*, 2016).

A maioria das publicações consultadas na realização desta revisão recorreram a indução do coágulo sanguíneo por sobre-instrumentação do canal radicular, com a exceção dalguns autores que utilizaram os concentrados sanguíneos entre os quais PRP e PRF. Metlerska *et al.* (2019) aconselham a utilização dos concentrados plaquetários. Contudo, é necessária maior evidencia

científica para demonstrar a maior eficácia dos mesmos. Portanto, estes autores sugerem a utilização de PRP e PRF especialmente nos casos em que ocorram problemas na indução do coágulo sanguíneo.

Nageh *et al.* (2018) publicaram uma série de casos de quinze pacientes que apresentavam periodontite apical sintomática e assintomática e que foram tratados com a técnica de revascularização pulpar com indução do coágulo sanguíneo e utilização de PRF. Depois dum follow-up de 12 meses, não foi registado qualquer dor, inchaço ou fistula; todos os casos com radiolucência apical pré-operatória mostraram resolução radiográfica da periodontite apical e nove casos mostraram reposta positiva aos testes de sensibilidade, o que pode indicar a presença de tecido vital no canal radicular.

As análises histológicas dos tecidos neoformados após o tratamento regenerativo não são concordantes. As diferenças na natureza e na organização das estruturas regeneradas podem ser explicadas pelo insuficiente conhecimento das interações entre fatores de crescimento, *scaffold* e células estaminais; além disso, a não existência dum protocolo *gold standard* não permite uma uniformidade na realização dos tratamentos.

Para a realização do tratamento endodôntico regenerativo não existe um protocolo *gold standard*, no entanto a *American Association of Endodontists* e a *European Society of Endodontology* disponibilizaram linhas guias, que se encontram disponíveis na tabela dos anexos (Tabela 1).

IV – Conclusão

A revascularização pulpar possui uma alta taxa de resolução dos sinais e sintomas de patologia periapical, possibilita a continuação do desenvolvimento radicular e possibilitou em alguns casos o restabelecimento de vitalidade pulpar, portanto tornou-se uma opção válida no tratamento de dentes permanentes imaturos com polpa comprometida.

No entanto, a previsibilidade da continuação do desenvolvimento radicular ainda é questionável, os estudos histológicos sugerem que o tecido regenerado não tem a organização dum tecido pulpar e não apresenta células semelhantes a odontoblastos com capacidade de depositar dentina.

Sendo assim, são necessários mais estudos para entender a fundo os mecanismos biológicos e as interações entre fatores de crescimento, *scaffolds* e células estaminais.

Um dos objetivos futuros poderia ser o estabelecimento dum protocolo clínico único, que permita a regeneração dum complexo pulpo-dentinário bem organizado, vital e funcional.

V - Bibliografia

- American Association of Endodontists. (2018). Clinical Considerations for a Regenerative Procedure Revised 4/1/2018. [Em linha]. Disponível em https://f3f142zs0k2w1kg84k5p9i1o-wpengine.netdna-ssl.com/specialty/wp-content/uploads/sites/2/2018/06/ConsiderationsForRegEndo_AsOfApril2018.pdf. [Consultado em 19/04/2019].
- Althumairy, R. I., Teixeira F. B., 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.
- Aly, M. M. *et alii* (2019). Clinical and Radiographic Evaluation of Biodentine and Mineral Trioxide Aggregate in Revascularization of Non-Vital Immature Permanent Anterior Teeth Randomized Clinical Study. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 29(4), pp. 464-473.
- Araújo, P. R. *et alii* (2016). Pulp Revascularization: A Literature Review. *The Open Dentistry Journal*, 10, pp. 48-56.
- Banchs, F., Trope M. (2004). Revascularization of Immature Permanent Teeth with Apical Periodontitis: New Treatment Protocol? *Journal of Endodontics* 30(4), pp. 196-200.
- Bansal, R. *et alii* (2014). Regenerative Endodontics: A Road Less Travelled. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 8(10), pp. 20-24.
- Becerra, P. *et alii* (2014). Histologic Study of a Human Immature Permanent Premolar with Chronic Apical Abscess after Revascularization/Revitalization. *Journal of Endodontics*, 40(1), pp. 133-139.
- Berkhoff, J. A. *et alii* (2014). Evaluation of Triple Antibiotic Paste Removal by Different Irrigation Procedures. *Journal of Endodontics*, 40(8), pp. 1172-1177.
- Bronckaers, A. *et alii* (2013). Angiogenic properties of Human Dental Pulp Stem Cells. *Public Library of Science*, 8(8), pp. 1-11.
- Chen, Y.P., Jovani-Sancho M., Sheth C. C. (2015). Is revascularization of immature permanent teeth an effective and reproducible technique? *Dental Traumatology*, 31(6), pp. 429-436.
- Diogenes, A. *et alii* (2013). An update on clinical regenerative endodontics. *Endodontic Topics*, 28(1), pp. 2-23.
- Diogenes, A. *et alii* (2014). Translational Science in Disinfection for Regenerative Endodontics. *Journal of Endodontics*, 40(4S), pp. S52-S57.
- Diogenes, A. *et alii* (2016). Regenerative Endodontics. *Journal of American Dental Association*, 147(5), pp. 372-380.
- El Ashiry, E. A. *et alii* (2016). Dental Pulp Revascularization of Necrotic Permanent Teeth with Immature Apices. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 40(5), pp. 361-366.
- Galler, K. M. *et al.* (2016). European Society of Endodontology position statement: Revitalization procedures. *International Endodontic Journal*, 49(8), pp. 717-723.
- Galler, K. M. (2016). Clinical procedures for revitalization: current knowledge and considerations. *International Endodontics Journal*, 49(10), pp. 926-936.
- Gronthos, M. *et alii* (2000). Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(25), pp. 13625-13630.
- Hargreaves, K., e Berman, L. (2016). *Cohen's Pathways of the Pulp*. 11th ed. St. Louis, Elsevier Inc, pp 447-473.

- Hilkens, P. *et alii* (2014). Pro-angiogenic impact of dental stem cells in vitro and in vivo. *Stem cell research*, 12(3), pp. 778-790.
- Huang, A. *et alii* (2008). Isolation and characterization of dental pulp stem cells from a supernumerary tooth. *Journal of Oral Pathology and Medicine*, 37(9), pp. 571-574.
- Jung, C. *et alii* (2019). Pulp dentin regeneration: current approaches and challenges. *Journal of Tissue Engineering*, 10, pp. 1-13.
- Kim, J. H. *et alii* (2010). Tooth Discoloration of Immature Permanent Incisor Associated with Triple Antibiotic Therapy: A Case Report. *Journal of Endodontics*, 36(6), pp.1086-1091.
- Lei, L. *et alii* (2015). Histologic and Immunohistochemical Findings of a Human Immature Permanent Tooth with Apical Periodontitis after Regenerative Endodontic Treatment. *Journal of Endodontics*, 41(7), pp. 1172-1179.
- Lovelace, T. W. *et alii* (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.
- Martin, D. E. *et alii* (2013). Concentration-dependent Effect of Sodium Hypochlorite on Stem Cells of Apical Papilla Survival and Differentiation. *Journal of Endodontics*,40(1), pp. 51-55.
- Martin, G. *et alii* (2013). Histological Findings of Revascularized/Revitalized Immature Permanent Molar with Apical Periodontitis Using Platelet-rich Plasma. *Journal of Endodontics*, 39(1), pp. 138-144.
- Nageh, M., Ahmed G. M., El-Baz, A. A. (2018). Assessment of Regaining Pulp Sensibility in Mature Necrotic Teeth Using a Modified Revascularization Technique with Platelet-rich Fibrin: A Clinical Study. *Journal of Endodontics*, 44(10), pp. 1526-1533.
- Nosrat, A. *et alii* (2015). Histologic Outcomes of Uninfected Human Immature Teeth Treated with Regenerative Endodontics: 2 Case Reports. *Journal of Endodontics*, 41(10), pp. 1725-1729.
- Saghiri, M. A. *et alii* (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. 797-803.
- Shah, N. *et alii* (2008). Efficacy of Revascularization to Induce Apexification/Apexogenesis in Infected, Nonvital, Immature Teeth: A Pilot Clinical Study. *Journal of Endodontics*, 34(8), pp. 919-925.
- Shimizu, E. *et alii* (2012). Histologic Observation of a Human Immature Permanent Tooth with Irreversible Pulpitis after Revascularization/Regeneration Procedure. *Journal of Endodontics*, 38(9), pp. 1293-1297.
- Silva, L. B. *et alii* (2016). The Promising Applications of Stem Cells in the Oral Region: Literature Review. *The Open Dentistry Journal*, 10, pp. 227-235.
- Sonoyama, W. *et alii* (2008). Characterization of the Apical Papilla and Its Residing Stem Cells from Human Immature Permanent Teeth: A Pilot Study. *Journal of Endodontics*, 34(2), pp. 166-171.
- Tatullo, M. *et alii* (2015). Dental pulp stem cells: function, isolation and applications in regenerative medicine. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 9(11), pp. 1205-1216.
- Torabinejad, M. *et alii* (2018). Effect of Residual Dental Pulp Tissue on Regeneration of Dentin-pulp Complex: An *In Vivo* Investigation. *Journal of Endodontics*, 44(12), pp. 1796-1801.
- Torabinejad, M. e Faras, H. (2012). A Clinical and Histological Report of a Tooth with an Open Apex Treated with Regenerative Endodontics Using Platelet-rich Plasma. *Journal of Endodontics*, 38(6), pp. 864-868.
- Trevino, E. G. *et alii* (2011). Effect of Irrigants on the Survival of Human Stem Cells of the Apical Papilla in a Platelet-rich Plasma Scaffold in Human Root Tips. *Journal of Endodontics*, 37(8), pp. 1109-1115.

Widbiller M. *et alii* (2017). Ultrasonic activation of irrigants increases growth factor release from human dentine. *Clinical Oral Investigations*, 21(3), pp. 879-888.

Wigler, R. (2013). Revascularization: A Treatment for Permanent Teeth with Necrotic Pulp and Incomplete Root Development. *Journal of Endodontics*, 39(3), pp. 319-326.

Zhang, W., e Yelick, P. C. (2010). Vital Pulp Therapy Current Progress of Dental Pulp Regeneration and Revascularization. *International Journal of Dentistry*, pp. 1-9.

VI – Anexos

	<p>AAE Clinical Considerations for a Regenerative Procedure Revised 4/1/2018</p>	<p>European Society of Endodontology position statement: Revitalization Procedures</p>
<p>Case Selection</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Tooth with necrotic pulp and an immature apex. • Pulp space not needed for post/core, final restoration • Compliant patient/parent • Patients not allergic to medicaments and antibiotics necessary to complete procedure (ASA I or ASA II). 	<ul style="list-style-type: none"> • Tooth with necrotic pulp and incomplete root formation with or without periradicular lesions. • Excluding extensive loss of coronal tissue (need of post/core), impossibility of adequate tooth isolation, avulsed teeth immediately after replantation, patient ASA III. • Recommendations for cases of luxation injuries cannot be given, as clinical evidence is lacking.
<p>Informed Consent</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Two (or more) appointments. • Use of antimicrobial(s). • Possible adverse effects: staining of crown/root, lack of response to treatment, pain/infection. • Alternatives: MTA apexification, no treatment, extraction (when deemed non-salvageable). • Permission to enter information into AAE database (optional). 	<ul style="list-style-type: none"> • Excluding pathosis. • Explanation of procedure advantages and uncertainties. • Time course of treatment and follow-ups. • Alternatives (MTA apexification, no treatment, extraction, extraction and autotransplantation). • Likely outcomes, assessment and risks: pain, tooth, discoloration.
<p>First Appointment</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Local anaesthesia, dental dam isolation and access. • Copious, gentle irrigation with 20ml NaOCl using an irrigation system that minimizes the possibility of extrusion of irrigants into the periapical space (e.g., needle with closed end and side-vents, or EndoVac™). Lower concentrations of NaOCl are advised [1.5% NaOCl (20mL/canal, 5 min) and then irrigated with saline or EDTA (20 mL/canal, 5 min), with irrigating needle positioned about 1 mm from root end, to minimize cytotoxicity to stem cells in the apical tissues. • Dry canals with paper points • Place calcium hydroxide or low concentration of triple antibiotic paste. If the triple antibiotic paste is used: 1) consider sealing pulp chamber with a dentin bonding agent [to minimize risk of staining] and 2) mix 1:1:1 ciprofloxacin: metronidazole: minocycline to a final concentration of 1-5 mg/ml. Triple antibiotic paste has been associated with tooth discoloration. Double antibiotic paste without minocycline paste or substitution of minocycline for other antibiotic (e.g., clindamycin; amoxicillin; cefaclor) is another possible alternative as root canal disinfectant. Clinicians should be aware that studies have been done using higher concentrations of TAP/DAP, but a recommendation to a higher concentration can't be made at this time due to limited studies. • Deliver into canal system via syringe • If triple antibiotic is used, ensure that it remains below CEJ (minimize crown staining). • Seal with 3-4mm of a temporary restorative material such as Cavit™, IRM™, glass-ionomer or another temporary material. Dismiss patient for 1-4 week 	<ul style="list-style-type: none"> • Perform clinical diagnostics according to a clinical and radiographical assessment checklist. • Tooth cleaning, local anaesthesia (optional), field isolation and disinfection (with, e.g. iso-Betadine). • Prepare access cavity. • Remove loose or necrotic pulp tissue using suitable endodontic instruments • Avoid mechanical instrumentation of the root canal walls. • Irrigate with 1,5-3% NaOCl (20ml 5 min), use of side-vented needle, place 2mm above vital tissue (which can be controlled using an operating microscope or when the patient reports pain). The choice of NaOCl concentration reflects the need for a balance between sufficient disinfection and tissue preservation. • Bleeding or exudate (control with paper points) may require extended irrigation • Irrigate with sterile physiological saline 5ml to minimize the cytotoxic effects of NaOCl on vital tissues. • Dry with paper points. • Irrigate with 20 ml of 17% EDTA • Insert a nondiscolouring calcium hydroxide product homogeneously into the root canal – Hoshino's triple antibiotic paste was used with good results. Recent publications advocate the use of calcium hydroxide. • Place coronal seal directly onto intracanal dressing with a minimum thickness according to the material selected.

Revascularização pulpar

<p>Second Appointment</p>	<ul style="list-style-type: none"> • 1-4 weeks after 1st visit • Assess response to initial treatment. If there are signs/symptoms of persistent infection, consider additional treatment time with antimicrobial, or alternative antimicrobial. • Anesthesia with 3% mepivacaine without vasoconstrictor, dental dam isolation. • Copious, gentle irrigation with 20ml of 17% EDTA. • Dry with paper points. • Create bleeding into canal system by over-instrumenting (endo file, endo explorer) (induce by rotating a pre-curved K-file at 2mm past the apical foramen with the goal of having the entire canal filled with blood to the level of the cemento-enamel junction). An alternative to creating of a blood clot is the use of platelet-rich plasma (PRP), platelet rich fibrin (PRF) or autologous fibrin matrix (AFM). • Stop bleeding at a level that allows for 3-4 mm of restorative material. • Place a resorbable matrix such as CollaPlug™, Collacote™, CollaTape™ over the blood clot if necessary and white MTA as capping material. • A 3-4 mm layer of glass ionomer (e.g. Fuji IX™, GC America, Alsip, IL) is flowed gently over the capping material and light-cured for 40 s. MTA has been associated with discoloration. Alternatives to MTA (such as bioceramics or tricalcium silicate cements [e.g., Biodentine®, Septodont, Lancast, PA, USA, EndoSequence® BC RRM-Fast Set Putty, Brasseler, USA]) should be considered in teeth where there is anesthetic concern. • Anterior and Premolar teeth Consider use of Collatape/Collaplug and restoring with 3mm of a nonstaining restorative material followed by bonding a filled composite to the bevelled enamel margin. • Molar teeth or teeth with PFM crown - Consider use of Collatape/Collaplug and restoring with 3mm of MTA, followed by RMGI, composite or alloy. 	<ul style="list-style-type: none"> • 2-4 weeks after 1st visit • Clinical diagnostics according to the checklist (see Appendix 2); • If signs of inflammation have not subsided, refresh calcium hydroxide. Administration of systemic antibiotics may be considered if the patient reports general health alteration such as fever or dysphagia (for further information see recommendations of the European Academy of Paediatric Dentistry/EAPD); • Cleaning, anaesthesia, field isolation and disinfection of operating field. The chosen anaesthesia should feature optimal bone penetration. Current recommendations specify the use of anaesthetics without vasoconstrictor; however, the creation of a blood clot is mostly hampered by the patients' sensation of pain, and evidence describing improved bleeding without vasoconstrictor is sparse. Experiences from the first visit regarding patient compliance, anxiety and pain control should be taken into account; • Remove temporary seal; • Irrigate with 17% EDTA (20 mL, 5 min), use of side-vented needle and place 2 mm above vital tissue; • Irrigate with sterile physiological saline (5 mL) to reduce adverse effects of irrigants on target cells; • Remove excess liquid with paper points; • Induce bleeding by mechanical irritation of periapical tissue and rotational movement of an apically pre-bent file (e.g. size 40 Hedström); • Allow the canal to fill with blood until 2 mm below the gingival margin to wait for blood clot formation for 15 min; • Cut a collagen matrix (e.g. Parasorb Cone (Resorba, Medical GmbH, Germany), Collaplug (Integra LifeSciences Corp., Plainsboro, NJ, USA) or Hemocollagene (Septodont, Saint Maur des Fossés, France) to a diameter larger than the coronal part of the root canal and a height of 2-3 mm, place on top of the blood clot, allow the matrix to soak with liquid to avoid formation of a hollow space; • Place a hydraulic silicate cement (e.g. MTA or tricalcium silicate cement) on top of the collagen matrix in a thin homogeneous layer of about 2 mm underneath the cement-enamel junction and beware of potential discolouration after contact of the material with blood; • Apply a flowable, light-curable glass-ionomer or calcium hydroxide cement; • Refresh the cavity walls with a diamond bur or grit blast with aluminium oxide; • Seal with adhesive restoration.
-------------------------------	---	--

Revascularização pulpar

<p>Follow-up</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Clinical and Radiographic exam • No pain, soft tissue swelling or sinus tract (often observed between first and second appointments). • Resolution of apical radiolucency (often observed 6-12 months after treatment) • Increased width of root walls (this is generally observed before apparent increase in root length and often occurs 12-24 months after treatment) • Increased root length. • Positive Pulp vitality test response • Recommended yearly follow-up after the first 2 years • CBCT is highly recommended for initial evaluation and follow-up visits 	<ul style="list-style-type: none"> • Follow-ups should be performed after 6, 12 and 18 and 24 months, after that annually for 5 years. A 3-month follow-up is recommended in cases of longstanding infection, difficult elimination of signs of inflammation (e.g. second application of intracanal dressing), the presence of inflammatory root resorption or where alternative treatment (e.g. autotransplantation) has to be considered. • Clinical and radiographic diagnostics should be performed according to the flow chart. • In the case of planned orthodontic treatment, it should be recognized that teeth after revitalization may be more perceptible to inflammation and apical root resorption. Thus, bony healing should be awaited, and teeth after revitalization should be excluded from orthodontic treatment or follow-up intervals should be shortened during orthodontic treatment.
<p>Succes criteria</p>	<ul style="list-style-type: none"> • The degree of success of Regenerative Endodontic Procedures is largely measured by the extent to which it is possible to attain primary, secondary, and tertiary goals • Primary goal: The elimination of symptoms and the evidence of bony healing. • Secondary goal: Increased root wall thickness and/or increased root length (desirable, but perhaps not essential) • Tertiary goal: Positive response to vitality testing (which if achieved, could indicate a more organized vital pulp tissue) 	<ul style="list-style-type: none"> • No pain. • No signs and symptoms of inflammation. • Healing of pre-existing bony periapical lesion. • Increase of root thickness and length. • Absence of (continued) external root resorption. • Positive response to sensibility testing. • Patient acceptance. • No unacceptable colour changes. • Radiographic detection of a new PDL along the inner wall of the root canal.