

Fernando Nogueira Gaspar

Revascularização Pulpar

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2017

Fernando Nogueira Gaspar

Revascularização Pulpar

Universidade Fernando Pessoa
Faculdade de Ciências da Saúde
Porto, 2017

Fernando Nogueira Gaspar

Revascularização Pulpar

“Trabalho apresentado à Universidade
Fernando Pessoa como parte dos requisitos
para obtenção do grau de Mestrado
Integrado em Medicina Dentária”

Resumo

A taxa de incidência de patologia pulpar é elevada e o seu tratamento é efetuado principalmente por técnicas Endodônticas não cirúrgicas. Esta técnica de tratamento, embora tenha alta taxa de sucesso na reversão dos sintomas, tem desvantagens, uma vez que os dentes perdem a polpa vital, tornando-se este um problema, pois perdem também a homeostase, a sensibilidade e a estrutura dentária com a abertura da cavidade para a execução das técnicas Endodônticas. A conjugação destes fatores leva a uma diminuição da longevidade dentária, principalmente devido ao risco de fratura aumentado.

Uma das formas de reverter a patologia pulpar é a revascularização pulpar. Os investigadores têm se debruçado sobre este assunto avaliando a utilização das terapias regenerativas .

O objetivo desta revisão bibliográfica é compreender cada uma destas técnicas e a sua aplicabilidade tendo por base literatura publicada nos últimos 10 anos.

Palavras-chave: “regenerative endodontics”, “pulp regeneration”, “pulp revascularization”, “teeth regeneration”, “dental stem cells”.

Abstract

The incidence rate of the pulp disease is high and its treatment is mainly done by non-surgical endodontic techniques. In spite of having high success rate in reversing symptoms, this treatment technique has got its disadvantages, once the teeth lose their vital pulp, becoming this a serious problem because they also lose the homeostasis, the sensitivity and the dental structure with the opening of the cavity for the execution of the endodontic techniques. All these factors together lead to a decrease in dental longevity, mainly due to the risk of increased fracture. One way to revert the pulp pathology is the pulp revascularization. The researchers have been studying this matter by evaluating the use of regenerative therapies.

The aim of this bibliographic revision is to understand what each one of these techniques means as well as its applicability according to published literature for the last 10 years.

Key-words: “regenerative endodontics”, “pulp regeneration”, “pulp revascularization”, “teeth regeneration”, “dental stem cells”.

“Put passion in your routines and your routines can become passions”

“Somewhere, someone is practicing. And when you meet him in head to head competition, he will beat you!” – Robert Capener

Agradecimentos

Quero agradecer ao meu orientador, o Professor Miguel Albuquerque Matos, pela sua disponibilidade.

A todos os professores da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Fernando Pessoa, que contribuíram para a minha formação.

Um especial agradecimento aos meus pais e ao meu irmão, por nunca deixarem que eu desisti-se e sempre me apoiarem em todos os meus passos, sempre acreditando que eu era capaz.

Grande obrigado “La Família” pelos grandes momentos que passamos juntos, pelas risadas, pelo carinho e pelo espírito de entreajuda. São amigos que nunca esquecerei.

Obrigado Carlos Mestre, pelo grande amigo e binómio que és.

Índice

I. INTRODUÇÃO	1
1. MATERIAIS E MÉTODOS	2
II. DESENVOLVIMENTO	3
1. CÉLULAS ESTAMINAIS	3
1.1. <i>Terapia com células estaminais adultas</i>	4
2. SCAFFOLDS	5
3. FATORES DE CRESCIMENTO	6
4. REVASCULARIZAÇÃO POR COÁGULO SANGUÍNEO	7
5. IMPLANTAÇÃO PULPAR	10
6. IMPRESSÃO CELULAR TRIDIMENSIONAL	11
7. TERAPIA GENÉTICA	11
III. DISCUSSÃO	13
IV. CONCLUSÃO	14
V. BIBLIOGRAFIA	16
VI. ANEXOS	21

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Fatores de crescimento estudados por diversos investigadores.....	21
Tabela 2- Comparação de casos clínicos	25

Índice de Figuras

Figura 1 - Células estaminais adultas dos tecidos da face e região maxilofacial	3
Figura 2 - Composição e instruções de mistura da pasta de Hoshino	22
Figura 3 - Protocolo de Revascularização Pulpar por Coágulo Sanguíneo.....	23

Lista de Abreviaturas

ADA: *American Dental Association*

BMG: Gelatina de matriz óssea

BMP: Proteína morfogénica óssea

BMSC: Célula estaminal da medula óssea

Ca(OH)₂: Hidróxido de Cálcio

CEM: Mistura rica em Cálcio

CHX: Clorohexidina

DMP: Proteína da matriz dentinária

DNA: Ácido desoxirribonucleico

DFSC: Célula estaminal do folículo dentário

DPSC: Célula estaminal da polpa dentária

EDTA: Ácido etilenodiamino tetra-acético

EGF: Fator de crescimento epidérmico

FDA: *Food and Drugs Administration*

FGF: Fator de crescimento do fibroblasto

GH: Hormona de crescimento

GMSC: Célula estaminal derivadas do tecido gengival

H₂O₂: Peróxido de hidrogênio

IGF: Fator de crescimento semelhante a insulina

IV: Ionómero de Vidro

IVMR: Ionómero de Vidro modificado por Resina

MSC: Célula estaminal mesenquimatosa

MTA: Agregado Trióxido Mineral

NaOCl: Hipoclorito de sódio

OESC: Célula estaminal do epitélio oral

PCL: Ácido poliprolactona

PDGF: Fator de crescimento derivado de plaquetas

PDLSC: Célula estaminal do ligamento periodontal

PGA: Ácido poliglicólico

PIGF: Fator de crescimento da placenta

PLA: Ácido polilático

PRF: Fibrina rica em plaquetas

PRP: Plasma rico em plaquetas

PSC: Célula estaminal derivada do perióstio

SCAP: Célula estaminal da papila apical

SGSC: Célula estaminal das glândulas salivares

SHED: Célula estaminal de dentes humanos exfoliados

TGF: Fator transformador de crescimento

TGPC: Célula progenitora do germe dentário

VEGF: Fator de crescimento do endotélio vascular

I. Introdução

A Endodontia é uma especialidade da Medicina Dentária que trata situações de trauma e infecções que afetam a polpa dentária e os tecidos periapicais. (Kim, S. G. et al., 2012)

Os tratamentos Endodônticos são realizados em casos de infecção da polpa dentária causada por cárie ou outra lesão, recorrendo-se ao tratamento de canal, que consiste na extirpação total da polpa com recurso a instrumentação dos canais, desinfecção e obturação, que é feita com recurso a um cimento e um material obturador que normalmente é a guta-percha. A polpa dentária é um tecido conjuntivo que tem como principais funções produzir dentina e manter a vitalidade biológica e fisiológica da dentina. (Huang, G. T., 2009)

Apesar do sucesso deste tipo de tratamento, segundo alguns autores, os dentes com tratamento Endodôntico tornam-se mais frágeis e suscetíveis à fratura. (Yang, M., 2013) Além disso, a perda da vitalidade pulpar em dentes permanentes jovens, é um grande problema, porque encontrando-se com o ápice aberto, a formação de dentina irá terminar e, logo subsequentemente, a maturação do dente. (Murray, P. E. et al., 2007)

Com este panorama, os investigadores pretendiam criar outro tipo de tratamento que permita a resolução dos variados casos existentes, aparecendo assim a área da Endodontia regenerativa, que consiste numa abordagem regenerativa no tratamento de infecções ou necrose pulpar, em que esta polpa contaminada é removida e substituída por tecido pulpar vital. (Murray, P. E. et al., 2007)

A Endodontia regenerativa aplica os princípios da medicina regenerativa, utilizando uma combinação de células estaminais, scaffolds tridimensionais e fatores de crescimento para regenerar o complexo dentina-polpa e, assim, revitalizar o dente. (Yang, M., 2013) Algumas das vantagens do tratamento regenerativo são: a continuação do desenvolvimento radicular e o aumento da espessura das paredes dentinárias, que parecem diminuir os riscos de fratura radicular longitudinal a longo prazo e o encerramento apical. (Flake, N. M. et al., 2014)

Uma das opções do tratamento endodôntico regenerativo mais utilizada, é a revascularização por coágulo sanguíneo, criando uma matriz estéril onde as células

se possam desenvolver, com o objectivo de revitalizar e reassegurar as condições normais da polpa dentária.

1. Materiais e métodos

Para a realização da revisão bibliográfica foi feita uma pesquisa bibliográfica na base de dados B-on, até ao dia 15 de Fevereiro.

Foram definidos os filtros de pesquisa:

- Palavras-chave: Regenerative Endodontics and Pulp Regeneration and Pulp Revascularization and Dental Stem Cells
- Utilizados os expansores:
 - Pesquisar também no texto integral dos artigos
 - Aplicar assuntos equivalentes
- Utilizados os limitadores:
 - Artigos publicados de 2007 até ao dia 15/02/2017
 - Texto integral
 - Idioma: Inglês e Português

Desta pesquisa, utilizando os filtros de pesquisa descritos anteriormente, foram encontrados 321 artigos, dos quais foram utilizados 74 artigos.

II. Desenvolvimento

1. Células Estaminais

As células estaminais podem ser encontradas na maior parte dos tecidos adultos, possuindo características únicas. Egusa, P. et al., (2012), definiu-as como “...células imaturas, não especializadas como o potencial de se desenvolverem em diferentes linhagens celulares, via diferenciação”. São células com alta capacidade de auto-replicação e indiferenciadas até entrarem em contacto com um sinalizador. (Nosrat, A. et al., 2014)

Existem dois tipos de células estaminais: as células estaminais embrionárias ou fetais e as células estaminais adultas ou pós-natais. Dentro das células estaminais adultas, nos tecidos da face e na região maxilofacial, existem vários tipos de células, como se pode ver na figura 1. (Bansal, R. e Bansal, R., 2011)

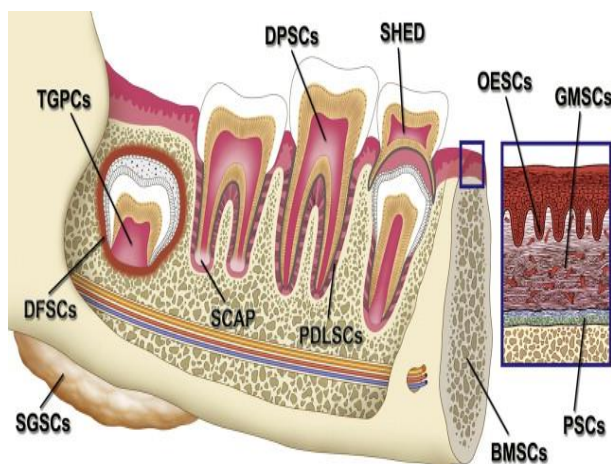


Figura 1 - Células estaminais adultas dos tecidos da face e região maxilofacial. (Egusa, P. et al., 2012 – com consentimento do autor);

De todos os tipos de células estaminais descritos, só as células estaminais de dentes humanos exfoliados (SHED) é que têm origem nos dentes decíduos, sendo que todas estas células estaminais dentárias pós-natais têm qualidades semelhantes às células estaminais mesenquimais (MSC), como por exemplo a capacidade de diferenciação em multi-linhagens ou a capacidade de auto-renovação. Mas, embora tenham a capacidade de dar origem a outros tipos de células semelhantes sem serem dentárias, não têm a mesma potência comparadas com as células estaminais da medula óssea. (Bansal, R. e Bansal, R., 2011)

As SHED e as células estaminais da polpa dentária (DPSC) são ambas facilmente encontradas, sendo reportada a sua utilização na regeneração endodôntica. As SHED podem ser encontradas nos dentes decíduos, que são dentes de fácil acesso e sem utilidade aquando da erupção dos permanentes, sendo que os melhores dentes são os caninos e os incisivos moderadamente reabsorvidos, com a polpa saudável. Outras fontes de células estaminais de fácil acesso, em crianças, são os dentes supranuméricos, mesiodens, molares decíduos extraídos por indicações ortodônticas. (Nakamura, S. et al., 2009; Bansal, R. e Bansal, R., 2011)

As SHED têm grande capacidade de proliferação, são de fácil acesso, abundantes e fáceis de recolher, tornando-se ideais para serem utilizadas na regeneração pulpar, mas quando comparadas com a DPSCs, as SHED apresentam uma inclinação para as células neuronal. (Nakamura, S. et al., 2009)

Também se sabe que as células estaminais isoladas de dentes envelhecidos têm um défice no número de células estaminais e uma diminuição da proliferação, sendo que o pico máximo de células estaminais ocorre aquando da formação da coroa, na fase ainda de gérmen. (Govindasamy, V. et al., 2010)

As células estaminais da papila apical (SCAP), comparadas com DPSC, têm maior taxa de proliferação, sendo provavelmente a fonte de odontoblastos primários, que são responsáveis pela formação da dentina radicular, representando-se como uma fonte de células progenitoras, enquanto que as DPSC são a fonte provável dos odontoblastos de substituição. (Bansal, R. e Bansal, R., 2011)

Estes vários tipos de células foram encontrados e isolados, permitindo o estudo da revascularização através da terapia com células estaminais adultas. (American Association of Endodontics, 2013).

1.1. Terapia com células estaminais adultas

A terapia com células estaminais adultas é um método em que as células estaminais são injetadas nos canais radiculares, após estes estarem devidamente desinfetados. As células estaminais a utilizar podem ser recolhidas de variadas zonas, como se pode verificar através da figura 1. Porém, existe um grande desafio que é descobrir que tipo de célula estaminal terá a capacidade de proliferar e diferenciar nas células pulpares (fibroblastos, células endoteliais, odontoblastos, entre outros tipos). Existe também um

grande obstáculo, que são os recursos necessários para permitir purificar e proliferar células estaminais *in vitro*, para posterior aplicação nos canais radiculares. (Kumar, H., 2010; Murray, P.E., 2007)

A recolha e utilização das células estaminais autólogas é relativamente simples com a ajuda de uma seringa e as células retiradas têm potencial para induzir a revascularização pulpar. Este processo é bastante usado na Medicina Regenerativa, na reposição de medula óssea. (Murray, P.E., 2007)

Como desvantagens desta terapia, as células podem não sobreviver, pode ocorrer migração para outras partes do corpo ou até pode ocorrer uma mineralização anormal. A probabilidade de sucesso das células estaminais adultas injetadas no sistema de canais radiculares originarem tecido pulpar funcional é muito reduzida. Como solução, as células estaminais podem ser aplicadas num coágulo de fibrina ou, então, em outro tipo de scaffold. (Kumar, H., 2010; Murray, P. E., 2007)

2. Scaffolds

Um scaffold é uma matriz extracelular, que proporciona condições biológicas, físico-químicas e mecânicas tridimensionalmente, estimulando a adesão, crescimento e diferenciação celular. (Saber, S. E. M., 2009; Demarco, F. F., et al., 2011)

Os scaffolds podem ser naturais ou sintéticos. Os scaffolds naturais podem ser de colagénio, dentina, fibrina, seda ou alginato, e os scaffolds sintéticos recorrem ao uso de vários polímeros como o ácido poliglicólico (PGA), poliláctico (PLA) ou policaprolactona (PCL), sendo que se degradam no interior do corpo humano. (Murray, P. E. et al., 2007)

Os polímeros naturais são maioritariamente degradados por processos enzimáticos, enquanto os polímeros sintéticos são degradados por hidrólise. (Bansal, R. e Bansal, R., 2011)

O colagénio é o scaffold natural mais estudado, enquanto os scaffolds sintéticos mais utilizados são o PGA e o PLA. Mas para permitir o uso de scaffolds no sistema de canais, está a ser desenvolvido um scaffold tridimensional, que é um polímero de hidrogel com o objetivo de facilitar a inserção da matriz no sistema de canais radiculares. O hidrogel tem propriedades físicas semelhantes aos tecidos vivos, uma

grande percentagem de água, alta molhabilidade e uma consistência elástica e suave. (Bansal, R. e Bansal, R., 2011)

O hidrogel é facilmente aplicado no sistema de canais e muito pouco invasivo, isto porque é um gel que é injetado facilmente no sistema de canais com o uso de uma seringa. (Murray, P. E. et al., 2007) Os investigadores, pretendem tornar o hidrogel em foto-polimerizável ou auto-polimerizável, para que o hidrogel seja implantado e se torne numa estrutura rígida. (Bansal, R. e Bansal, R., 2011)

Outro scaffold é o Plasma rico em plaquetas (PRP), uma vez que contém muitos fatores de crescimento, incluindo o fator de crescimento transformador β , fator de crescimento semelhante à insulina e fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF). (Torabinejad, M, e Turman, M., 2011)

Existem outros tipos de scaffolds a serem estudados, como o β -tricálcio fosfato, que é um gel que na fase sólida forma grânulos, tendo a particularidade de também poder ser injetado no sistema de canais. A matriz de dentina tratada é outro scaffold em estudo, porque apresenta o ambiente correto para a formação de tecido dentário. A seda é utilizada como scaffold para a formação de dentina, sendo que o tamanho e a forma dos poros servem como scaffold para orientar o tecido mineralizado. A utilização de matriz de esmalte (Emdogain®), cujo componente principal são as amelogeninas, também tem sido estudada. (Bansal, R. e Bansal, R., 2011)

Os scaffolds, depois de cultivados com as células, têm que ser mantidos na presença de fatores de crescimento, para promover a formação de tecido. (Bansal, R. e Bansal, R., 2011)

3. Fatores de Crescimento

Os fatores de crescimento são proteínas que se ligam as células estaminais induzindo a sua proliferação e diferenciação. Existem fatores de crescimento que são muito versáteis e conseguem estimular diversos tipos de células estaminais e outros mais específicos. (Bansal, R. e Bansal, R., 2011) Definindo, assim, um papel importantíssimo dos fatores de crescimento no recrutamento, retenção e diferenciação das células estaminais. (Jadhav, G. R., 2013)

Na Endodontia regenerativa, para se conseguir obter resultados clínicos, é necessário o desenvolvimento de terapias eficazes que promovam a revascularização pulpar. Com a investigação dos processos biológicos de reparação tecidual, foram encontrados métodos que possibilitam a regeneração dos tecidos dentários. (Murray, P. E. et al., 2007)

Existem dois grupos de famílias de fatores de crescimento que estão muito envolvidos nos processos de regeneração dos tecidos dentários. Estas duas famílias são o fator transformador de crescimento (TGF) e a proteína morfogénica óssea (BMP). Dentro das proteínas TGF, as proteínas mais importantes na ativação celular para a diferenciação odontoblástica e estimulação da secreção de matriz dentaria, são as TGF- β 1 e TGF- β 3. Estas proteínas são originadas pelos odontoblastos sendo estes depositados dentro da matriz da dentina. (Bansal, R. e Bansal, R., 2011)

As proteínas BMP são as ativadoras de múltiplas vias de sinalização relacionadas com os processos de biomineralização. Foram encontradas BMP na fase de capuz e campânula, sendo elas as responsáveis pela diferenciação de ameloblastos e odontoblastos. (Bansal, R. e Bansal, R., 2011) Na tabela 1, encontram-se os fatores de crescimento estudados e os resultados dos estudos.

Alguns fatores de crescimento, também estão presentes no processo regenerativo por coágulo sanguíneo, como o PDGF, que aumenta o número de células estaminais. O fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) regula a angiogénese e o fator de crescimento tecidual (TGF- β) promove a mineralização do tecido pulpar. (Bansal, R. et al., 2014). A junção destes fatores de crescimento permite a proliferação e diferenciação dos odontoblastos, sob o controlo das células da baínha de Hertwing. Os odontoblastos produzirão dentina tubular no terço apical e nas paredes laterais dos canais radiculares, ocorrendo a maturogénese da raiz. (Aggarwal, V. et al., 2012)

Em anexo, Tabela 1, encontra-se uma tabela com vários factores de crescimento, estudados por diversos autores, com influência nas células dentárias.

4. Revascularização por coágulo sanguíneo

A revascularização pulpar é um tratamento regenerativo, existindo vários casos clínicos apresentados, sendo uma opção a considerar no tratamento de dentes imaturos necrosados. (Kottor e Velmurugan, 2013) Sendo a base da revascularização, a criação

de uma matriz estéril onde as células se possam desenvolver, um scaffold. (Neha, K. et al., 2011)

Atualmente são vários os relatos de casos clínicos em que ocorreu revascularização pulpar e diversos protocolos usados para tentar atingir os objetivos. Releve-se que o princípio dos diversos protocolos é a desinfecção e a indução de sangramento por sobre-instrumentação. Para além do Hipoclorito de sódio (NaOCl) ou da Clorohexidina (CHX), a colocação de uma pasta tri-antibiótica de Hoshino (mistura de ciprofloxacina, metronidazol e minociclina) (disponível em anexo a composição e as indicações de mistura da pasta de Hoshino) é usada durante várias semanas, para uma melhor desinfecção dos canais radiculares e aumento do sucesso da revascularização de dentes necróticos/avulsionados, sendo este o passo chave para a revascularização por coágulo sanguíneo. (Hargreaves et al.,2008)

O objectivo da desinfecção na terapia endodôntica regenerativa difere da Endodontia clássica, uma vez que se pretende que as soluções irrigantes tenham capacidade bactericida/bacteriostática e que permitam a sobrevivência e as capacidades proliferativas das células estaminais. (Trevino, E. et al., 2011)

As SCAP tendem a sobreviver ao processo de necrose pulpar, por se encontrarem em proximidade com os tecidos periapicais. (Estrela, C. et al. 2011) Sendo estas as células estaminais que possivelmente proliferam e se diferenciam, uma vez que as células que se expressam não são as células estaminais em circulação, mas sim as células que encontram localmente, nos tecidos periapicais. (Lovelace, T. W. et al., 2011). Assim, segundo o estudo de Trevino, E. et al. (2011), em que avaliou diversos protocolos de irrigação e a sua interação com as SCAP, chegou a conclusão que os protocolos em que foi utilizado o ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) promoveram a sobrevivência das SCAP, enquanto que os protocolos em que foi utilizada CHX 2% mostraram ausência de SCAP. Embora tenha havido sucesso no tratamento endodôntico regenerativo utilizando concentrações de CHX 0,12% e 0,20%, a CHX não é muito usada devido ao precipitado que é criado após a irrigação com NaOCl.

Este procedimento de revascularização requer uma efectiva desinfecção do espaço pulpar, uma vez que é do conhecimento geral que a presença de bactérias em onde decorre a cicatrização de feridas, pode retardar ou mesmo impedir a recuperação. (Andreasen, J. et al., 2008) Uma vez que a infeção endodôntica é polimicrobiana com bactérias aeróbias e anaeróbias. Sendo expectável que a utilização de um só antibiótico

não consiga criar o ambiente estéril pretendido. (Vijayaraghavan, R. et al., 2012) De modo a contrair este problema, Hoshino et al. introduziu uma combinação de três antibióticos, metronidazol, ciprofloxacina e minociclina, sendo estes antibióticos misturados numa solução salina em iguais concentrações, obtendo-se uma pasta tri-antibiótica. (Wigler, R. et al., 2013) Como desvantagens da pasta de Hoshino, temos as reações alérgicas a agentes antibióticos, o desenvolvimento de resistência bacteriana e a descoloração dentária. Esta descoloração dentária, ocorre devido á utilização da minociclina, que cria um complexo insolúvel quando se liga a iões de cálcio e este complexo em contacto com o tecido dentário descolora-o. Foi descrito que a minociclina não descolora o dente se não estiver estado em contacto com a dentina coronal. Foi descrito também, que a utilização de um agente adesivo dentinário, pode reduzir a descoloração. (Kim, J. H. et al., 2010) É sugerido em situações de importância estética a utilização a redução do tempo de utilização da pasta ou então substituir a minociclina por cefaclor ou clindamicina. (Kim, D. S. et al., 2012).

Contudo, para além do sistema de canais estar desinfetado, é necessário haver uma matriz extracelular, isto é um scaffold, para que estejam criadas as condições para o crescimento do tecido. (Neha et al., 2011). A constituição deste scaffold, é de extrema importância, como visto anteriormente, uma vez que será o scaffold que dará o suporte para as células estaminais proliferarem e se diferenciarem. (Hargreaves, K. M. et al., 2008)

Induzido o coágulo sanguíneo, este irá funcionar como scaffold, apresentando a capacidade de fornecer células mesenquimatosas indiferenciadas, fatores de crescimento e proteínas, o que possibilita um bom meio para a regeneração tridimensional dos tecidos. (Lovelace, T. W. et al., 2011)

Os principais problemas associados a esta técnica têm a ver com a possibilidade da hemorragia ser insuficiente e também pela dúvida sobre que tipo de tecido pulpar que se pode formar. (Ding, R. Y. et al., 2009) A maior parte dos estudos descreve que o tecido formado é, na maior parte dos casos, tecido do tipo ósseo, conjuntivo ou cimentário. (Gomes-Filho, J. E. et al., 2013) Em relação à hemorragia insuficiente, a transfusão de sangue entre canais com coágulo suficiente para os com coágulo insuficiente em molares, principalmente nos canais mesiais devido ao diâmetro reduzido, possibilita a resolução deste problema. (Nosrat, A. et al., 2011)

Com o intuito de solucionar o problema em relação ao tipo de tecido que se forma, foi sugerida a utilização de PRP, uma vez que é um scaffold autólogo de fácil preparação no ambiente de consultório, rico em fatores de crescimento, biodegradável e por ser um scaffold de fibrina tridimensional. (Hargreaves, K. M. et al. 2008) O primeiro caso de regeneração pulpar foi descrito por Torabinejad, M. e Turman, M. (2011), em que foi utilizado PRP, resultando na formação de tecido pulpar. Perante este caso, diversos estudos e casos clínicos foram publicados, utilizando não só PRP, mas também fibrina rica em plaqueta (PRF).

5. Implantação Pulpar

Numa cultura de células *in vitro*, só existem células em monocamada única, sendo esta anexada a base. Mas, algumas células estaminais só sobrevivem e proliferam se forem cultivadas sobre uma camada de células alimentadoras. Contudo, nestes dois casos, as células estaminais irão estar organizadas bidimensionalmente, o que não permite a sua utilização em implantação pulpar. Assim, para transformar estas camadas bidimensionais em tridimensionais, é necessário a utilização filtros de membranas biodegradáveis para que estes criem uma conformação tridimensional para que seja possível a sua utilização nos canais radiculares preparados e desinfetados. (Murray, P. E. et al., 2007)

A principal vantagem desta técnica é a facilidade de cultivo das células estaminais em filtros, em laboratório, permitindo uma conformação tridimensional; além disso, com esta técnica os agregados celulares são mais estáveis comparando com a técnica de injeção de células estaminais nos canais radiculares. (Kumar, H. et al., 2010)

Um dos principais problemas reside com a utilização dos filtros, uma vez que os filtros são estruturas formadas por camadas muito finas e frágeis, e por isso, a sua utilização na prática clínica torna-se muito difícil. Além disso, os agregados celulares depois de colocados no canal radicular, irão ter falta de vascularização, por isso a parte apical do canal receberia a células estaminais e a parte coronal teria que receber uma matriz para apoiar a proliferação celular. Sendo que as células localizadas a mais de 200µm da difusão de oxigénio do suprimento do capilar sanguíneo têm alto risco de anoxia, o que provocaria necrose celular. (Bansal, R. e Bansal, R., 2011)

Outro problema encontrado, é que as culturas de células estaminais em filtros são obtidas através de células estaminais isentas de doença e de agentes patogénicos ou através de uma biópsia celular, e colocadas in vitro em polímeros biodegradáveis de nano fibras ou em lâminas de matriz extracelular, como a fibronectina ou o colagénio tipo I. E, até agora, o crescimento celular em colagénio tipo I e III não demonstrou ser bem sucedido, a utilização de matrizes de fibronectina e laminina ainda é precoce, sendo necessária mais investigação. (Huang, G. T., 2009)

Embora esta técnica pareça apresentar baixos riscos para os pacientes, existe uma grande preocupação em relação à resposta imunológica e possíveis falhas na formação de um tecido pulpar funcional. (Murray, P. E. et al., 2007)

6. Impressão celular tridimensional

As células pulpares devem estar organizadas numa estrutura tridimensional capaz de suportar a organização celular e a vascularização. Esta organização pode ser criada pela utilização de um scaffold usando um polímero poroso com as células estaminais impregnadas. Para se conseguir criar este scaffold, é usada uma impressora tridimensional, como se de um jacto de tinta se tratasse, em que o scaffold será um hidrogel. Neste scaffold, podem ser colocadas precisamente as células na sua posição natural do tecido pulpar, mimetizando o tecido pulpar natural. A posição ideal das células seria colocar os odontoblastóides na periferia, para permitir a manutenção da dentina e a sua reparação, os fibroblastos no núcleo da polpa para que se liguem à rede de células vasculares e células nervosas. (Gandhi, A. et al., 2011)

Contudo, uma das principais desvantagens desta técnica de impressão tridimensional, prende-se com o facto de os canais radiculares não serem regulares e lineares, sendo difícil a sua colocação nos canais na prática clínica. Contudo a investigação ainda é recente para mostrar que a impressão celular tridimensional é capaz de criar tecido funcional in vivo. (Sun, H. H. et al., 2010)

7. Terapia Genética

Desde 2003, que se conhece o genoma humano completo, o que permitiu a evolução da ciência nos tratamentos médicos com terapia genética. O Ácido desoxirribonucleico

(DNA) é composto por pares-base, encontrando-se em todas as células humanas, exceto nas células sem núcleo, como nos eritrócitos. (Murray, P. E. et al., 2007)

A sequência dos pares-base dá origem aos genes, que controlam a atividade e a função celular, sendo que podem estimular ou induzir um processo biológico natural expressando uma molécula envolvida na resposta regenerativa do tecido. (Bansal, R. e Bansal, R., 2011)

A indução dos genes é feita através de vetores virais ou não virais, que permitem a absorção celular e a expressão de genes, fatores de crescimento, fatores morfogênicos, fatores de transcrição e a indução de genes da matriz extracelular em células alvo. Os vetores virais são modificados geneticamente de modo a evitar a possibilidade de criar doença, mas mantém a capacidade de infecção. Os vírus modificados geneticamente para induzir os genes, foram o retrovírus, adenovírus, vírus adenoassociados, vírus herpes simplex e lentivírus, em que demonstraram resultados significativos, principalmente na formação de osso. Os vetores não virais incluem plasmídeos, peptídeos, complexos de DNA-ligando, electroporação, sonoporação e lipossomas catiónicos. A escolha do sistema de aplicação do gene depende da acessibilidade e das características fisiológicas das células alvo. (Murray, P. E. et al., 2007; Bansal, R. e Bansal, R., 2011)

Nas técnicas não virais e o sistema de aplicação mediada por ultrassons parecem ser bem sucedidos, tanto in vivo como em in vitro, mas a técnica de electroporação só parece ter sucesso in vitro, por causa da falta de eritrócitos no coágulo sanguíneo resultante da mudança térmica ocorrida durante a electroporação. Na abordagem in vivo, os vectores não virais são disseminados na corrente sanguínea ou localmente nos tecidos alvo, assim o potencial de cura do tecido pulpar é melhorado por genes indutores da dentina aplicados diretamente sobre a polpa exposta. A técnica de abordagem in vitro, os vectores não virais são manipulados em laboratório e em seguida transplantados para o local de regeneração. A terapia in vitro forma mais rapidamente e com mais qualidade a dentina terciária, quando comparada com a técnica in vivo. (Bansal, R. e Bansal, R., 2011)

O uso da genética em endodontia, ainda não está muito desenvolvida, sendo necessário ainda fazer mais investigação. Mas, por causa de complicações anteriores, foi retirada a aprovação da *Food and Drugs Administration* (FDA) para a utilização de terapias genéticas em pesquisa com doenças terminais, isto porque a terapia genética envolve riscos de saúde potencialmente graves associados principalmente aos vetores usados.

Assim, o desenvolvimento de uma terapia genética para a utilização em endodontia parece ser muito pouco provável. A terapia genética é um campo relativamente recente, faltando assim evidências científicas para demonstrar o potencial desta terapia. (Bansal, R. e Bansal, R., 2011)

III. Discussão

Na tabela 2 (comparação de casos clínicos, que se encontra em anexo), verifica-se que o protocolo de revascularização pulpar, difere entre os casos clínicos. Sendo que, as maiores partes dos casos clínicos são pacientes jovens, em que o ápice ainda se encontra imaturo. Estes casos são normalmente resolvidos por apexificação, que é um procedimento usado para promover a formação de uma barreira apical, de modo a criar um tampão apical em um dente não vital. Mas ao impedir a continuação da maturação do dente, irá impedir o contínuo desenvolvimento radicular e o espessamento das paredes dentinárias.

Entre os protocolos usados, pelos vários autores, encontram-se muitas diferenças de entre protocolos para a mesma técnica de revascularização pulpar. A maior parte dos autores opta pela técnica de revascularização pulpar por coágulo sanguíneo, embora alguns autores optem pela revascularização pulpar por coágulo sanguíneo associada a PRP ou a PRF.

Uma das grandes diferenças entre os protocolos é o tipo de irrigação canalar e as suas concentrações. Alguns autores usam unicamente NaOCl, outros autores usam NaOCl associada com soro fisiológico e/ou com clorhexidina ou EDTA. As concentrações de NaOCl variam entre 1% e 5,25%, sendo que a *American Dental Association* (ADA) recomenda a utilização de concentrações baixas.

Em termos de medicação intracanal, os autores são mais unânimes na utilização da Pasta de Hoshino, alguns autores com algumas modificações em relação á concentração dos antibióticos, enquanto que outros autores usam a pasta de Hidróxido de Cálcio (Ca(OH)_2).

No que respeita à instrumentação, a maioria dos autores concorda em realizar uma instrumentação mínima, desde que permita a irrigação e a perfusão sanguínea.

As maiorias dos autores optaram pela a indução do coágulo sanguíneo a sobre-instrumentação do canal com uma lima K ou um spreader. Há alguns autores que preferem a indução do coágulo sanguíneo e a utilização de PRF ou PRP como scaffold, uma vez que é uma matriz mais estável do que um coágulo sanguíneo e poderá conter uma grande quantidade de fatores de crescimento.

Em relação á barreira pulpar, a maioria dos autores preferiu a utilização de Agregado Trióxido Mineral (MTA), com restauração final da coroa em Resina composta.

A resolução de patologia apical foi resolvida em quase todos os casos clínicos, embora o crescimento longitudinal e transversal não se verificou em todos os casos. Em relação à vitalidade, muitos dos casos clínicos não o referem, dos que referem poucos são os casos clínicos que tem resposta a testes de vitalidade positiva. A confirmação dos testes de vitalidade é difícil, uma vez que, só se poderia confirmar a vitalidade e tipo de tecido formado com uma análise histológica, a qual não é eticamente aceite, por causa de se remover uma fração de tecido, após o tratamento efetuado. Outros meios possíveis de confirmação são os testes de vitalidade, o laser Doppler de fluxometria sanguínea, testes pulpares ao quente e ao frio, energia elétrica, ressonância magnética. Releve-se que estes métodos subjetivos para avaliação e demonstração da eficácia das técnicas endodônticas regenerativas são importantíssimos.

IV. Conclusão

O desenvolvimento das terapias na área da medicina regenerativa tem contribuído de uma forma significativa, para os avanços da medicina dentária regenerativa e para o estudo das células estaminais de origem dentária.

O sucesso da Endodontia regenerativa está dependente da criação de um protocolo que permita a regeneração pulpar com uma taxa de sucesso elevada, uma vez que os atuais protocolos publicados carecem de mais estudos com amostras maiores para se conseguir obter uma taxa de sucesso fiável na formação de tecido pulpar funcional no interior do sistema de canais.

Atualmente, as técnicas de regeneração são apenas aplicadas em dentes permanentes com ápice imaturo, pretendendo-se que as técnicas utilizadas sejam aperfeiçoadas para a sua aplicação em todos os dentes permanentes com ápices maduros.

Existem inúmeras técnicas e variações de técnicas dentro dos mesmos protocolos de regeneração pulpar. Os estudos com maior taxa de sucesso são os que assentam em três componentes da medicina regenerativa: células estaminais dentárias, scaffolds e fatores de crescimento. Mas é ainda necessário criar respostas e soluções para o controlo microbiológico e como controlar os fatores de crescimento presentes no scaffold. No entanto, é necessário mais estudos de forma a conhecer como todo o processo de regeneração acontece, as suas vantagens e limitações do tratamento.

O método mais utilizado para a revascularização pulpar ainda continua a ser a revascularização por coágulo sanguíneo, sendo este, que neste momento, é o que tem mais estudos publicados e maior taxa de sucesso. Contudo, são necessários mais estudos clínicos in vivo, de modo a que seja criado um protocolo fiável para que os clínicos possam utilizar em ambiente clínico, que permita o controlo microbiológico e biológico e que permita a reversão total dos sinais e sintomas e a obtenção de vitalidade.

A *American Association of Endodontics* (AAE), criou, segundo os estudos até agora conhecidos, um protocolo de revascularização pulpar por coágulo sanguíneo, com as considerações clínicas que devem ser seguidas no tratamento, podendo ser consultado em anexo.

A área da medicina regenerativa ainda está a dar os seus primeiros passos; contudo, é necessário que os médicos dentistas se mantenham atualizados, uma vez que a esta área poderá fazer parte do quotidiano da Medicina Dentária num futuro próximo.

V. Bibliografia

- Aggarwal, V., Miglani, S. e Singla, M. (2012). Conventional apexification and revascularization induced maturogenesis of two non-vital, immature teeth in same patient: 24 months follow up of a case. *Journal of Conservative Dentistry*, 15(1), pp. 66-72.
- Al-Ghamdi, S. N. e Al-Nazhan, S. (2015). Pulp revascularization of immature maxillary first premolar. *Journal Conservative Dentistry*, 18(6), pp. 496-499.
- American Association of Endodontics. (2013). Regenerative Endodontics. *Endodontics: Colleagues for Excellence*, pp. 1-8.
- American Association of Endodontics. (2016). Clinical Considerations for a Regenerative Procedure. [Em linha]. Disponível em <http://www.aae.org/uploadedfiles/publications_and_research/research/currentregenerativeendodonticconsiderations.pdf>. [Consultado em 13/02/2017].
- Andreasen, J. et al. (2008). The role of antibiotics in preventing healing complication after traumatic dental injuries: a literature review. *Endodontic Topics*, 14(1), pp. 80-92.
- Arribança, A. e Cardoso, I. (2009). Aplicações da bioengenharia em medicina dentária. *Revista da Faculdade de Ciências da Saúde*, 6, pp. 40-49.
- Bansal, R. e Bansal, R. (2011). Regenerative Endodontics: a state of the Art. *Indian Journal of Dental Research*, 22(1), pp.122-131.
- Bansal, R. et al. (2014) Regenerative Endodontics: A Road Less Travelled. *Journal of Clinical and Research*, 8(10), pp. 20-24.
- Bezgin, T. et al. (2014). Concentrated platelet-rich plasma used in root canal revascularization: 2 case reports. *International Endodontic Journal*, 47(1), pp. 41-49.
- Cehreli, Z. C. 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.
- Cehreli, Z. C., Sara, S. e Aksoy, B. (2012). Revascularization of immature permanent incisors after severe extrusive luxation injury. *The Journal of the Michigan Dental Association*, 95(3), pp. 58-62.
- Cotti, E., Mereu, M. e Lusso, D. (2008). Regenerative treatment of an immature traumatized tooth with apical periodontitis: report of a case. *Journal of Endodontics*, 34(5), pp. 611-616.
- Chen, M. Y. et al. (2012). Responses of immature permanent teeth with infected necrotic pulp tissue and apical periodontitis/abscess to revascularization procedures. *International Endodontic Journal*, 45(3), pp. 294-305.
- Chueh, L. H. et al. (2009). Regenerative endodontic treatment for necrotic immature permanent teeth. *Journal of Endodontics*, 35(2), pp. 160-164.
- Dabbagh, B. et al. (2012). Clinical complications in the revascularization of immature necrotic permanent teeth. *Pediatric Dentistry*, 34(5), pp. 414-417.
- Demarco, F. F. et al. (2011). Dental Pulp Tissue Engineering. *Brazilian Dental Journal*, 22(1), pp. 3-13.
- Ding, R. Y. et al. (2009). Pulp revascularization of immature teeth with apical periodontitis. *Journal of Endodontics*, 35(5), pp. 745-749.
- Egusa, P. et al. (2012). Stem cells in dentistry – Part I: Stem cell sources. *Journal of Prosthodontics Research*, 56, pp. 151-165.
- Estrela, C. et al. (2011). Mesenchymal stem cells in the dental tissues: perspectives for a tissue regeneration. *Brazilian Dental Journal*, 22(2), pp. 91-98.

- Farsi, N., Abuzeid, S. e Ashiry, E. (2013). Revascularization of dental pulp in human necrotic permanent teeth with immature apex: three case reports. *International Journal of Oral Health Sciences*, 6(1), pp.4-10.
- Flake, N. M. et al. (2014). A standardized novel method to measure radiographic root changes following endodontic therapy in immature teeth. *Journal of Endodontics*, 40(1), pp. 46-50.
- Forghani, M., Parisay, I. e Maghsoudlou, A. (2013). Apexogenesis and revascularization treatment procedures for two traumatized immature permanent maxillary incisors: a case report. *Restorative Dentistry Endodontics*, 38(3), pp. 178-181.
- Gandhi, A., Gandhi, T. e Madan, N. (2011). Dental pulp stem cells in endodontic research: a promising tool for tooth tissue engineering. *Revista Sul-Brasileira de Odontologia*, 8(3), pp. 335-340.
- Gelman, R. e Park, H. (2012). Pulp revascularization in an immature necrotic tooth: a case report. *Pediatric Dentistry*, 34(7), pp. 496-499.
- Gomes-Filho, J. E. et al. (2013). Histologic characterization of engineered tissues in the canal space of closed-apex teeth with apical periodontitis. *Journal of Endodontics*, 39(12), pp. 1549-1556.
- Govindasamy, V. et al. (2010). Inherent differential propensity of dental pulp stem cells derived from human deciduous and permanent teeth. *Journal of Endodontics*, 36(9), pp. 1504-1515.
- Hargreaves K.M. et al. (2008) Regenerative potential of the young permanent tooth: what does the future hold?. *Journal of Endodontics*, 34(7), pp. 51-56.
- Horst O. V., (2012). Stem Cell and Biomaterials Research in Dental Tissue Engineering and Regeneration. *Dental Clinics of North America*, 56(3), pp. 495-520.
- Huang G. T., (2009). Pulp and dentin tissue engineering and regeneration: current progress. *Regenerative Medicine*, 4(5), pp. 697-707.
- Iwaya, S., Ikawa, M. e Kubota, M. (2011). Revascularization of an immature permanent tooth with periradicular abscess after luxation. *Dental Traumatology*, 27(1), pp. 55-58.
- Jadhav, G. R., Shah, N. e Logani, A., (2012) Revascularization with and without platelet-rich plasma in nonvital, immature, anterior teeth: a pilot clinical study. *Journal of Endodontics*, 38(2), pp. 1581-1587.
- Jadhav, G. R., (2013). Comparative outcome of revascularization in bilateral, non-vital, immature maxillary anterior teeth supplemented with or without platelet rich plasma: A case series. *Journal of Conservative Dentistry*, 16(6), pp.568-572.
- Jadhav, G. R., Shad, D. e Raghvendra, S. S. (2015) Autologus Platelet Rich Fibrin aided Revascularization of an immature, non-vital permanent tooth with apical periodontitis: A case report. *Journal of Nature Science, Biology and Medicine*, 6(1), pp. 224-225.
- Jeeruphan, T. et al. (2012). Mahidol study 1: comparison of radiographic and survival outcomes of immature teeth treated with either regenerative endodontic or apexification methods: a retrospective study. *Journal of Endodontics*, 38(10), pp. 1330-1336.
- Jung, I. Y., Lee, S. J. e Hargreaves, K. M. (2008). Biologically based treatment of immature permanent teeth with pulpal necrosis: a case series. *Journal of Endodontics*, 34(7), pp. 876-887.
- Kahler, B. et al. (2014). Revascularization outcomes: a prospective analysis of 16 consecutive cases. *Journal of Endodontics*, 40(3), pp. 333-338.
- Keswani, D. e Pandey, R. K. (2013). Revascularization of an immature tooth with a necrotic pulp using platelet-rich fibrin: a case report. *International Endodontics Journal*, 46(11), pp. 1096-1104.
- Kim, J. H. et al. (2010). Tooth discoloration of immature permanent incisor associated with triple antibiotic therapy: a case report. *Journal of Endodontics*, 36(6), pp.1086-1091.

- Kim, D. S. et al. (2012). Long-term follow-ups of revascularized immature necrotic teeth: three case reports. *International Journal of Oral Science*, 4(2), pp.109-113.
- Kim, S. G. et al. (2012). Regenerative Endodontics: Barriers and Strategies for Clinical Translation. *Dental Clinics of North America*, 56(3), pp. 639-649.
- Kottor, J. e Velmurugan, N. (2013). Revascularization for a necrotic immature permanent lateral incisor: a case report and literature review. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 23(4), pp. 310-316.
- Kumar, H. et al. (2010). Regenerative Endodontics. *Indian Journal of Dental Advancements*, 2(2), pp. 203-209.
- Lenzi, R. e Trope, M. (2012). Revitalization procedures in two traumatized incisors with different biological outcomes. *Journal of Endodontics*, 38(3), pp. 411-414.
- Lin, L. M. et al. (2014). Histologic and histobacteriologic observations of failed revascularization/revitalization therapy: a case report. *Journal of Endodontics*, 40(2), pp. 291-295.
- Lovelace, T. W. 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.
- Martin, G. et al. (2013). Histological findings of revascularized/revitalized immature permanent molar with apical periodontitis using platelet-rich plasma. *Journal of Endodontics*, 39(1), pp. 138-144.
- McCabe, P. (2014). Revascularization of an immature tooth apical periodontitis using a single visit protocol: a case report. *International Endodontic Journal*, 48(5), pp. 484-497.
- McTigue, D. J., Subramanian, K. e Kumar, A. (2013). Case series: management of immature permanent teeth with pulpar necrosis: a case series. *Pediatric Dentistry*, 35(1), pp.55-60.
- Miller, E. K. et al. (2012). Emerging therapies for the management of traumatized immature permanent incisors. *Pediatric Dentistry*, 34(1), pp. 66-69.
- Mishra, N., Narang, I. e Mittal, N. (2013). Platelet-rich fibrin-mediated revitalization of immature necrotic tooth. *Journal of Conservative Dentistry*, 4(3), pp. 412-415.
- Murray, P. E. et al. (2007). Regenerative endodontics: A Review of Current Status and a Call for Action. *Journal of Endodontics*, 33(4), pp. 377-390.
- Nakamura, S. et al. (2009). Stem cell proliferation pathways comparison between human exfoliated deciduous teeth and dental pulp stem cells by gene expression profile from promising dental pulp. *Journal of Endodontics*, 35(11), pp. 1536-1542.
- Narayana, P. et al. (2012). Endodontic clinical management of a dens invaginatus case by using a unique treatment approach: a case report. *Journal of Endodontics*, 38(8), pp. 1145-1148.
- Neha, K. et al. (2011) Management of immature teeth by dentin-pulp regeneration: a recent approach. *Medicina Oral, Patologia Oral y Cirurgia Bucal*, 16(7), pp. 997-1004.
- Nosrat, A., Seifi, A. e Asgary, S. (2011). Regenerative endodontic treatment (revascularization) for necrotic immature permanent molars: a review and report of two cases with a new biomaterial. *Journal of Endodontics*, 37(4), pp. 562-567.
- Nosrat, A., Homayounfar, N. e Oloomi, K. (2012). Drawbacks and unfavourable 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.
- Nosrat, A. et al. (2013). Is Pulp Regeneration Necessary for Root Maturation?, *Journal of Endodontics*, 39(1), pp. 1291-1295.
- Nosrat, A. et al. (2014) Tissue Engineering Considerations in Dental Pulp Regeneration. *Iranian Endodontic Journal*, 9(1), pp. 30-39.

- Paryani, K. e Kim, S. G. (2013). Regenerative endodontic treatment of permanent teeth after completion of root development: a report of two cases. *Journal of Endodontics*, 39(7), pp. 929-934.
- Pereira, R. (2014). Endodontia Regenerativa: Alterações de paradigma no tratamento de dentes necrosados. Tese de Mestrado. *Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto*, Porto.
- Petrino, J. A. et al. (2010). Challenges in regenerative endodontics: a case series. *Journal of Endodontics*, 36(3), pp. 536-541.
- Reynolds, K., Johnson, J. D. e Cohenca, N. (2009). Pulp revascularization of necrotic bilateral bicuspid using a modified novel technique to eliminate potential coronal discolouration: a case report. *International Endodontics Journal*, 42(1), pp. 84-92.
- Saber, S. E. M., (2009). Tissue engineering in endodontics. *Journal of Oral Science*, 51(4), pp. 495-507.
- Sachdeva, G. S. et al., (2015). Regenerative endodontic treatment of immature tooth with a necrotic pulp and apical periodontitis using platelet-rich plasma (PRP) and mineral trioxide aggregate (MTA): a case report. *International Endodontic Journal*, 48, pp. 902-910.
- Shad, N. et al. (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.
- Shiehzaheh, V. et al. (2014). Healing of large periapical lesions following delivery of dental stem cells with an injectable scaffold: New method and three case reports. *Indian Journal Dental Research*, 25(2), pp. 248-253.
- Shin, S. Y., Albert, J. S. e Mortman, R. E. (2009) One step pulp revascularization treatment of an immature permanent tooth with chronic apical abscess: a case report. *International Endodontics Journal*, 42(12), pp. 1118-1126.
- Shivashankar, V. Y. et al. (2012). Platelet Rich Fibrin in the revitalization of tooth with necrotic pulp and open apex. *Journal of Conservative Dentistry*, 15(4), pp. 395-398.
- Soares, A. J. et al. (2013). Pulp revascularization after root canal decontamination with calcium hydroxide and 2% chlorhexidine gel. *Journal of Endodontics*, 39(3), pp 417-420.
- Sun, H.H. et al. (2010). Biological approaches toward dental pulp regeneration by tissue engineering. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 5(4), pp. 1-16.
- Yang, J. (2013). Pulp revascularization of immature dens invaginatus with periapical periodontitis. *Journal of Endodontics*, 39(2), pp. 288-292.
- Yang, M. (2013). Regenerative Endodontics: A New Treatment Modality for Pulp Regeneration. *JSM Dentistry*, 1(2), pp. 1011.
- Thomson, A. e Kahler, B. (2010). Regenerative endodontics – biologically-based treatment for immature permanent teeth: a case report and review of the literature. *Australian Dental Journal*, 55(4), pp. 446-452.
- Torabinejad, M. e Turman, M. (2011). Revitalization of tooth with necrotic pulp and open apex by using platelet-rich plasma: a case report. *Journal of Endodontics*, 37(2), pp. 265-268.
- 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. et al. (2011). Effect of irrigants on the survival of human stem cells of the apical papilla in the platelet-rich plasma scaffold in human root tips. *Journal of Endodontics*, 37(8), pp. 1109-1115.

- Tribodeau, B. e Trope, M. (2007). Pulp revascularization of a necrotic infected immature permanent tooth: case report and review of the literature. *Pediatric Dentistry*, 29(1), pp. 47-50.
- Tribodeau, B. (2009). Case Report: pulp revascularization of a necrotic, infected, immature, permanent tooth. *Pediatric Dentistry*, 31(2), pp. 145-148.
- Trope, M. (2008). Regenerative potencial of dental pulp. *Journal of Endodontics*, 34(7), pp. 13-17.
- Vijayaraghavan, R. et al. (2012). Triple antibiotic paste in root canal therapy. *Journal of pharmacy & bioallied sciences*, 4(2), pp. 230-233.
- Wigler, R. et al. (2013). Revascularization: A treatment for permanent teeth with necrotic pulp and incomplete root development. *Journal of Endodontics*, 39(3), pp. 319-326.

VI. Anexos

Tabela 1 - Fatores de crescimento estudados por diversos investigadores (Bansal, R. e Bansal, R., 2011– acesso aberto, com permissão para usar em dissertação/tese sem fins lucrativos)

Researchers	Growth factors studied		Results of the study
	Superfamily	Family	
Smith <i>et al.</i> ^[66]	Transforming growth factor (TGF)	TGF- β_1	They are secreted by odontoblasts and are deposited within the dentin matrix, where they remain protected in an active form through interaction with other components of the dentin matrix
Smith <i>et al.</i> ^[67] Huoja <i>et al.</i> ^[68]	-do- TGF	TGF- β_1 TGF- β_3	Stimulated increase in tertiary dentin matrix secretion Indicated for the first time that TGF- β_3 induces ectopic mineralization through regulation of osteo-calcin and type 1 collagen expression in DPSC
Tai <i>et al.</i> ^[69]	-do-	TGF- β	TGF- β may affect the growth and differentiation of dental pulp cells via an autocrine fashion by activation of the ALK/Smad 2/3 – signal transduction pathways
Begue-Kim <i>et al.</i> ^[70]	-do-	TGF- β_1 BMP-2	Demonstrated that TGF- β_1 present in dentin could interact with some component which acts as a modulator of its activity on the initiation of the cytological and functional differentiation of odontoblasts.
Nakashima <i>et al.</i> ^[71]	-do-	TGF- β , BMP-2 BMP-4	Demonstrated regulatory role of TGF- β , BMP-2 and 4 on the gene expression of extracellular matrix proteins and the differentiation of pulp cells into preodontoblasts.
Sloan <i>et al.</i> ^[72]	-do-	BMP-7	BMP-7 when applied to freshly cut dentin in monkey teeth, stimulated tertiary dentin formation
Iohara <i>et al.</i> ^[73]	-do-	BMP-2	BMP-2 can direct pulp progenitor stem cell differentiation into odontoblasts and result in dentin formation.
Roberts-Clark <i>et al.</i> ^[74]	PDGF EGF Others	VEGF, PDGF-AB EGF PIGF, FGF ₂	Dentin matrix contains angiogenic growth factors
He <i>et al.</i> ^[75]	Others TGF	FGF-2 TGF- β_1	TGF- β_1 initiates odontoblasts like differentiation of DPSCs; FGF-2 exerts effect on cell proliferation and synergistically upregulates the effects of TGF- β_1 .
Ishimatsu <i>et al.</i> ^[76]	Others	FGF-2	Dentin regeneration on amputated pulp can be regulated by adjusting the dose of FGF-2.
Goncalves <i>et al.</i> ^[77]	Platelet derived growth factor (PDGF)	rhVEGF ₁₆₅	Induced an angiogenic response in the pulp Findings suggest that cells of severed dental pulps are still capable of responding to the angiogenic stimuli mediated by VEGF VEGF could be useful in the treatment of dental pulp conditions that require revascularization (e.g. immediate replantation of avulsed tooth: this hypothesis is under investigation)
Aranha <i>et al.</i> ^[78]	PDGF	VEGF	Hypoxia, consequent to trauma, enhances VEGF expression in DPSCs
Li <i>et al.</i> ^[79] Lovschall <i>et al.</i> ^[80]	Others Others	GH and IGF-1 rhIGF-1	GH and IGF-1 induce BMP-2 and 4 rhIGF-1 enhances reparative dentino-genesis in pulp capping of rat molars
He <i>et al.</i> ^[81]		DMP ₁	DMP ₁ can induce differentiation of stem cells into odontoblast-like cells and stimulate the formation of mineralized tissues.
Almushayt <i>et al.</i> ^[82] Prescott <i>et al.</i> ^[83]	DMP	DMP-1 DMP ₁	Found in dentin and bone and regulates mineralization. DMP ₁ induces the cytodifferentiation of undifferentiated pulp cells to matrix synthesizing cells
Sobhani <i>et al.</i> ^[84]		Endochondral bone matrix gelatin (ec BMG)	Implantation of Ec-BMG in pulp cavity can induce pulp cells, secondary dentin and osteodentin in rabbits
Iwasaki <i>et al.</i> ^[85] Kajiya <i>et al.</i> ^[86]		IL-6 Antimicrobial peptide LL 37	Mediator of osteoblastic differentiation in periodontal ligament cells. LL 37 induces the migration of human pulp cells.
Kim <i>et al.</i> ^[87]		Heme-oxygenase (HO-1)	Odontoblastic differentiation of hDPSCs and growth are positively regulated by HO-1 induction and <i>vice versa</i> .

Figura 2 - Composição e instruções de mistura da pasta de Hoshino (Trope, 2008- com o consentimento do autor)

3Mix-MP

- Antibiotics (3Mix)
 - Ciprofloxacin 200mg
 - Metronidazole 500mg
 - Minocycline 100mg
- Carrier (MP)
 - Macrogol ointment
 - Propylene glycol

Protocol for preparation

- Antibiotics (3Mix) – be sure to not cross-contaminate
 - Remove sugar coating from tablets with surgical blade, crush individually in separate mortars
 - Open capsules, crush in individually in separate mortars
 - Grind each antibiotic to a fine powder
 - Combine equal amounts of antibiotics (1:1:1) on mixing pad
- Carrier (MP)
 - Equal amounts of macrogol ointment and propylene glycol (1:1)
 - Using clean spatula, mix together on pad
 - Result should be opaque
- Separate out small portions of 3Mix and incorporate into MP using the following:
 - 1:5 (MP:3Mix) → creamy consistency
 - 1:7 (standard mix) → smears easily but does not crumble
 - If result is flaky or crumbly, then too much 3Mix has been incorporated

Storage

- Antibiotics must be kept separately in moisture-tight porcelain containers
- Macrogol ointment and propylene glycol must be stored separately
 - Discard if mixture is transparent (evidence of moisture contamination)

Figura 3 - Protocolo de Revascularização Pulpar por Coágulo Sanguíneo
(*American Association of Endodontics*, revisto a 06/08/2016)

AAE Clinical Considerations for a Regenerative Procedure
Revised 6-8-16

These considerations should be seen as one possible source of information and, given the rapid evolving nature of this field, clinicians should also actively review new findings elsewhere as they become available.

Case Selection:

- 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 1 or 2).

Informed Consent

- 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).

First Appointment

- Local anesthesia, 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 0.1-1.0 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.
- 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 weeks.

Second Appointment (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 2 mm 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, Lancasted, PA, USA]) should be considered in teeth where there is an esthetic 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 beveled 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.

Follow-up

- 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
- 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)

Tabela 2- Comparação de casos clínicos (Pereira, R., 2014; Atualização da tabela com novos casos clínicos)

Autor	Idade/ Gênero	Dente	Diagnostico	Irrigação	Medicação intracanal	Duração	Coágulo sanguíneo/ Material	Selamento / Restauração	Follow Up	Patologia Pulpar	Crescimento longitudinal/ transversal	Resposta vitalidade
Tribodeau B. e Trope M., 2007 e 2009	9/H	11	Necrose e abscesso apical agudo	1,25% NaOCl	Metronidazol, ciprofloxacina e cefaclor	11 semanas	Sim/ Lima endodôntica	MTA branco/ Resina Composta	41 meses	Resolvida	Sim/ Sim	Não
Cotti E., 2008	9/H	11	Necrose e abscesso apical crônico	5,25% NaOCl e 3% Peróxido de Hidrogênio (H ₂ O ₂)	Pó Ca(OH) ₂	2 semanas	Sim	MTA/ Ionómero de Vidro (IV) e Resina Composta	30 meses	Resolvida	Sim/ Sim	Não
Jung I.Y., 2008	10/M	45	Necrose e abscesso apical crônico	5% NaOCl	Pasta de Hoshino; Eritromicina e Ca(OH) ₂ ; pasta de Ca(OH) ₂	1ª semana e substituição por eritromicina e pasta de Ca(OH) ₂ ; 3 semanas depois com pasta de Hoshino durante 50 dias; pasta de Ca(OH) ₂ durante 6 meses	Não	Guta-percha / Resina Composta	5 anos	Resolvida	Sim/ Sim	Não
Jung I.Y., 2008	10/M	44	Necrose e abscesso apical crônico	5% NaOCl	Pasta de Hoshino; pasta de Ca(OH) ₂	50 dias com pasta de Hoshino e substituição por pasta de Ca(OH) ₂ durante 6 meses	Não	Guta-percha/ Resina Composta	6 anos	Resolvida	Sim/Sim	Não

Autor	Idade/ Género	Dente	Diagnostico	Irrigação	Medicação intracanal	Duração	Coágulo sanguíneo/ Material	Selamento / Restauração	Follow Up	Patologia Pulpar	Crescimento longitudinal/ transversal	Resposta vitalidade
Jung I.Y., 2008	10/H	45	Necrose e abscesso apical crónico	5,25% NaOCl	Pasta de Hoshino	11 dias	Não	MTA/ Resina Composta	2 anos	Resolvida	Sim/Sim	Não refere
Jung I.Y., 2008	10/H	35	Necrose e periodontite apical assintomática	5% NaOCl	Pasta de Hoshino; Pasta de Ca(OH) ₂	30 dias com pasta de Hoshino e substituição por pasta de Ca(OH) ₂ durante 40 dias	Não	MTA/ Resina Composta	10 meses	Resolvida	Sim/Sim	Não refere
Jung I.Y., 2008	13/H	35	Necrose e periodontite apical assintomática	5,25% NaOCl	Pasta de Hoshino	2 semanas	Não	MTA/ IRM	2 anos	Resolvida	Não refere	Não refere
Jung I.Y., 2008	10/M	35	Necrose e periodontite apical assintomática	2,5% NaOCl	Pasta de Hoshino	1 semana	Sim/ Lima K30	MTA/ Resina Composta	2 anos	Resolvida	Sim/Sim	Não refere
Jung I.Y., 2008	9/M	35	Necrose e abscesso apical crónico	2,5% NaOCl	Pasta de Hoshino	1 semana	Sim/ Lima K30	MTA/ Resina Composta	2 anos	Resolvida	Sim/Sim	Não refere
Jung I.Y., 2008	14/M	45	Necrose e abscesso apical crónico	2,5% NaOCl	Pasta de Ca(OH) ₂	1 semana	Sim/ Lima K30	MTA/ Resina Composta	1 ano	Redução significativa	Não refere	Não refere

Autor	Idade/ Género	Dente	Diagnostico	Irrigação	Medicação intracanal	Duração	Coágulo sanguíneo/ Material	Selamento / Restauração	Follow Up	Patologia Pulpar	Crescimento longitudinal/ transversal	Resposta vitalidade
Jung I.Y., 2008	10/M	45	Necrose e periodontite apical assintomática	2,5% NaOCl	Pasta de Hoshino	3 semanas	Sim/ Lima K30 e por coágulo insuficiente colocou membrana de colagénio (CollaTape®)	MTA/ Resina Composta	17 meses	Resolvida	Não refere/Sim	Não refere
Shah N., 2008	9-18 anos (9 H e 5 M)	14 dentes	Necrose e periodontite apical assintomática ou abscesso apical crónico	2,5% NaOCl e 3% H ₂ O ₂	Formocresol	Não refere	Sim/ Agulha	IV	6 meses a 3,5 anos	Resolvida (7); Redução significativa (6); Ligeira redução (1)	Sim(10)/Sim(8)	Não refere
Chueh L.H., 2009	6-14 anos	23 dentes	Necrose e abscesso apical agudo, abscesso apical crónico e periodontite apical assintomática	2,5% NaOCl	Pasta de Ca(OH) ₂	Grupo 1 (7): 1 a 3 meses; Grupo 2 (16): 5 a 25 meses	Não	Grupo 1: MTA e Guta-Percha/ Resina Composta Grupo 2: MTA, Guta-Percha e Amálgama / Resina Composta	Grupo 1: 6 a 30 meses Grupo 2: 7 a 108 meses	Resolvida	Sim/Sim (não especifica)	Não refere
Ding R. Y., 2009	8-9 anos (2M e 1H)	3 dentes	Necrose e abscesso apical agudo ou abscesso apical crónico	5,25% NaOCl	Pasta de Hoshino	7 dias	Sim/ Lima K40	MTA cinzento/ Resina Composta	12-15 meses	Resolvida	Sim/Sim (não especifica)	Sim (elétrico)

Autor	Idade/ Género	Dente	Diagnostico	Irrigação	Medicação intracanal	Duração	Coágulo sanguíneo/ Material	Selamento / Restauração	Follow Up	Patologia Pulpar	Crescimento longitudinal/ transversal	Resposta vitalidade
Reynolds, K., 2009	11/M	35 e 45	Necrose e abscesso apical crónico	6% NaOCl, soro fisiológico e 2% CHX	Pasta de Hoshino (250mg cada); protocolo com adesivo e resina na câmara	4 semanas	Sim/ Lima K20	MTA cinzento/ Resina Composta	18 meses	Resolvida	Sim/Sim (não especifica)	Sim (frio)
Shin, S.Y., 2009	12/M	45	Necrose e abscesso apical crónico	6% NaOCl, soro fisiológico e 2% CHX	Nenhum	Nenhum	Não	MTA branco/ Resina Composta	19 meses	Resolvida	Sim/Sim	Não
Kim, J.H. 2010	7/M	11	Necrose e periodontite apical sintomática	3% NaOCl e soro fisiológico	Pasta de Hoshino	6 semanas	Sim/ Pontas de papel	MTA/ IV e Resina Composta	8 meses	Resolvida	Sim/Sim (não especifica)	Não refere
Petrino, J.A., 2010	13/H	11 e 21	Necrose e abscesso apical crónico ou periodontite apical assintomática	5,25% NaOCl, soro fisiológico e 0,12% CHX	Pasta de Hoshino (100mg cada)	3 semanas	Sim/ Sonda endodôntica, lima K80	MTA branco/ Resina Composta	12 meses	Resolvida	Sim/Sim (11) Não/Não (12)	Não
Petrino, J.A., 2010	11/H	35 e 45	Necrose e abscesso apical crónico ou periodontite apical assintomática	5,25% NaOCl, soro fisiológico e 0,12% CHX	Pasta de Hoshino (100mg cada)	34 dias	Sim/Limas endodônticas e fibras de esponja de colagénio (CollaPlug®)	MTA branco/ Resina Composta	12 meses	Resolvida	Sim/Sim	Sim

Autor	Idade/ Género	Dente	Diagnostico	Irrigação	Medicação intracanal	Duração	Coágulo sanguíneo/ Material	Selamento / Restauração	Follow Up	Patologia Pulpar	Crescimento longitudinal/ transversal	Resposta vitalidade
Petrino, J.A., 2010	6/M	11 e 21	Polpa necrosada e periodontite apical assintomática	5,25% NaOCl, soro fisiológico e 0,12% CHX	Pasta de Hoshino (100mg cada)	2 semanas	Sim/Limas endodônticas e fibras de esponja de colagénio (CollaPlug®)	MTA branco/ Resina Composta	6 meses	Resolvida	Sim /Sim	Não
Thomson, A. e Kahler, B., 2010	12/M	35	Necrose e abscesso apical crónico	1% NaOCl com agitação ultrassónica	Pasta de Hoshino (20mg cada)	6 semanas	Sim/ Spreader manual de NiTi	MTA branco/ IV e Resina Composta	18 meses	Resolvida	Sim/Sim	Sim (elétrico)
Cehreli, Z. C., 2011	8-11 anos (6)	6 dentes	Necrose e abscesso apical agudo	5% NaOCl e 3% de H ₂ O ₂	Pasta de Ca(OH) ₂	3 semanas	Sim/ Lima K15 e transferência de sangue entre canais	MTA/ IV e Resina composta ou amálgama	9-10 meses	Resolvida	Sim/Sim	Sim em 2 casos ao frio
Iwaya, S., 2011	7/H	31	Necrose e abscesso apical agudo	5% NaOCl e 3% H ₂ O ₂	Pasta de Ca(OH) ₂	Mais de 3 meses	Não	Guta-Percha/ Resina composta	13 meses	Resolvida	Não refere/ Sim	Sim (elétrico)
Jung I.Y., 2011	14/M	35	Necrose e periodontite apical sintomática	2,5% NaOCl com agitação ultrassónica	Pasta de Ca(OH) ₂	6 meses	Não	Guta-Percha/ Amálgama	14 meses	Resolvida	Não/Não	Não refere

Autor	Idade/ Género	Dente	Diagnostico	Irrigação	Medicação intracanal	Duração	Coágulo sanguíneo/ Material	Selamento / Restauração	Follow Up	Patologia Pulpar	Crescimento longitudinal/ transversal	Resposta vitalidade
Nosrat, A., 2011	9/H	46	Necrose e periodontite apical sintomática	5,25% NaOCl	Pasta de Hoshino	3 semanas	Sim/ Lima K40 e K20 (tem 2canais)	Cimento CEM (mistura rica em cálcio)/ IV e amálgama	18 meses	Resolvida	Sim/Sim	Não
Nosrat, A., 2011	8/M	46	Necrose e abscesso apical crónico	5,25% NaOCl	Pasta de Hoshino	3 semanas	Sim/ Lima K40 e K20 (tem 2canais)	Cimento CEM/ IV e coroa de aço inoxidável	15meses	Resolvida	Sim(transfusão de sangue para a raiz mesial)/Sim	Não
Torabinejad, M. e Turman, M., 2011 e 2012	11/H	15	Necrose e periodontite apical sintomático	5,25% NaOCl	Pasta de Hoshino	22 dias	Não/ PRP	MTA cinzento/ Amálgama	5 meses a 14 meses	Resolvida	Sim/Sim	Sim (frio e elétrico)
Aggarwal, V., 2012	24/M	11	Necrose e abscesso apical crónico	5,25% NaOCl, soro fisiológico e 2% CHX	Pasta de Ca(OH) ₂	2 meses	Não	Guta-Percha	24 meses	Resolvida	Não/Não	Não
Aggarwal, V., 2012	24/M	21	Necrose e abscesso apical crónico	5,25% NaOCl, soro fisiológico e 2% CHX	Pasta de Hoshino	2 meses e 1 semana	Sim/Agulha 27G	MTA branco/ IV e resina composta	24 meses	Resolvida	Sim/Sim	Não refere
Cehreli, Z. C. 2012	8/H	11 e 21	Necrose e periodontite apical sintomático	2,5% NaOCl e soro fisiológico na 2ª consulta	Pasta de Ca(OH) ₂	3 semanas	Sim/ Lima K15	MTA/ Resina composta	18 meses	Resolvida	Sim/Sim	Sim (frio e elétrico)

Autor	Idade/ Género	Dente	Diagnostico	Irrigação	Medicação intracanal	Duração	Coágulo sanguíneo/ Material	Selamento / Restauração	Follow Up	Patologia Pulpar	Crescimento longitudinal/ transversal	Resposta vitalidade
Chen, M.Y.H., 2012	8-13 anos (20 pacientes)	20 dentes	Necrose e abscesso apical crónico ou periodontite apical	5,25% NaOCl	Pasta de Ca(OH) ₂	Máximo 4 semanas	Sim/Lima K	MTA/ Resina Composta	6-26 meses	Resolvida	Sim(15)/Sim	Não refere
Dabbagh, B., 2012	7-15 anos (14 pacientes)	18 dentes	Necrose e infecção aguda ou crónica	5% NaOCl e soro fisiológico	Metronidazol (500mg), Ciprofloxacina (500mg), Minociclina (500mg)	2-6 semanas	Sim/Lima endodôntica	MTA branco/ IV e resina composta	24 meses	Resolvida (16)	Sim(16)/ Sim(16)	Não refere
Jadhav, G. 2012	15-27 anos (5H e 5M)	10 dentes	Necrose com ou sem periodontite apical	2,5% NaOCl	Pasta de Hoshino	Não refere	Sim/ Agulha G23	Ionómero de Vidro Modificado por Resina (IVMR)	12 meses	Resolvida	Sim/Sim	Não refere
Jadhav, G. 2012	15-28 anos (7H e 3M)	10 dentes	Necrose com ou sem periodontite apical	2,5% NaOCl	Pasta de Hoshino	Não refere	Não/ PRP em esponja de colagénio	IVMR	12 meses	Resolvida	Sim/Sim	Não refere
Jeeruphan, T., 2012	8-14 anos (10H e 10M)	20 dentes	Necrose e periodontite apical sintomática ou assintomática	2,5% NaOCl	Pasta de Hoshino	28,85 dias +- 13,08	Sim/Lima ou spreader endodôntico	MTA/IV e resina composta	21,15 meses +- 11,7	Resolvida (16) Em resolução (4)	Sim(19)/Sim	Não refere

Autor	Idade/ Género	Dente	Diagnostico	Irrigação	Medicação intracanal	Duração	Coágulo sanguíneo/ Material	Selamento / Restauração	Follow Up	Patologia Pulpar	Crescimento longitudinal/ transversal	Resposta vitalidade
Kim, D.S. 2012	12/H	35	Necrose e periodontite apical sintomática	3% NaOCl e soro fisiológico	Metronidazol, ciprofloxacina e cefaclor	2 semanas	Sim/Lima K10	MTA e Guta- Percha/ Resina composta	24 meses	Resolvida	Sim/Sim	Não refere
Kim, D.S. 2012	10/H	35	Necrose e periodontite apical sintomática	3% NaOCl e soro fisiológico	Metronidazol, ciprofloxacina e cefaclor	2 semanas	Sim/Lima K10	MTA e Guta- Percha/ Resina composta	48 meses	Resolvida	Não/Sim	Não refere
Kim, D.S. 2012	10/H	45	Necrose e periodontite apical sintomática	3% NaOCl e soro fisiológico	Metronidazol, ciprofloxacina e cefaclor	1 semana	Sim/Lima K10	MTA e Guta- Percha/ Resina composta	42 meses	Resolvida	Não/Sim	Não refere
Lenzi, R. e Trope, M., 2012	8/H	11 e 21	Necrose e periodontite apical assintomática	2% CHX, 2,5% NaOCl, solução tripla de antibiótico diluída e soro fisiológico final da 2ª consulta	Metronidazol (400mg), ciprofloxacina (250mg) e minociclina (50mg)	35 dias	Sim/Lima endodôntica	MTA branco/ Resina composta	21 meses	Resolvida	Sim(11)/ Sim(11)	Não
Miller, E.K. 2012	9/H	21	Pulpite irreversível assintomática e periodontite apical assintomática	2% CHX e 17% EDTA	Pasta de Hoshino	6 semanas	Sim/Lima K20	MTA branco/ IV e Resina composta	15 meses	Resolvida	Sim/Sim	Sim(frio)

Autor	Idade/ Género	Dente	Diagnostico	Irrigação	Medicação intracanal	Duração	Coágulo sanguíneo/ Material	Selamento / Restauração	Follow Up	Patologia Pulpar	Crescimento longitudinal/ transversal	Resposta vitalidade
Narayana, P. 2012	11/H	12	Necrose e periodontite apical sintomática	5,25% NaOCl	Pasta de Hoshino	2 semanas	Sim/Lima endodôntica	MTA branco/ IV e Resina composta	12 meses	Resolvida	Não/Não	Não refere
Nosrat, A. 2012	14/M	11 e 21	Necrose e periodontite apical sintomática	5,25% NaOCl	Pasta de Hoshino	4 semanas	Sim/Lima K40	MTA/ Não especifica	6 anos	Resolvida	Não/Não	Não
Shivashankar , Y.V. 2012	9/H	11	Necrose e periodontite apical sintomática	5,25% NaOCl, 0.2% CHX e soro fisiológico final da 2ª consulta	Metronidazol (400mg), ciprofloxacina (500mg) e minociclina (50mg)	21 dias	Não/PRF	MTA cinzento/ IV e resina composta	1 ano	Resolvida	Sim/Sim	Sim(frio e elétrico)
Farsi, N., 2013	9/H	21	Necrose e periodontite apical sintomática	2,5% NaOCl e soro fisiológico	Pasta de Hoshino	2 semanas	Sim/Lima K20	MTA/ Resina Composta	18 meses	Resolvida	Sim/Sim	Sim
Farsi, N., 2013	11/H	11	Necrose e periodontite apical assintomática	2,5% NaOCl e soro fisiológico	Pasta de Hoshino	2 semanas	Sim/Lima K20	MTA/ Resina Composta	18 meses	Resolvida	Sim/Sim	Sim
Farsi, N., 2013	8/M	21	Necrose e abcesso apical crônico	2,5% NaOCl e soro fisiológico	Pasta de Hoshino	4 semanas	Sim/Lima K20	MTA/ Resina Composta	18 meses	Resolvida	Sim/Sim	Sim

Autor	Idade/ Género	Dente	Diagnostico	Irrigação	Medicação intracanal	Duração	Coágulo sanguíneo/ Material	Selamento / Restauração	Follow Up	Patologia Pulpar	Crescimento longitudinal/ transversal	Resposta vitalidade
Forghani, M., 2013	9/H	11	Necrose e abscesso apical sintomático	5,25% NaOCl e soro fisiológico	Pasta de Hoshino	3 semanas	Sim/Lima K40	MTA branco/ Não específica	18 meses	Resolvida	Sim/Sim	Não refere
Jadhav, G.R. 2013	10/H	11 e 21	Necrose e abscesso apical agudo	2,5% NaOCl	Pasta de Hoshino	4 semanas	Sim/Lima endodôntica e PRP no 21	IV	12 meses	Resolvida	Sim/Sim (mais no dente com PRP)	Não refere
Jadhav, G.R. 2013	23/H	11 e 21	Necrose e abscesso apical crônico	2,5% NaOCl	Pasta de Hoshino	4 semanas	Sim/Lima endodôntica e PRP no 21	IV	12 meses	Resolvida	Sim/Sim (mais no dente com PRP)	Não refere
Jadhav, G.R. 2013	13/M	11 e 21	Necrose e abscesso apical crônico	2,5% NaOCl	Pasta de Hoshino	4 semanas	Sim/Lima endodôntica e PRP no 21	IV	12 meses	Resolvida	Sim/Sim (mais no dente com PRP)	Não refere
Keswani, D. e Pandey, R.K. 2013	7/H	11	Necrose e periodontite apical sintomática	5,25% NaOCl	Pasta de Hoshino	3 semanas	Não/ Membrana de PRF	MTA branco/ Resina composta	15 meses	Resolvida	Sim/Sim	Sim
Kottoor, J. E Velmurugan, N. 2013	11/H	12	Necrose e periodontite apical sintomática	5,25% NaOCl	Pasta de Hoshino (100mg cada)	3 semanas	Sim/Lima K50	MTA branco/ IV e Resina composta	5 anos	Resolvida	Sim/Sim	Não

Autor	Idade/ Género	Dente	Diagnostico	Irrigação	Medicação intracanal	Duração	Coágulo sanguíneo/ Material	Selamento / Restauração	Follow Up	Patologia Pulpar	Crescimento longitudinal/ transversal	Resposta vitalidade
Martin, G., 2013	9/H	46	Necrose e periodontite apical sintomática	5,25% NaOCl	Metronidazol (500mg), ciprofloxacina (200mg) e minociclina (100mg)	5 meses	Sim/Lima K25 nos canais mesiais e K35 no distal e PRP no canal distal	MTA branco/ Resina composta	2 anos e 1 mês	Resolvida	Sim/Sim (dente extraído por fratura; tecido do tipo cementoide/ osteoide	Não refere
McTigue, D.J. 2013	6-17 anos (28 pacientes)	32 dentes	Necrose e periodontite apical assintomática ou sintomática ou abscesso apical crónico ou agudo	3% NaOCl e 0,12% CHX com ativação ultrassónica	Metronidazol (250mg), ciprofloxacina (250mg) e clindamicina (150mg) após pasta de Hoshino provocar descoloração	3-4 semanas	Sim/Lima K15 ou K20 e perante pouca hemorragia, uma gota de EDTA no canal	MTA cinzento(12) e branco(20)/ IV	7-51 meses	Resolvida (31)	Sim(21)/ Sim(22)	Não refere
Mishra, N. 2013	11/H	21	Necrose e periodontite apical sintomática	2,5% NaOCl e soro fisiológico	Pasta de Hoshino	4 semanas	Não/ Membrana de PRF	MTA/ Resina composta	12 meses	Resolvida	Sim/Sim	Sim (frio e elétrico)
Nosrat, A. 2013	8/H	11	Necrose e abscesso apical agudo	2,5% NaOCl	Pasta de Ca(OH) ₂ e pasta de amoxicilina com ácido clavulânico (Augumentin®)	19 dias com a Pasta de Ca(OH) ₂ e 5 semanas coma pasta antibiótica	Sim/Lima endodôntica e membrana de colagénio (CollaCote®)	MTA branco/ Resina composta	31 meses	Resolvida	Não/Sim	Não

Autor	Idade/ Género	Dente	Diagnostico	Irrigação	Medicação intracanal	Duração	Coágulo sanguíneo/ Material	Selamento / Restauração	Follow Up	Patologia Pulpar	Crescimento longitudinal/ transversal	Resposta vitalidade
Paryani, K. e Kim, G.S. 2013	14/M	11	Necrose e periodontite apical sintomática	5,25% NaOCl e 17% EDTA	Pasta de Ca(OH) ₂	1 semana	Sim/Lima K40 e membrana de colagénio (CollaCote®) com pó de ciprofloxacina	MTA/ IV	22 meses	Resolvida	Sim/Sim	Sim (frio e elétrico)
Paryani, K. e Kim, G.S. 2013	11/M	21	Necrose e periodontite apical assintomática	5,25% NaOCl e 17% EDTA	Pó de ciprofloxacina	22 dias	Sim/Lima H30 e membrana de colagénio (CollaCote®)	MTA/ IV	18 meses	Resolvida	Sim/Sim	Não
Soares, A.J. 2013	9/M	21	Necrose e periodontite apical sintomática	2% Gel de CHX, 17% EDTA e soro fisiológico	Mistura de gel de CHX 2% com Ca(OH) ₂ na proporção de 1:1	21 dias	Sim/Lima K	MTA/ Resina composta	24 meses	Resolvida	Sim/Sim	Não
Yang, J. 2013	11/H	12	Necrose e periodontite apical sintomática	5,25% NaOCl e soro fisiológico	Pasta de Hoshino	4 semanas	Sim/ Lima K30	IV/ Resina composta	24 meses	Resolvida	Não refere/Sim	Não
Bezgin, T. 2014	12/H	25 e 35	Necrose	2,5% NaOCl, soro fisiológico, 0.12% CHX e 5% EDTA	Metronidazol, ciprofloxacina e cefaclor; câmara pulpar com agente adesivo	3 semanas	Não/ PRP	MTA branco/ IV e Resina composta	12 meses	Resolvida	Sim/Sim	Não

Autor	Idade/ Género	Dente	Diagnostico	Irrigação	Medicação intracanal	Duração	Coágulo sanguíneo/ Material	Selamento / Restauração	Follow Up	Patologia Pulpar	Crescimento longitudinal/ transversal	Resposta vitalidade
Kahler, B. 2014	7-12 anos (12 pacientes)	16 dentes	Necrose	1% NaOCl	Metronidazol, ciprofloxacina e amoxicilina	4 semanas	Sim/ Spreader ou Lima K35	MTA branco/ IV	18-36 meses	Resolvida (90,3%)	Sim(5)/Sim(10)	Sim(5)
McCabe, P. 2014	7/M	22	Necrose e periodontite apical assintomática	5% NaOCl com agitação ultrassônica e 17% de EDTA	Não realizou	Não realizou	Sim/Lima K	MTA/ IV	36 meses	Resolvida	Sim/Sim	Não
Shiehzadeh, V. 2014	20/M	35	Necrose e periodontite apical assintomática	5,25% NaOCl	Scaffold com células estaminais	3 meses, ápice fechou	Não/ Guta- percha	Resina composta	24 meses	Resolvida	Sim/Sim	Não
Al-Ghamdi, N.S. e Al- Nazhan, S. 2015	8/M	14	Necrose	5,25% NaOCl e soro fisiológico	Pasta de Ca(OH) ₂	3 semanas	Sim/ Lima K15	MTA/ Resina composta	36 meses	Resolvida	Sim/Sim	Não refere
Sachdeva, G.S. 2015	16/H	22	Necrose	5,25% NaOCl	Pasta de Hoshino	28 dias	Sim/PRP	MTA branco/ Resina composta	36 meses	Resolvida	Sim/Sim	Sim (elétrico)

Consentimentos dos autores

License Details

This Agreement between Fernando Gaspar ("You") and Wolters Kluwer Medknow Publications ("Wolters Kluwer Medknow Publications") consists of your license details and the terms and conditions provided by Wolters Kluwer Medknow Publications and Copyright Clearance Center.

License Number	4077270564145
License date	Mar 27, 2017
Licensed Content Publisher	Wolters Kluwer Medknow Publications
Licensed Content Publication	Indian Journal of Dental Research
Licensed Content Title	Regenerative endodontics: A state of the art
Licensed Content Author	Bansal R, Bansal R
Licensed Content Date	Jan 1, 2011
I would like to...	Thesis/Dissertation
Requestor type	Student
Format	Print, Electronic
Portion	chart/graph/table/figure
Number of charts/graphs/tables/figures	1
Rights for	Main product
Duration of use	
Creation of copies for the disabled	no
In the following language(s)	Original language of publication
With incidental promotional use	no
Lifetime unit quantity of new product	0 to 499
The requesting person/organization	Fernando Gaspar
Order reference number	
Title of your thesis / dissertation	Regeneração Pulpar
Expected completion date	Jun 2017
Expected size (number of pages)	30
Requestor Location	Fernando Gaspar Av. das Fontainhas 22 Rebordosa, Paredes

	4585-852 Portugal Attn: Fernando Gaspar
Billing Type	Invoice
	Fernando Gaspar Av. das Fontainhas 22
Billing address	Rebordosa, Portugal 4585-852 Attn: Fernando Gaspar
Total	0.00 EUR

License Details

This Agreement between Fernando Gaspar ("You") and Elsevier ("Elsevier") consists of your license details and the terms and conditions provided by Elsevier and Copyright Clearance Center.

License Number	4050320223308
License date	Feb 15, 2017
Licensed Content Publisher	Elsevier
Licensed Content Publication	Journal of Prosthodontic Research
Licensed Content Title	Stem cells in dentistry – Part I: Stem cell sources
Licensed Content Author	Hiroshi Egusa, Wataru Sonoyama, Masahiro Nishimura, Ikiru Atsuta, Kentaro Akiyama
Licensed Content Date	July 2012
Licensed Content Volume	56
Licensed Content Issue	3
Licensed Content Pages	15
Type of Use	reuse in a thesis/dissertation
Portion	figures/tables/illustrations
Number of figures/tables/illustrations	1
Format	both print and electronic
Are you the author of this Elsevier article?	No
Will you be translating?	Yes
Number of languages	1
Languages	Portuguese
Order reference number	

Original figure numbers	Fig. 2
Title of your thesis/dissertation	Regeneração Pulpar
Expected completion date	Jun 2017
Estimated size (number of pages)	30
Elsevier VAT number	GB 494 6272 12
	Fernando Gaspar
	Av. das Fontainhas 22

Requestor Location	Rebordosa, Paredes 4585-852
	Portugal
	Attn: Fernando Gaspar
Publisher Tax ID	GB 494 6272 12
Total	0.00 EUR

License Details

This Agreement between Fernando Gaspar ("You") and Elsevier ("Elsevier") consists of your license details and the terms and conditions provided by Elsevier and Copyright Clearance Center.

License Number	4064270403042
License date	Mar 08, 2017
Licensed Content Publisher	Elsevier
Licensed Content Publication	Journal of Endodontics
Licensed Content Title	Regenerative Potential of Dental Pulp
Licensed Content Author	Martin Trope
Licensed Content Date	July 2008
Licensed Content Volume	34
Licensed Content Issue	7
Licensed Content Pages	5
Type of Use	reuse in a thesis/dissertation
Portion	figures/tables/illustrations
Number of figures/tables/illustrations	1
Format	both print and electronic
Are you the author of this Elsevier article?	No
Will you be translating?	No

Order reference number	
Original figure numbers	figure 6
Title of your thesis/dissertation	Regeneração Pulpar
Expected completion date	Jun 2017
Estimated size (number of pages)	30
Elsevier VAT number	GB 494 6272 12
	Fernando Gaspar
	Av. das Fontainhas 22
Requestor Location	
	Rebordosa, Paredes 4585-852
	Portugal
	Attn: Fernando Gaspar
Publisher Tax ID	GB 494 6272 12
Total	0.00 EUR