



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**REVASCULARIZAÇÃO PULPAR EM DENTE DEFINITIVO
IMATURO- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Trabalho submetido por

Paul Louis Marie Bez

para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

outubro 2021



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**REVASCULARIZAÇÃO PULPAR EM DENTE DEFINITIVO
IMATURO- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Trabalho submetido por

Paul Louis Marie Bez

para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por

Prof. Doutor Ignacio Barbero

outubro 2021

Agradecimentos

Ao Instituto Universitário Egas Moniz pela rica aprendizagem e por me permitirem fazer da Medicina Dentária a minha profissão e de que tanto gosto.

Ao meu orientador, o Professor Doutor Ignacio Barbero, pela disponibilidade e o apoio na realização deste trabalho.

À minha família: Para a minha Kiki, estou triste por deixar Lisboa, mas tão feliz por saber que finalmente podemos trabalhar juntos. Obrigado por me teres dado a paixão pela medicina dentária e pela vida. Vamos divertir-nos!

Ao meu pai, sempre tive orgulho em ti, e hoje sei que estás orgulhoso de mim, e como Leneu diria, isto é Énorme por mim!

Para as minhas irmãs Cécile e Clara, amo-vos muito, estou tão orgulhoso de vós e do que são hoje, são os meus ídolos!

Aos meus avós, Nani, Papi, Kika e Dad; o pequeno Paul é doutor! Obrigado pelo vosso amor e apoio.

Uma menção especial ao meu avô, o Dr. René Lalanne, espero tornar-me tão bom dentista como tu, e também um grande jogador de Petanque.

Obrigado à Ana, a minha mãe portuguesa, pela tua valiosa ajuda aqui enquanto eu estava longe da minha família.

A todos os meus amigos em Montpellier e em Lisboa, obrigado por todos os bons momentos. Obrigado ao Robin (o meu T) por me ter trazido para a Egas Moniz.

Obrigado Estelle por teres sido a minha parceira de box durante estes dois anos de clínica, foste perfeita.

A Joana, obrigado pela tua ajuda preciosa, és a melhor.

Resumo

Os dentes definitivos imaturos são particularmente suscetíveis aos diferentes tipos de lesões que podem ocorrer devido à cárie dentária ou a traumas. Já bastante profundas, essas lesões podem levar a uma necrose do tecido pulpar e por consequência a uma interrupção da formação das raízes dentárias. O dente é então deixado com um ápex aberto e ainda com raízes finas e frágeis. Estas condições reduzem significativamente o prognóstico do tratamento endodôntico e aumentam o risco de fratura dentária (1).

A técnica da apexificação com Ca(OH)_2 (Hidróxido de Cálcio) é uma técnica bastante comum para solucionar os problemas dos dentes imaturos necrosados. Outra técnica mais recente também bastante utilizada é a apexificação com colocação de um Plug de MTA (Mineral Trioxide Aggregate), mas estas técnicas irão deixar as paredes residuais do dente bastante finas e frágeis (2).

Com a finalidade de tentar salvar a peça dentária já com a polpa necrosada, existe ainda a técnica de revascularização, que permite que as raízes do dente possam completar o seu normal desenvolvimento, provocando um aumento da espessura do tecido apical e que por consequência que ocorra o encerramento das raízes dentárias (3,4).

A revascularização é possível devido à utilização de células estaminais totipotentes vitais presentes na papila apical, estas possuem a capacidade de se diferenciar em odontoblastos secundários e assim contribuir para a continuação da apexogênese através da formação do tecido radicular (5).

O objetivo desta dissertação é uma revisão do estado de arte da revascularização dos dentes definitivos imaturos necrosados. Com base na evidencia científica mais recente, saber as bases biológicas desta técnica, estabelecer um protocolo simples e reprodutível para ser utilizado e por fim dar uma abertura sobre as possíveis novas técnicas que poderão ser utilizadas no futuro.

Palavras-chave: Regeneração, Endodontia, Dente imaturo, revascularização:

Abstract

Immature permanent teeth are particularly susceptible to different types of lesions, which can occur due to dental caries or trauma. If they are very deep, these lesions can lead to a pulp necrosis and consequently to the formation of the dental roots. (1). The tooth is then left with an open apex and still thin and fragile roots. These conditions greatly reduce the prognosis for endodontic treatment and increase the risk of tooth fracture.

The technique of apexification with Ca(OH)_2 (Calcium Hydroxide) is a very common technique to solve the problems of necrotic immature teeth.

Another more recent and widely used technique is apexification with placement of an MTA (Mineral Trioxide Aggregate) plug, but these techniques will leave the residual walls of the tooth quite thin and fragile (2).

In order to try to save a tooth with necrotic pulp, there is also the revascularization technique, which allows the roots of the tooth to complete their normal development, causing an increase in the thickness of the apical tissue and consequently the closure of the tooth roots (3).

Revascularisation is possible due to the use of vital totipotent stem cells present in the apical papilla, these have the ability to differentiate into secondary odontoblasts and thus contribute to the continuation of apexogenesis through the formation of root tissue (5).

The aim of this dissertation is a review of the state of the art of revascularization of necrotic immature permanent teeth. Based on the most recent scientific evidence, to know the biological basis of this technique, to establish a simple and reproducible protocol to be used and finally to give an opening on possible new techniques that could be used in the future.

Key Words: Regeneration, Endodontic, Immature tooth, Revascularisation

Résumé

Les dents permanentes immatures sont particulièrement sensibles à différents types de lésions, qui peuvent survenir en raison de caries dentaires ou de traumatismes. Si elles sont très profondes, ces lésions peuvent conduire à une nécrose du tissu pulpaire et par conséquent à un arrêt de la formation des racines dentaires (1). La dent est alors laissée avec un apex ouvert et des racines encore fines et fragiles. Ces conditions réduisent grandement le pronostic lors d'un traitement endodontique et augmentent le risque de fracture dentaire.

La technique d'apexification avec du Ca(OH)_2 (hydroxyde de calcium) est une technique très courante pour résoudre les problèmes de dents immatures nécrosées.

Une autre technique plus récente et largement utilisée est l'apexification avec mise en place d'un bouchon en MTA (agrégat de trioxyde minéral). Ces techniques laissent les parois résiduelles de la dent très fines et fragiles (2).

Pour tenter de sauver une dent dont la pulpe est nécrosée, il existe également la technique de revascularisation, qui permet aux racines de la dent de terminer leur développement normal, provoquant une augmentation de l'épaisseur du tissu apical et par conséquent la fermeture apicale de la dent (3).

La revascularisation est possible grâce à l'utilisation de cellules souches totipotentes vitales présentes dans la papille apicale, celles-ci ont la capacité de se différencier en odontoblastes secondaires et contribuent ainsi à la poursuite de l'apexogenèse par la formation de tissu radulaire (5).

L'objectif de cette thèse est de faire le point sur l'état de l'art de la revascularisation des dents permanentes immatures nécrosées. Sur la base des preuves scientifiques les plus récentes, connaître les bases biologiques de cette technique, établir un protocole simple et reproductible à utiliser et enfin donner une ouverture sur d'éventuelles nouvelles techniques qui pourraient être utilisées dans le futur.

Mots Clefs: Régénération, Endodontie, Dent immature, Revascularisation

Índice geral

I. Introdução.....	15
II. Desenvolvimento	19
1. Os princípios de engenharia de tecidos dentários.....	19
1.1 As células estaminais	20
1.1.1 As células-tronco da polpa dentaria (DPSC)	21
1.1.2 Células-tronco dos dentes decíduos (SHED).....	22
1.1.3 Células-tronco da papila apical (SCAP)	22
1.1.4 Células-tronco do ligamento periodontal (PDLSC).....	23
1.2 Arcabouço	24
1.3 Os fatores de crescimento	25
2. A revascularização endodôntica.....	25
2.1 Princípios e mecanismos de revascularização.....	25
2.1.1 Princípios	25
2.1.2 Mecanismos de revascularização	26
2.2 Os resultados da revascularização endodôntica:	27
2.2.1 Os resultados quantitativos do processo de revascularização:.....	27
2.2.2 Os resultados histológicos do processo de revascularização:	30
3. Protocolo de revascularização pulpar em dente definitivo imaturo	33
3.1 Seleção dos casos	35
3.2 Consentimento do paciente	36
3.3 Desinfecção: irrigação e medicação canalar	37
3.3.1 Irrigação canalar.....	37
3.3.2 Medicação canalar.....	38
3.4 A obtenção de um arcabouço:	41
3.4.1 O coágulo sanguíneo	41
3.4.2 Utilização de outro tipo de arcabouço.....	42
3.5 Recobrimento Coronal	46
3.6 Follow-Ups.....	47
3.7 Proposição de um protocolo simples e reprodutível para o praticante.....	48
III. Conclusão.....	51
IV. Bibliografia	53

Índice de figuras

- Figura 1:** Tétrade da engenharia de tecidos aplicada ao ser humano adaptado de Malhotra N e Mala K (18)..... 20
- Figura 2:** Localização das células estaminais. Adaptado de Egusa et al. (20). 21
- Figura 3:** Terceiros molares humanos com formação de raízes incompleta utilizados para obter as SCAPs adaptado por Leite et al. (62)..... 23
- Figura 4:** Radiografias mostrando medições da raiz (usando Infinitt software de radiografia digital, Seul, Coreia). (a) Comprimento da raiz: a distância entre a junção cimento-esmalte e o ápex radiográfico medida nos lados mesial e distal da raiz. A média das medições do comprimento da raiz mesial e distal foi registada como o comprimento da raiz. (b) A Largura do forâmen apical: a distância entre as extremidades apicais mesial e distal da raiz. (c,d) O espessamento radicular: a espessura externa da raiz e a largura interna do canal de polpa a dois terços do comprimento da raiz foram medidas. A diferença entre a espessura externa da raiz (c) e a largura interna do canal de polpa (d) foi registada como a largura da parede dentinária da raiz. Adaptado de Nazzal et al. (37). 28
- Figura 5:** Raiz espessada resultante da deposição de SC. (A) Raiz espessada e alongada resultante da deposição de SC sobre a dentina (D). SO ou SC espalhados no espaço do canal radicular (pontas de seta amarelas). (B) Uma vista ampliada da região superior da caixa em A. SC depositadas sobre a dentina coronal (D). As setas azuis indicam a demarcação presente ao redor da SC. Os SLP estão presentes ao lado da SC. (C) A vista ampliada da região da caixa à esquerda em A. As pontas das setas azuis mostram a camada irregular de dentina depositada por uma camada de SC. Adaptado de Wang et al (39). 30
- Figura 6:** (A) Histologia da secção do dente revascularizado extraído. Um tecido conjuntivo solto com poucas fibras de colagénio preencheu o espaço do canal até ao tampão coronal da MTA (hematoxilina-eosina, ampliação original $\times 200$). O tampão da MTA foi removido antes do processamento do tecido histológico. (B) Grande ampliação do quadrado em A (o canal radicular apical). Células achatadas semelhantes à os odontoblastos, alinhadas ao longo da predentina (setas sólidas). Muitos vasos sanguíneos cheios de eritrócitos (setas abertas). Não são observados feixes nervosos maduros ao longo dos vasos sanguíneos. A maioria das células são em forma de fuso. (C) Grande ampliação do retângulo em A (o forâmen apical). Há menos vasos sanguíneos (seta) à

volta do ápex da raiz. Os espaços no tecido são artefactos causados pela preparação histológica. Adaptado de Shimizu et al. (40).....	31
Figura 7: Resultados de quantificação radiográfica (mm) do fecho apical (A e B), aumento da largura da raiz (C e D) e aumento do comprimento da raiz (E e F) dos grupos com visita dupla e com visita única em base (BL) e 12 e 24 meses (mon) de seguimento. As barras de erro representam o erro padrão da média adaptado de Cerqueira-Neto et al. (42).....	34
Figura 8: Diagrama mostrando diferentes aspetos do prognostico de sucesso do tratamento regenerativo endodôntico em função da idade do paciente e da severidade do traumatismo. Adaptado de Steffen et al. (44).....	36
Figura 9: Fotografias das secções dos dentes nos intervalos de tempo após a aplicação de antibióticos. Apenas pasta antibiotica tripla e minociclina descoloraram as secções. (A) Mistura de pastas antibióticas triplas (B) ciprofloxacina (Cycin), (C) metronidazol (Flasinyl), e (D) minociclina (Minocin). Adaptado de Kim et al. (52).	39
Figura 10: Evolução da cor do dente ao longo do tempo sem adesivo (A) e com adesivo (B). Adaptado de Kim et al. (52).	40
Figura 11: Segunda consulta. (a) Sangramento criado por sobreinstrumentação; (b) Sangramento parado a 3 mm da JAC; (c) Membrana de colagénio colocada por cima do coágulo sanguíneo e colocação de MTA branco; (d) Cavidade de acesso restaurada com restauração de resina composta. JAC, junção amelocementária; MTA, agregado mineral trióxido. Adaptado de Al Tammami et al. (60).	42

Índice de tabelas

Tabela 1: Os diferentes tipos de células estaminais presentes no órgão dentário (29)..	24
Tabela 2: Resultados de estudos analíticos. Adaptado de Ong et al. (35).....	29
Tabela 3: Resultados de Tratamento de Procedimentos Endodônticos Regenerativos de acordo com os Protocolos Avaliados. Adaptado de Cerqueira-Neto et al. (42).....	33
Tabela 4: Tabela dos ventagens e desvantagens de cada arcabouço (andaime) apresentado por Radall et al. (60). PRP, Plasma Rico em Plaquetas. PRF, Fibrina Rica em Plaqueta (61). PLLA, Poly (L-Lactic) Acid. PLGA-PEG, Poly (Lactide-co Glycolide) Polyethylene.	44

Lista de abreviaturas

MTA - Agregado mineral trióxido

HC - Hidróxido de cálcio

ESE - Sociedade Europeia de Endodontologia

PRP – Plasma rico em plaquetas

PRF – Fibrina rica em plaquetas

DPSC - Células-tronco da polpa dentaria

SHED - Células-tronco dos dentes decíduos

SCAP - Células-tronco da papila apical humana

PDLSC - Células-tronco do ligamento periodontal

iPS – Células estaminais induzidas

PGA - Ácido poliglicólico

PLGA - Ácido polilactido-co-glicólico

SC – Células semelhantes às do cimento

SLP - Células semelhantes às do ligamento periodontal

SO - Células semelhantes às do osso

CHX - Clorexidina

EDTA - Ácido etilenodiamino tetra-acético

PAT - Pasta Antibiótica Tripla

PAD - Pasta Antibiótica Dupla

JAC – Junção ameloceimentária

PLLA – Poly (L-Lactic) Acid

PLGA-PEG - Poly (Lactide-co Glycolide) Polyethylene Glycol

FCEV - Fator de Crescimento Endotelial Vascular

FGN - Fator de Crescimento Nervoso

I. Introdução

Os dentistas devem contribuir para a saúde oral dos seus pacientes. A manutenção de uma boa higiene oral e a preservação dos dentes no arco está relacionada com uma boa saúde geral.

Diz-se que um dente permanente, presente num arco, é imaturo até que a junção apical cemento-dentina esteja presente. Este dente imaturo é um dente que ainda não terminou o seu desenvolvimento radicular e que ainda apresenta um ápex aberto. O término do desenvolvimento radicular e o encerramento do ápice radicular de um dente permanente ocorre até 3 anos após sua erupção (6).

As cáries severas ocorrem em ~21% das crianças e adolescentes com dentes permanentes imaturos. Aproximadamente 7% dessas cáries profundas em dentes permanentes imaturos levam à uma necrose do tecido pulpar. Além disso, ~25% das crianças e adolescentes sofrem de traumatismo dentário, e dentro deste grupo, ~27% contraem necrose do tecido pulpar (4).

A lesão irreversível da polpa devido a uma infecção ou a um traumatismo de um dente permanente imaturo pode resultar na interrupção da deposição de dentina e da maturação da raiz deixando um ápice radicular aberto e paredes dentinárias finas que são propícias à fratura. O tratamento endodôntico é frequentemente complicado e prolongado com um prognóstico não favorável, resultando frequentemente na perda prematura do dente (7).

O tratamento tradicional para os dentes permanentes necróticos imaturos tem sido a apexificação. A apexificação permite a formação de uma barreira calcificada no ápice radicular, de forma a aumentar o prognóstico de um possível tratamento endodôntico posterior. O hidróxido de cálcio e o agregado mineral trióxido (MTA) têm sido os materiais de eleição para os procedimentos de apexificação, mas nenhum dos dois é ideal (8)(9).

A apexificação com hidróxido de cálcio (HC) requer medicação intra-canal a longo prazo com o objetivo de estimular a formação de uma barreira apical calcificada, que pode ser demorada e aumentar a incidência de fratura radicular. Por sua vez, a colocação de tampões apicais de trióxido mineral (MTA) reduz o número de sessões de tratamento porque existe a possibilidade de efetuar uma obturação imediata, e assim, pode

oferecer algumas vantagens e resultados mais satisfatórios em relação à apexificação com HC (9).

Contudo, nem o HC nem a apexificação com MTA promovem um desenvolvimento radicular adicional, deixando paredes dentinárias frágeis podendo eventualmente levar à fratura dentária ao longo do tempo (10–12). Estas condições podem levar à extração dentária afetando a função oclusal, a estética e a auto-estima dos pacientes jovens (1).

Outros tratamentos endodônticos, denominados "endodontia regenerativa", "revascularização da polpa" ou "revitalização" têm sido sugeridos. Estas técnicas oferecem a possibilidade de criar um desenvolvimento radicular adicional, que se destina a reduzir a incidência de fratura radicular ao longo do tempo. A declaração da Sociedade Europeia de Endodontologia (ESE) indica que "os procedimentos de revitalização em dentes imaturos após necrose da polpa tornaram-se parte do espectro do tratamento endodôntico e devem ser considerados como uma alternativa à apexificação" (6).

Mesmo tendo as duas técnicas taxas de sucesso e sobrevivência semelhantes, e ambas sejam eficazes no tratamento de dentes permanentes necróticos imaturos; as técnicas de regeneração endodôntica parecem ser superiores às técnicas de apexificação em termos de estimulação da maturação das raízes, ou seja, o espessamento e o alongamento da parede radicular (13).

Já em 2010, quase 75% dos programas de endodontia nos Estados Unidos estavam a ensinar endodontia regenerativa tanto em teoria como na prática clínica (14). Mas ainda em 2012, num inquérito realizado sobre a população de uma pós-graduação nos Estados Unidos, foi concluído que 55,1% dos dentistas não estavam confiantes sobre o sucesso de um tratamento regenerativo (15).

O procedimento de revascularização depende das células estaminais e dos fatores de crescimento, estimulando-as a completar o encerramento do ápex (16). O tratamento de revascularização da polpa consiste basicamente na desinfecção química do canal radicular com solução irrigante e medicação intra-canal seguida de indução de coágulo sanguíneo, selagem coronal e colocação de restauração da coroa. A indução de um coágulo sanguíneo é a técnica mais frequentemente utilizada, no entanto, existem outras técnicas de revascularização da polpa, por exemplo, com o plasma rico em plaquetas

(PRP) e a fibrina rica em plaquetas (PRF), apesar dos resultados destas técnicas mostrarem resultados semelhantes à técnica com coágulo sanguíneo (12).

II. Desenvolvimento

1. Os princípios de engenharia de tecidos dentários

Diz-se que um dente permanente, presente num arco, é imaturo até que a junção apical cemento-dentina esteja presente. Os dentes permanentes imaturos estão presentes desde o estabelecimento da dentição mista (6 anos) até ao início da fase de dentição de jovens adultos (15 anos). Um dente permanente imaturo tem certas características histológicas, anatómicas e fisiológicas, o que o torna muito especial de tratar.

Desde as primeiras fases da formação dos dentes, no estágio de capuz, as células da papila dentária estão rodeadas pelo epitélio interno do órgão do esmalte.

Durante a formação da coroa, esta papila dentária torna-se cada vez mais apical, dando lugar à polpa dentária. Depois forma-se a bainha epitelial de Hertwig e o epitélio diafragmático, que proliferam apicalmente. Estes são responsáveis pela forma da raiz e desempenham um papel na dentinogénese e na cementogénese (17).

As terapias regenerativas, incluindo a revitalização, foram inspiradas pela tríade da engenharia de tecidos (*in-vitro*). Segundo a mesma, o princípio básico é que são necessários três elementos-chave para conseguir a regeneração dos tecidos: células estaminais ou progenitoras, fatores de crescimento e um andaime que possa controlar o desenvolvimento do tecido (18). *In vivo*, o ambiente em que o procedimento terá lugar deve também ser tido em conta. Um ambiente estéril com um bom fornecimento vascular (nutrição e oxigenação dos tecidos e evacuação dos resíduos) é essencial (Figura 1).



Figura 1: Tétrade da engenharia de tecidos aplicada ao ser humano adaptado de Malhotra N e Mala K (18).

1.1 As células estaminais

As células estaminais são células que têm a capacidade de se dividir e de produzir células progenitoras, que por sua vez podem diferenciar-se em outros tipos de células ou tecidos. Dependendo da sua plasticidade, são classificadas como totipotentes (cada célula pode fazer um indivíduo completo), pluripotentes (podem formar todos os tipos de células do organismo) ou multipotentes (podem formar um número limitado de tecidos).

As células estaminais dentárias são células multipotentes com a capacidade de dar origem a pelo menos três linhagens celulares distintas: osteo/odontogénico, adipogénico e neurogénico. Dependendo das necessidades, poderiam diferenciar-se em odontoblastos ou fibroblastos.

Embora tenham sido identificadas células estaminais na maioria dos tecidos bucais, as células estaminais envolvidas principalmente no trabalho de regeneração incluem: células-tronco da polpa dentária (DPSC), células-tronco dos dentes decíduos (SHED), células-tronco da papila apical humana (SCAP) e células-tronco do ligamento

periodontal (PDLSC) (19). Todas estas células podem diferenciar-se em células “odontoblast-like”, obrigatórias pela regeneração do complexo dentina-polpa (11).

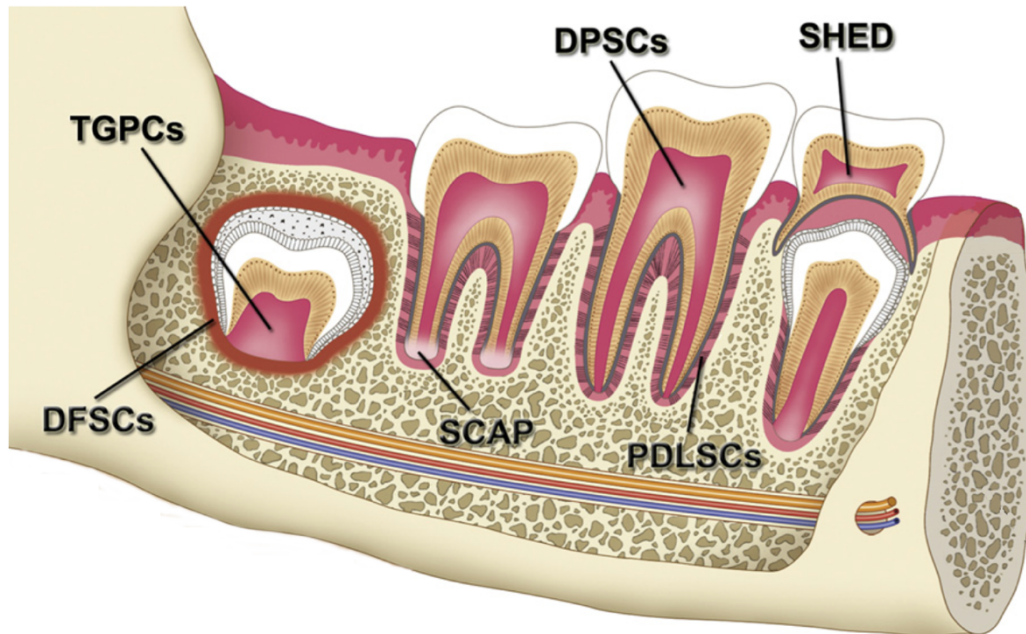


Figura 2: Localização das células estaminais. Adaptado de Egusa et al. (20).

1.1.1 As células-tronco da polpa dentária (DPSC)

As células estaminais de polpa dentária, ou DPSC, são células derivadas da crista neural com uma notável capacidade de diferenciação em múltiplas linhagens celulares de interesse para a terapia celular.

As células estaminais da polpa dentária foram descobertas por Gronthos em 2000 a partir da polpa do canal radicular e da câmara pulpar de um 3º molar. Foram isoladas e denominadas DPSCs. Estas células multipotentes exibiam uma morfologia típica de fibroblasto (21).

As DPSC podem diferenciar-se em linhagens dentinogénicas, osteogénicas, adipogénicas, neurogénicas, condrogénicas e miogénicas (22,23). Elas também exprimem marcadores epiteliais e partilham características comuns com as células estaminais neurais; são também capazes de se diferenciar, *in vitro*, em células endoteliais neurais ou vasculares (24).

Os primeiros relatórios de investigação sobre DPSC mostraram que estas células apresentam características ótimas para alcançar a regeneração funcional da câmara pulpar dos dentes (25,26).

1.1.2 Células-tronco dos dentes decíduos (SHED)

As células estaminais dos dentes decíduos esfoliados, conhecidas como SHED, têm as mesmas propriedades que as DPSC. Além disso, têm características que lhes são específicas: podem induzir a formação de uma matriz óssea com uma estrutura lamelar recrutando células hospedeiras. Esta propriedade distinta dos SHEDs para a formação óssea pode ser explicada pela natureza dos dentes decíduos, cuja reabsorção radicular é acompanhada pela formação óssea (20).

SHEDs são células estaminais multipotentes e foram identificadas como uma população de células clonogénicas altamente proliferativas, capazes de se diferenciar numa grande variedade de tipos de células, incluindo células neurais, adipócitos e odontoblastos.

Após o transplante in vivo, ficou demonstrado que as SHEDs são capazes de induzir a formação óssea, gerar dentina, e sobreviver no cérebro de um rato. Portanto, os dentes decíduos podem ser um recurso ideal de células estaminais para reparar estruturas dentárias danificadas, induzir a regeneração óssea e possivelmente para tratar lesões neurais teciduais ou doenças degenerativas (27).

1.1.3 Células-tronco da papila apical (SCAP)

As células estaminais da papila apical (SCAP) (Figura 3) foram encontradas no tecido papilar na parte apical das raízes dos dentes em desenvolvimento; são células estaminais mesenquimais.

Verificou-se que as células da papila apical são diferentes das da polpa dentária em termos de componentes celulares e vasculares e que se encontram em menor número do que as da polpa. Contudo, as células de papila apical proliferam 2-3 vezes melhor do que as células da polpa in vitro.

As SCAP são semelhantes as DPSC, mas devem ser consideradas como uma fonte distinta de células estaminais que são células estaminais que são potentes progenitoras dentários. O seu envolvimento no desenvolvimento radicular e na apexogênese ainda está a ser debatido (28).



Figura 3: Terceiros molares humanos com formação de raízes incompleta utilizados para obter as SCAPs adaptado por Leite et al. (62).

1.1.4 Células-tronco do ligamento periodontal (PDLSC)

O ligamento periodontal é uma outra fonte de células estaminais mesenquimais dos tecidos dentários e periodontais. Estas células são chamadas PDLSCs (Células-Tronco do Ligamento Periodontal).

Estas podem ser isoladas dos dentes extraídos. Há muito tempo que sabemos que o ligamento periodontal contém uma população de células progenitoras e, mais recentemente, estudos identificaram uma população de células estaminais humanas capazes de se diferenciar numa linha de células mesenquimais e de produzir células conhecidas como "cementoblast-like", adipócitos e tecido conjuntivo rico em colagénio do tipo I.

O potencial de diferenciação das PDLSCs é semelhante as DPSCs (28). As PDLSCs têm demonstrado as suas capacidades de regenerar tecidos periodontais (cimento, ligamento periodontal e osso alveolar) em experimentações animais. Um relatório recente sugeriu que as características das PDLSCs podem depender de dois fatores:

- A localização da sua colheita: as PDLSC da superfície do osso alveolar mostram uma regeneração óssea alveolar superior em comparação com as PDLSC da superfície da raiz (20).

- A idade do doador: o potencial de diferenciação e a quantidade de células são melhores se o doente for jovem (29). Este dado torna-se muito interessante no tratamento de revitalização dos dentes definitivos imaturos em pacientes jovens.

Denominações	DPSC	SCAP	SHED	PDLSC
Localização	Polpa do dente permanente	Papila apical dos dentes imaturos	Polpa dos dentes decíduos exfoliados	Ligamento periodontal
Taxa de proliferação	Moderado	Elevado	Elevado	Elevado
Heterogeneidade	Sim	Sim	Sim	Sim
Multipotencialidade	Odontoblastos, osteoblastos, condrócitos, miocítico, neurocítico, adipocitário, células epiteliais da córnea, células melanocíticas, iPS (células estaminais induzidas)	Odontoblastos, osteoblastos, neurocítico, adipocítico, iPS	Ondontoblastos, osteoblastos, neurocítico, condrocitário, miocítico, adipocitário, iPS	Odontoblastos, osteoblastos, neurocítico, condrocitário, cementoblástico
Tecidos reparados	Osso, neurónios, dentina pulpar	Osso, neurónios, raízes, dentina pulpar	Osso, neurónios, músculos, dentina	Osso, raízes, periodonte

Tabela 1: Os diferentes tipos de células estaminais presentes no órgão dentário (29).

1.2 Arcabouço

O arcabouço deve apoiar o crescimento das células e dos tecidos em três dimensões, permitindo a adesão, migração e diferenciação celular através da sua estrutura

e da liberação dos seus fatores de crescimento. Deve ser poroso, biocompatível, biodegradável e facilitar a homeostasia dos tecidos (troca de nutrientes, resíduos e oxigênio). Além disso, a sua degradação deve ser lenta para permitir a sua substituição por os novos tecidos.

Ele pode ser feito a partir de uma estrutura natural (colagênio, fibrina, etc...) ou sintética como o ácido poliglicólico (PGA) ou o ácido polilactido-co-glicólico (PLGA), que produzem metabólitos não tóxicos à medida que se deterioram (18).

Sobre a revascularização, nos dentes permanentes imaturos necrosados ou infetados, o coágulo sanguíneo provocado durante o protocolo é considerado como um arcabouço enriquecido com diversos fatores de crescimento (29).

1.3 Os fatores de crescimento

Os fatores de crescimento induzirão a proliferação e diferenciação celular, bem como a migração das células estaminais. Assim, juntamente com o arcabouço, dirigem a diferenciação das células estaminais em numerosos fenótipos.

Os fatores de crescimento associados ao processo de revascularização do dente permanente imaturo são associados à diferenciação por odontoblastos e ameloblastos, à secreção da matriz dentinária e à regeneração do complexo dentino-pulpar (18).

2. A revascularização endodôntica

2.1 Princípios e mecanismos de revascularização

2.1.1 Princípios

A revascularização é geralmente realizada em duas fases: na primeira é realizada a desinfecção do canal radicular e na segunda a indução de uma hemorragia periapical permitindo a formação de um coágulo sanguíneo no canal radicular. Este coágulo servirá de guia e será colonizado por várias células, incluindo células estaminais, permitindo a

formação de um tecido capaz de completar o processo de desenvolvimento da raiz. Bem como o crescimento das paredes radiculares, acabando por tornar o dente mais resistente, e chegar ao encerramento do ápice radicular (11).

2.1.2 Mecanismos de revascularização

Após ter visto as bases da engenharia de tecidos dentários, vamos agora tentar perceber a sua aplicação no processo de revascularização.

Um canal que permanece vazio não permite qualquer desenvolvimento radicular. As células estaminais capazes de se diferenciarem em odontoblastos devem, portanto, ser introduzidas nos canais.

O armazenamento dessas células no canal vai ser permitido pelo sangramento apical provocado. O sangue aqui tem o papel de arcabouço, permite a migração das células estaminais para o canal radicular. Mas também vai permitir a diferenciação de estas células em células “*odontoblast-like*” através da sua estrutura e da liberação dos diferentes fatores de crescimento indispensáveis (31). Nota-se que a concentração de marcadores de células estaminais mesenquimatosas (CD73 e CD105) nesta hemorragia é 400-600 vezes maior do que no sangue sistémico (32).

As células que podemos assim encontrar no coágulo sanguíneo e que vão participar no processo de revascularização do dente são:

- As DPSCs que teriam sobrevivido à necrose da polpa e à desinfecção do canal.
- As SCAP, estas células são capazes de sobreviver mesmo em condições infecciosas extremamente hostis. A papila apical está muito mal vascularizada, o que poderia explicar esta capacidade. Ao induzir hemorragias, uma lima é introduzida para além do ápice do dente e danifica a papila apical, induzindo assim a mobilização das células estaminais que se encontram lá (as SCAPs).
- As PDLSCs, estas células são suscetíveis de proliferar e de formar um tecido mineralizado na região apical (33).
- As SHEDs que podem também diferenciar-se em odontoblastos.

2.2 Os resultados da revascularização endodôntica:

2.2.1 Os resultados quantitativos do processo de revascularização:

A primeira questão é: o que nos levou a realizar um protocolo de revascularização e se tem influência sobre os resultados?

Koç et al. (34) realizaram em 2020 uma revisão sistemática sobre os resultados obtidos após o procedimento de regeneração em relação à etiologia da necrose pulpar envolvida. Após análises de sucesso, os dentes com etiologia de trauma (274 dentes), de *dens evaginatus* (95 dentes) e de caries (24 dentes) têm todos uma taxa de sucesso entre 93,1% e 96%. Foi assim concluído que não existe qualquer diferença significativa nos resultados do tratamento regenerativo entre os dentes com essas três etiologias mais comuns.

Existem outros estudos como o de Ong et al. (35), que mostram que o alongamento e espessamento do raiz seriam menos previsíveis em caso de etiologia de trauma, do que no caso dum dente necrosado devido à uma anomalia dentaria.

Essa diferença é explicada por Nagata et al. (36). O trauma pode perturbar as células da papila apical (SCAPs) e a compressão ou o estiramento físico das células epiteliais da bainha de Hertwig podendo comprometer a reparação desejada.

O objetivo do processo de revascularização dos dentes definitivos imaturos seria: a sobrevivência do dente, a cicatrização periodontal, o aumento do comprimento das raízes, o espessamento radicular e o encerramento apical. Por exemplo, no estudo de Nazzal et al. (37), estas medições foram feitas digitalmente através de um software específico (Figura 3).

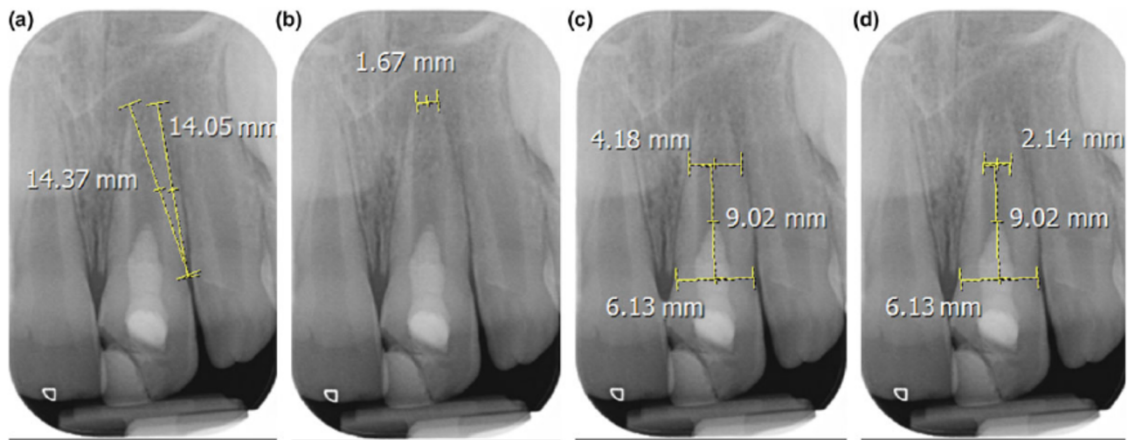


Figura 4: Radiografias mostrando medições da raiz (usando Infinitt software de radiografia digital, Seul, Coreia). (a) Comprimento da raiz: a distância entre a junção cimento-esmalte e o ápex radiográfico medida nos lados mesial e distal da raiz. A média das medições do comprimento da raiz mesial e distal foi registrada como o comprimento da raiz. (b) A Largura do forâmen apical: a distância entre as extremidades apicais mesial e distal da raiz. (c,d) O espessamento radicular: a espessura externa da raiz e a largura interna do canal de polpa a dois terços do comprimento da raiz foram medidas. A diferença entre a espessura externa da raiz (c) e a largura interna do canal de polpa (d) foi registrada como a largura da parede dentinária da raiz. Adaptado de Nazzal et al. (37).

Ong et al. (35) em 2020 realizaram uma revisão sistemática dos artigos que tendem em conta os parâmetros todos (Tabela 2):

- Sobre 289 dentes, a taxa de sobrevivência dos dentes foi de 97,32% e a taxa de cicatrização periodontal é de 93%.
- O aumento do comprimento radicular foi referido em 258 dentes. Nessa amostra, houve um aumento do comprimento em 77,3%.
- O espessamento radicular foi referido em 210 dentes. Em 80,6% da amostra observou-se espessamento radicular.
- O encerramento apical foi referido em 190 dentes. No *follow-up*, foi referido que houve um encerramento apical em 79,1% dos casos.

First author, year	Sample size	Survival	Healing	Root lengthening	Root thickening	Apical narrowing	RRA	Root lengthening (>20%)	Root thickening (>20%)	Apical narrowing (>20%)	RRA (>20%)	Calcific barrier or intracanal calcification
Kahler, 2014 ^{11*}	9	—	—	44.4	88.9	—	—	11.1	55.6	—	—	—
Kahler, 2014 ¹¹	16	100	90.3	—	—	66.6	—	—	—	—	—	—
Bezgin, 2015 ¹²	20	100	95	—	—	65	90	—	—	—	20	40
Chan, 2017 ¹³	28	96.4	92.9	91.7	—	92.9	81.8	0	0	82	0	—
Li, 2017 ¹⁴	20	100	100	100	—	100	100	55	—	100	100	—
Lin, 2017 ¹⁵	69	100	100	81.2	82.6	65.2	—	—	—	—	—	37.7
Peng, 2017 ¹⁶	28	96.4	92.9	—	—	—	—	—	—	—	—	29
Peng, 2017 ^{16*}	24	—	—	79.2	91.7	—	—	29.2	58.3	—	—	—
Silujai, 2017 ¹⁷	17	100	76.5	58.8	70.6	—	—	11.8	29.4	—	—	23.5
Nazzal, 2018 ¹⁸	12	100	100	58.3	50	75	—	—	—	—	—	—
EzEideen, 2015 ¹⁹	5	100	100	100	100	100	—	—	—	100	—	100
Shivashankar, 2017 ²⁰	54	100	96.3	74.1	81.5	—	—	—	—	—	—	5.6
Saoud, 2014 ²¹	20	100	100	95	90	100	—	0	45	100	—	25

—, no data available; RRA, radiographic root area.

*Only part of the samples was analyzed as incomplete data provided in the study; - indicates no data available.

Tabela 2: Resultados de estudos analíticos. Adaptado de Ong et al. (35).

Pode concluir-se que o processo de regeneração endodôntica em dentes definitivos imaturos resulta numa alta sobrevivência e taxa de cura com um bom desenvolvimento radicular.

No entanto, há alguns parâmetros importantes que precisam de ser observados. Em primeiro lugar, a amostra, os resultados indicados não têm em conta o protocolo utilizado (irrigação, utilização de uma matriz adicional para além do coágulo...).

Em segundo lugar, o estudo explica nas suas limitações a existência de um enviesamento devido à posição da radiografia.

Os autores afirmam então que: apesar da quantidade de artigos publicados sobre a regeneração endodôntica que foram publicados, ainda é difícil de fazer uma comparação direta dos seus resultados ou dados sobre o desenvolvimento radicular. Foi sugerido que os praticantes e investigadores chegassem a um consenso para normalizar todas estas variáveis de modo a que mais conclusões convincentes e significativas pudessem ser feitas (16,35).

Em 2021, Lopes et al. (2) realizaram uma revisão “umbrela” sobre o tema do processo de regeneração endodôntica em que verificou-se que a qualidade das provas produzidas pelas revisões sistemáticas disponíveis ainda não está favorável. Futuras revisões sistemáticas de alto padrão realizadas com ensaios clínicos bem concebidos são necessárias para melhorar e clarificar os protocolos clínicos e os resultados do sucesso da regeneração endodôntica.

2.2.2 Os resultados histológicos do processo de revascularização:

Para perceber bem os resultados histológicos após uma revascularização, têm de diferenciar-se dois conceitos; A reparação do tecido, é a substituição do tecido perdido por outras linhas celulares e resulta na privação parcial da sua função biológica (14). Enquanto a regeneração do tecido é a reconstrução do tecido danificado com as mesmas células e permite restabelecer a função biológica perdida. Assim, o objetivo da revascularização dos dentes definitivos imaturos deve ser a regeneração do tecido e não a sua reparação (38).

Vamos começar pela teoria da reparação sem regeneração. Como Wang et al. (39) em 2010, alguns estudos tendem a mostrar que na realidade é um processo de reparação e não de regeneração, devido ao facto dos tecidos que se encontram no canal após o processo de revitalização. No entanto, este estudo foi realizado sobre dentes de cão. No canal, foram encontradas células semelhantes às do cimento (SC), células semelhantes às do ligamento periodontal (SLP) e células semelhantes às do osso (SO).

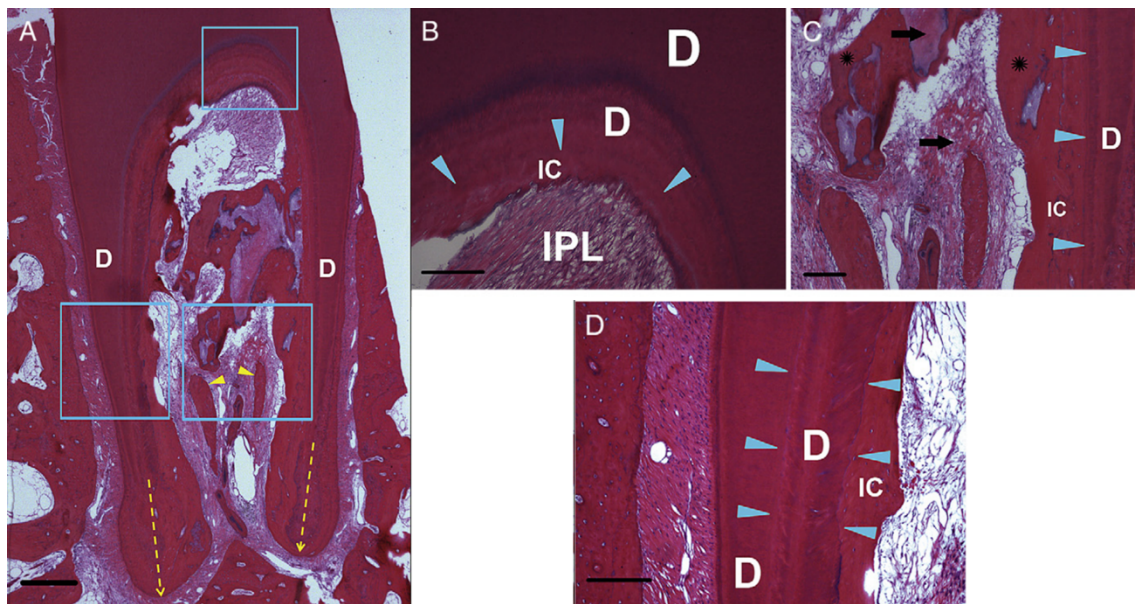


Figura 5: Raiz espessada resultante da deposição de SC. (A) Raiz espessada e alongada resultante da deposição de SC sobre a dentina (D). SO ou SC espalhados no espaço do canal radicular (pontas de seta amarelas). (B) Uma vista ampliada da região superior da caixa em A. SC depositadas sobre a dentina coronal (D). As setas azuis indicam a demarcação presente ao redor da SC. Os SLP estão presentes ao lado da SC. (C) A vista ampliada da região da caixa à esquerda em A. As pontas das setas azuis mostram a camada irregular de dentina depositada por uma camada de SC. Adaptado de Wang et al (39).

Assim, de acordo com esta teoria, os procedimentos de revascularização permitiram o desenvolvimento de tecidos periodontais dentro do canal (osso, ligamento

periodontal, cemento), o que contribuiu para espessar as paredes do canal, bem como para aumentar o seu comprimento. É, portanto, um processo de reparação e não um processo de regeneração.

A segunda teoria consiste em que o processo de revitalização conduz à uma regeneração. Este é o caso de Shimizu et al. (40); em 2012 esta equipa realizou o primeiro estudo histológico sobre um dente humano após um procedimento de revascularização. O dente foi extraído por causa de uma fratura.

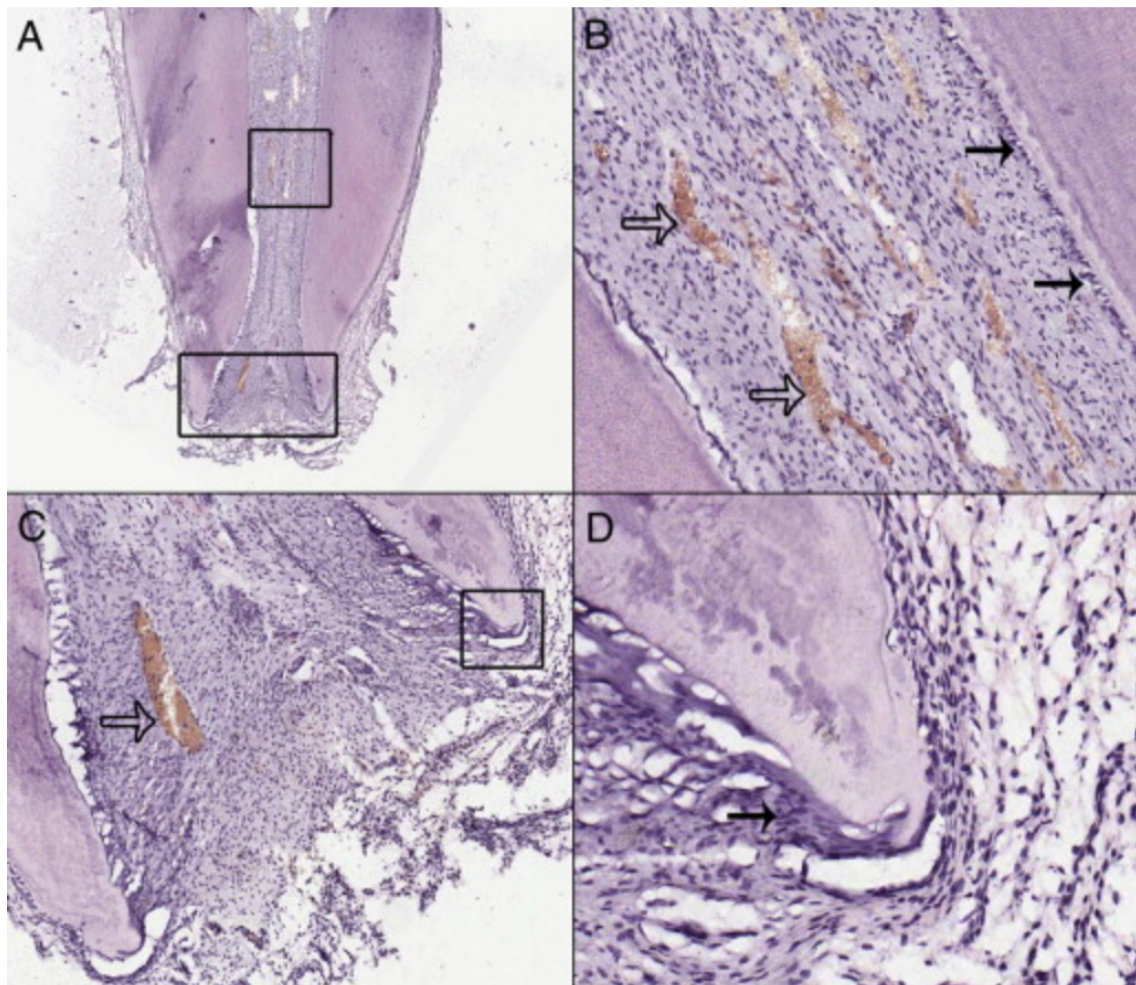


Figura 6: (A) Histologia da secção do dente revascularizado extraído. Um tecido conjuntivo solto com poucas fibras de colagénio preencheu o espaço do canal até ao tampão coronal da MTA (hematoxilina-eosina, ampliação original $\times 200$). O tampão da MTA foi removido antes do processamento do tecido histológico. (B) Grande ampliação do quadrado em A (o canal radicular apical). Células achatadas semelhantes à os odontoblastos, alinhadas ao longo da predentina (setas sólidas). Muitos vasos sanguíneos cheios de eritrócitos (setas abertas). Não são observados feixes nervosos maduros ao longo dos vasos sanguíneos. A maioria das células são em forma de fuso. (C) Grande ampliação do retângulo em A (o forâmen apical). Há menos vasos sanguíneos (seta) à volta do ápex da raiz. Os espaços no tecido são artefactos causados pela preparação histológica. Adaptado de Shimizu et al. (40).

Mais de metade do canal foi preenchido com tecido conjuntivo solto, semelhante ao tecido pulpar. Encontramos uma camada de células aplainadas, semelhantes a os odontoblastos, ao longo da pré dentina. Vê-se também camadas de células semelhantes a um epitélio, parecidas à bainha epitelial da raiz de Hertwig, por volta do ápex da raiz. Não se formaram tecidos duros no canal. Como foi visto anteriormente, a bainha epitelial de Hertwig encontra-se na parte apical do epitélio externo durante a gênese do dente. Essa bainha de células é responsável pela diferenciação dos odontoblastos e pela formação da dentina radicular.

Os autores concluem no fim deste estudo histológico que a regeneração de um tecido semelhante à polpa é possível após um procedimento de revascularização porque tanto a bainha de Hertwig como a papila apical (lugar onde se encontram as SCAPs) sobreviveram num dente permanente imaturo clinicamente diagnosticado como tendo uma pulpíte irreversível. Este estudo abre assim a possibilidade de que a sobrevivência da bainha de Hertwig e da papila apical se deva à ausência radiográfica de periodontite apical (40).

Oito anos depois, em 2020, Digka et al. (41) vão mais longe e tentam explicar quais são as razões da presença de reparação ou de regeneração. Os autores também avançam uma nova teoria explicando a possibilidade de ter uma combinação de reparação e de regeneração. Neste estudo, os autores concordam que a maturação da raiz após a revascularização não é um sinal de regeneração. Isto porque também pode haver um fenómeno de reparação. Temos que ter em consideração que este estudo foi realizado em apenas 14 dentes. Os autores explicam este número devido às limitações éticas deste tipo de estudos em seres humanos.

Dos 14 dentes, 11 foram submetidos à reparação e três à reparação e regeneração. Os autores admitem a responsabilidade do protocolo utilizado, como veremos na secção seguinte, mas, sobretudo, salientam que o resultado do processo de revitalização depende do estado da polpa dentária e dos tecidos periapicais antes da sua realização.

Assim: “A presença de restos de polpa, gravidade da infeção e sua duração, o envolvimento de espécies microbianas, o controlo da infeção, o impacto dos agentes antimicrobianos nas células estaminais, tamanho do ápex e imunidade do hospedeiro são constituintes chave que desempenham um papel significativo no resultado da técnica aplicada.” (41).

Tem de esperar-se por estudos mais completos com uma maior amostras de dentes humanos revitalizados para poder-se definir com precisão quais as expectativas histológicas que podem-se esperar em função dos diferentes casos clínicos.

3. Protocolo de revascularização pulpar em dente definitivo imaturo

Entre os diferentes estudos de casos clínicos realizados sobre o assunto, existem ligeiras diferenças no protocolo utilizado apesar do princípio permanece o mesmo; antes de mais, uma desinfeção do canal radicular é realizada pela irrigação e à uma potencial medicação intra-canal. Depois, deve ser induzida uma hemorragia apical para obter o nosso coágulo sanguíneo que servirá de guia para a revascularização (o arcabouço). Por fim, realizar um recobrimento coronal é realizado.

No entanto, existem dois tipos principais de protocolos. O protocolo de sessão única e o protocolo de duas sessões. Cerqueira-Neto et al. (42) em 2021, conduziram um estudo comparativo entre estes dois tipos de protocolos (Tabela 3 e Figura 6). A diferença entre os dois reside no facto de, após a primeira sessão de desinfeção, uma medicação intra-canal ser deixada temporariamente (*Interappointment dressing* Tabela 3 e Figura 6) antes de ser retirada durante a segunda sessão 21 dias mais tarde, ou não.

Treatment outcomes	Interappointment dressing (n = 11)	Single-visit (n = 9)	P value*	Total (N = 20)
Primary outcome, n (%)	9 (81.8)	9 (100)	.4789	18 (90)
Secondary outcome, n (%)	5 (45.5)	6 (66.7)	.4059	11 (55)
Tertiary outcome, n (%)	1 (9.1)	3 (33.3)	.2848	4 (20)
Survival, n (%)	9 (81.8)	9 (100)	.4789	18 (90)
Failure, n (%)	2 (18.2)	0 (0)	.4789	2 (10)

*The Fisher exact test.

Tabela 3: Resultados de Tratamento de Procedimentos Endodônticos Regenerativos de acordo com os Protocolos Avaliados. Adaptado de Cerqueira-Neto et al. (42).

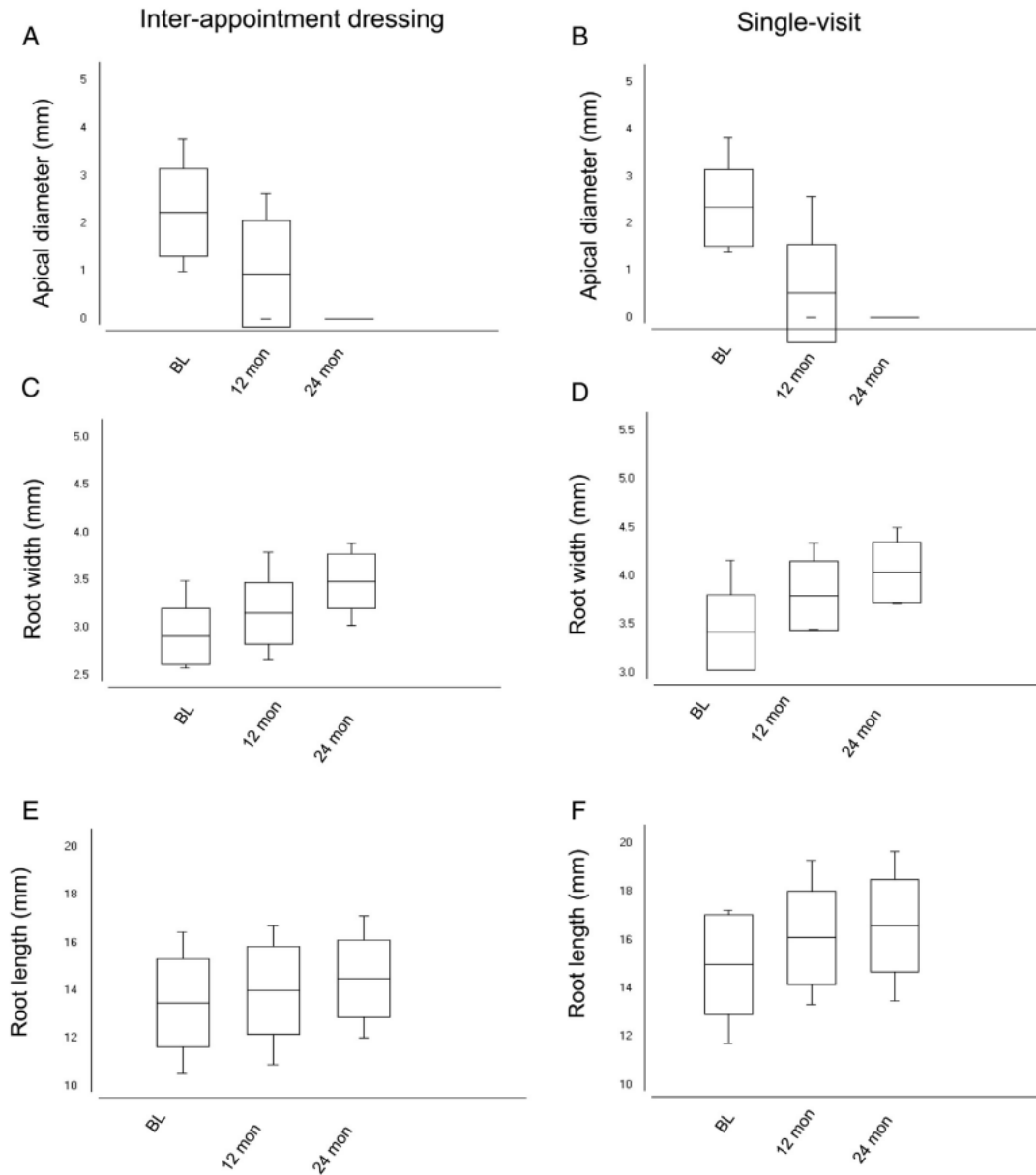


Figura 7: Resultados de quantificação radiográfica (mm) do fecho apical (A e B), aumento da largura da raiz (C e D) e aumento do comprimento da raiz (E e F) dos grupos com visita dupla e com visita única em base (BL) e 12 e 24 meses (mon) de seguimento. As barras de erro representam o erro padrão da média adaptado de Cerqueira-Neto et al. (42).

Em conclusão, completar a regeneração com medicação intra-canal e, portanto, uma segunda visita ou realizar o tratamento numa só visita teria resultados semelhantes em ambos os casos, clinicamente (Tabela 3) e radiograficamente (Figura 6).

Alternativamente, Rossi-Fedele et al. (43) consideram os tratamento regenerativos de visita única úteis nos casos em que a carga bacteriana intra-canal é considerada limitada, tais como necrose pulpar na ausência de manifestações clínicas e radiográficas

de periodontite apical, onde a irrigação sem medicação seria suficiente para uma boa desinfecção.

3.1 Seleção dos casos

O alvo do tratamento de revascularização é um paciente jovem. Recordamos que como já vimos na secção das células estaminais (II.1.1.4); em pacientes mais idosos acontece uma diminuição da capacidade de proliferação e de diferenciação das células estaminais mesenquimais (29,44).

Os pacientes selecionados são doentes que apresentam um dente definitivo, imaturo, com um ápex aberto que sofreu necrose pulpar.

Os dentes podem ou não apresentar lesões peri-apicais; como já foi visto na secção dos resultados histológicos (II.2.2.2). A presença ou não de lesão pode ter consequências no tecido encontrado dentro do canal pulpar após a realização da “revitalização” (40,41).

Mesmo que alguns estudos mostrem que não existe diferenças nos resultados obtidos após o procedimento de regeneração em relação à etiologia da necrose pulpar envolvida (II.2.2.1) (34). Richard Steffen (44) em 2019 explica que a seleção dos casos deve ser feita em função da severidade do traumatismo que levou à necrose pulpar.

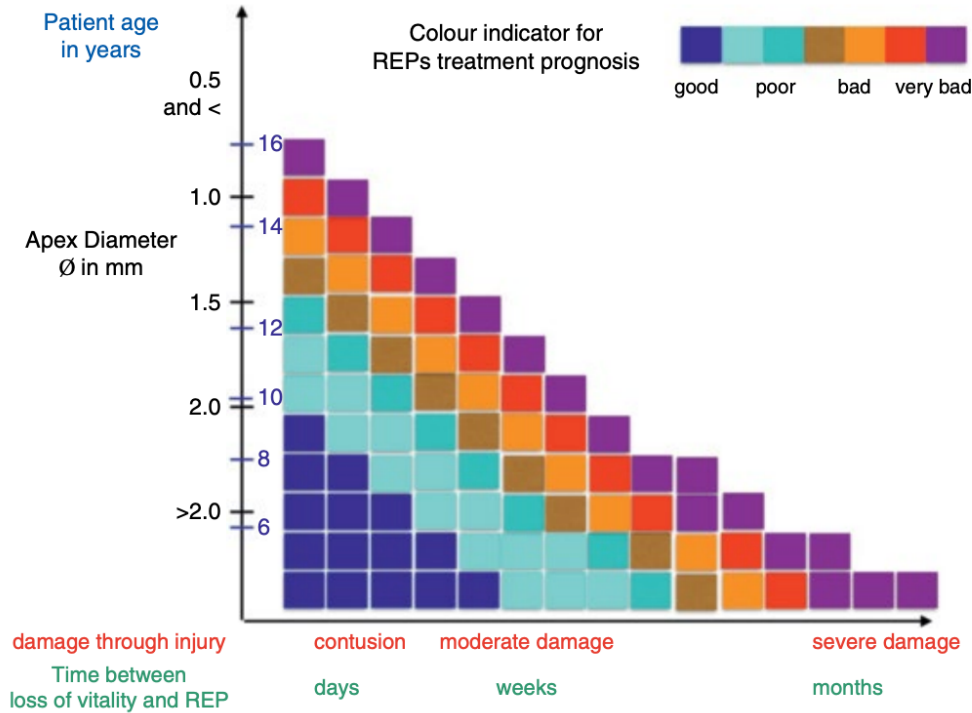


Figura 8: Diagrama mostrando diferentes aspetos do prognóstico de sucesso do tratamento regenerativo endodôntico em função da idade do paciente e da severidade do traumatismo. Adaptado de Steffen et al. (44).

O autor explica assim que, hoje em dia esse tipo de tratamento regenerativo não seja muito previsível, ao escolherem-se pacientes mais jovens e com traumatismos menos severos, tem-se maior probabilidade de ter sucesso.

Um outro fator importante é a cooperação do paciente e, em alguns casos, dos pais do paciente.

Durante a realização da história clínica do paciente, não se pode esquecer verificar se o doente não é alérgico a medicamentos e antibióticos necessários para completar o procedimento (ASA 1 ou 2) (6,14,45).

3.2 Consentimento do paciente

Como foi descrito por Faden e Beauchamp (46) em 1986, o consentimento informado seria: “uma ação autónoma realizada por um sujeito ou um doente que autoriza um profissional a envolver o sujeito em investigação ou para iniciar um plano médico para o doente (ou ambos)”. Para que esta ação seja autónoma, o paciente deve ter o

máximo de informação possível sobre o assunto, a fim de expressar o seu consentimento informado.

Assim o paciente deve: conhecer a natureza do procedimento, não ser controlado na sua tomada de decisão, pretender empreender o procedimento específico e por fim dizer "sim" explicitamente. (47)

É por estas razões que Galler (14) no International Endodontic Journal descreve estes pontos indispensáveis no caso de uma proposta de tratamento de revitalização sobre um dente imaturo necrótico:

- Informação geral sobre esfoliação, desenvolvimento radicular e função pulpar
- Consequências e potenciais complicações da necrose da polpa em dentes imaturos
- Alternativas de tratamento tais como a apexificação como tratamento convencional, sem tratamento e extração
- Informação sobre o facto que se tratar de um procedimento relativamente novo sem diretrizes totalmente padronizadas
- Informações sobre o número de visitas e tempo necessário por visita, detalhes processuais, materiais e medicamentos
- Uma avaliação do tratamento planeado, incluindo vantagens, riscos, prognóstico e seguimento
- A informação de que se a revitalização falhar, as opções de tratamento convencionais permanecem possíveis.

3.3 Desinfecção: irrigação e medicação canal

A fase de desinfecção é muito importante, porque, como dizem Nicoloso et al. (12): “em casos de coágulo sanguíneo, as razões mais comuns para o fracasso foram reinfeção ou infeção persistente”.

3.3.1 Irrigação canal

Nos vários estudos realizados sobre o assunto, nota-se que os produtos de irrigação utilizados são frequentemente os mesmos; ou uma combinação de NaOCl

(hipoclorito de sódio) acoplado com Clorexidina (CHX) e ácido etilenodiamino tetraacético (EDTA)(2,41).

De facto, a combinação de NaOCl com EDTA mostrou melhores resultados em relação à velocidade e comprimento da migração das células da papila apical, em comparação com outras combinações (48).

No entanto, as concentrações em que são utilizadas são diferentes em cada caso. O estudo umbrela de Lopes et al. (2) realizado em 2021 afirma que relativamente à revascularização em duas visitas, NaOCl à 2,5% é o mais utilizado apesar da desinfeção utilizando uma percentagem de 5,25% à 6,0% de NaOCl associada a 0,2% até 2,0% de CHX. Outros estudos utilizaram métodos de irrigação com NaOCl em concentrações que variaram de 0,5% a 8,0%, isolados ou incluídos com solução salina estéril, 5,0% até 17,0% EDTA, e 0,12% até 2,0% CHX.

As concentrações altas ou baixas de NaOCl não têm uma diferença significativa na ação antimicrobiana. Por outro lado, parece que concentrações demasiadas elevadas tendem a ter um efeito negativo na diferenciação de SHEDs e DPSCs em odontoblastos (41).

Concentrações elevadas de NaOCl tendem a apresentar, também um efeito citotóxico ao reduzir o número de células da papila apical (SCAPs) e as suas capacidades de diferenciação. A utilização de uma lavagem com EDTA a 17% pode permitir de evitar este efeito (49).

É, portanto, compreensível que a utilização de uma alta concentração de NaOCl seja mais problemática do que benéfica no caso da regeneração endodôntica. É por isso que a Associação Europeia de Endodontia recomenda a utilização de NaOCl entre 1,5 e 3% associado a uma lavagem salina e a uma irrigação com EDTA 17% (6).

3.3.2 Medicação canal

Embora, como mostrado (na secção II.3) por Cerqueira-Neto et al. (42), um tratamento de uma fase sem medicação ou um tratamento de duas fases com medicação intra-canal pareceria apresentar resultados semelhantes; Na maioria dos casos que encontramos na bibliografia atual, a técnica em duas consultas com uma medicação canal fica a mais usada. Este estudo foi realizado em 2021 (42), por isso vale a pena ver

se mais estudos sobre este assunto vão ser feitos, e no caso de ter os mesmos resultados, se a prática clínica e os protocolos vão ter tendência à mudar no sentido de uma só sessão.

Na revisão umbrela de Lopes et al. (2), a Pasta Antibiótica Tripla (PAT), que é composta por em metronidazol, ciprofloxacina e minociclina, foi a mais frequentemente utilizada. De facto, a PAT em alta concentração (1 g/mL) o antibiótico seria mais eficaz contra as bactérias comuns dos biofilmes endodônticos (50). No entanto, não se recomenda ultrapassar esta concentração de 1 mg/mL em regeneração endodôntica para evitar danos nas células estaminais da papila apical (51).

Este medicamento tem os seus limites; desvantagens tais como citotoxicidade, sensibilização, desenvolvimento de resistência e dificuldade de remoção do canal radicular foram encontradas e precisam de ser tidas em conta na escolha da medicação (6).

O problema do PAT mais comum encontrado na literatura é a coloração do dente após a sua utilização. Kim et al. (52) em 2010 demonstraram que é a minociclina que é responsável pela descoloração do dente (Figura 8).

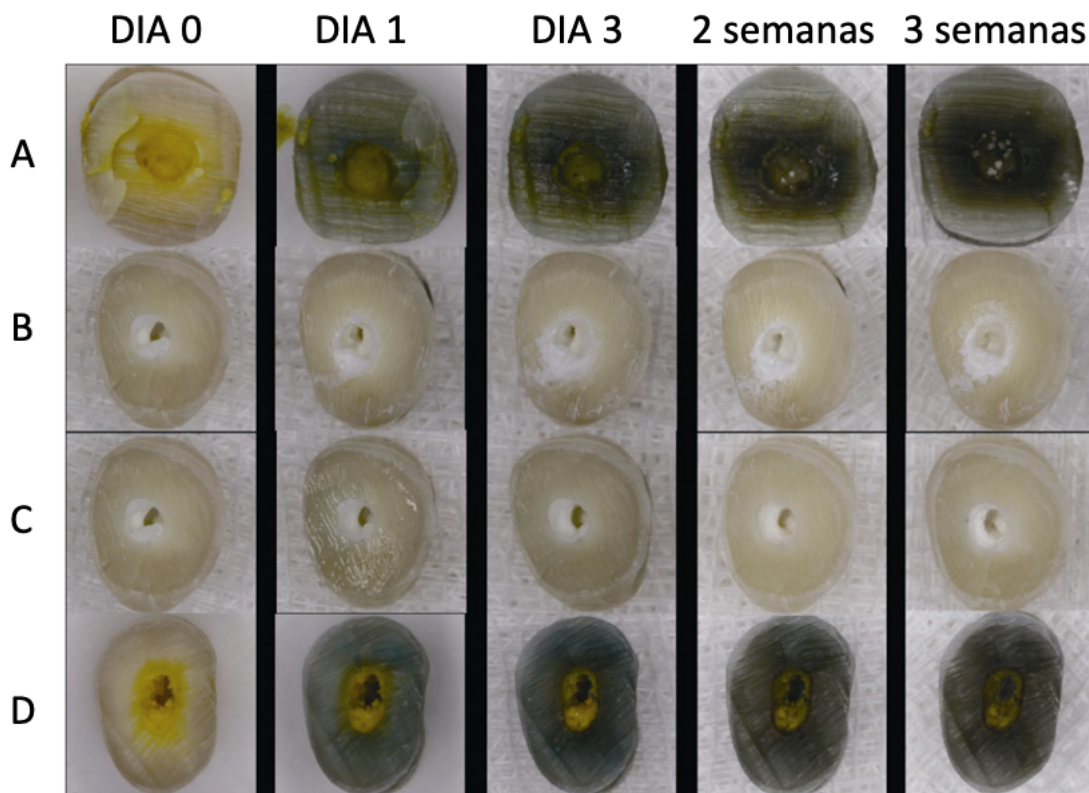


Figura 9: Fotografias das secções dos dentes nos intervalos de tempo após a aplicação de antibióticos. Apenas pasta antibiotica tripla e minociclina descoloraram as secções. (A) Mistura de pastas antibióticas triplas (B) ciprofloxacina (Cycin), (C) metronidazol (Flasinyl), e (D) minociclina (Minocin). Adaptado de Kim et al. (52).

O novo objetivo é, portanto, evitar esta descoloração. Para o efeito, no mesmo estudo, Kim et al. propõe a realização de um selante de dentina usando um adesivo (Figura 9). Este adesivo é colocado apenas sobre a dentina da câmara pulpar até a junção amelocementária e fotopolimerizado para proteger os túbulos dentinários da penetração da PAT. Uma progressão clara pode ser vista com menos descoloração a olho nu quando se usa um adesivo. No entanto, os autores descobriram que a descoloração ainda estava presente utilizando um colorímetro. Por conseguinte, deve ser encontrada outra solução para evitar o efeito da minociclina na cor do dente.

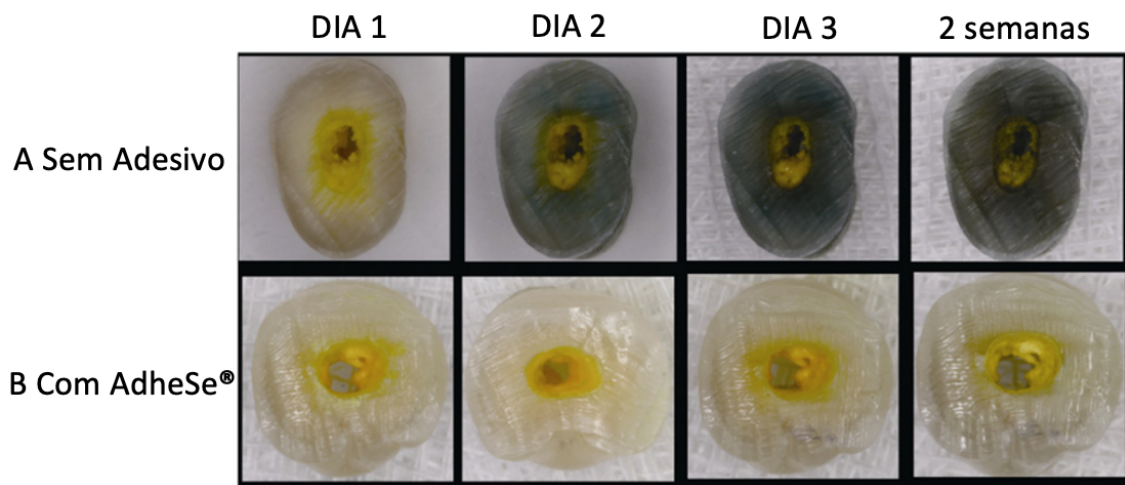


Figura 10: Evolução da cor do dente ao longo do tempo sem adesivo (A) e com adesivo (B). Adaptado de Kim et al. (52).

A nova solução seria parar completamente a utilização da minociclina. Trocando-a com outro composto para formar um novo PAT, ou removendo-a para formar um Pasta Antibiótica Dupla (PAD) ou usando um outro fármaco para o canal radicular.

Para a primeira solução, os autores propõem o uso de cefaclor, doxiciclina, amoxicilina, ou clindamicina em vez da minociclina, formando com o metrodinazol e a ciprofloxacina um novo PAT (53–55).

Uma alternativa é utilizar apenas metrodinazol e ciprofloxacina, numa PAD (34).

Um estudo de 2021 de Cunha Neto et al. (56) recomenda a utilização de uma PAT modificada com clindamicina. Com efeito, demonstrou ser a mais recomendada devido à sua elevada eficácia, concentração e ao benefício de evitar a descoloração dos dentes.

Mas também mostra ter a eficácia antibacteriana equivalente do hidróxido de cálcio, que poderia ser uma boa alternativa ao PAT tradicional.

A Sociedade Europeia de Endodontia recomenda a utilização de hidróxido de cálcio, a fim de evitar os efeitos adversos da PAT (6). Um estudo demonstrou que a ligação de células apicais humanas à dentina radicular era maior quando tratada com hidróxido de cálcio do que com PAT in vitro (57).

Alguns profissionais tentam corrigir esta descoloração sem a conseguirem evitar, utilizando o branqueamento dentário. O estudo de Fagogeni Irini et al. (58) em 2021, mostra que é possível eliminar esta descoloração com um branqueamento mas que são necessários mais estudos para estabelecer um protocolo preciso para aumentar a sua previsibilidade.

3.4 A obtenção de um arcabouço:

3.4.1 O coágulo sanguíneo

Na origem da primeira tentativa de regeneração feita por Nygaard Ösby em 1961 (59), encontrou-se o uso do coágulo sanguíneo como arcabouço para o processo de regeneração. Este coágulo foi obtido por uma sobre instrumentação do canal radicular.

Ainda atualmente parece que esta é ainda a técnica mais utilizada (2).

Antes de induzir a hemorragia apical, é necessário realizar um exame clínico (palpação e percussão) e físico intraoral, e se estiver livre de dor ou de qualquer desconforto, pode avançar-se (33).

Antes de provocar o sangramento, precisamos de realizar uma anestesia porque a irritação apical é muitas vezes dolorosa. Recomenda-se um anestésico sem vasoconstritor para promover a desejada hemorragia (6).

A irritação apical é conseguida com uma lima endodôntica (tipo K-file) em sobre instrumentação. A escolha da lima deve ser cuidadosa, pois deve ter-se em conta que se trata de um dente frágil, suscetível de fraturar.

O sangue é deixado fluir pelo canal até 2mm abaixo da margem gengival ou 3mm abaixo da junção amelocementária. Depois, coloca-se um algodão esterilizado ou uma

esponja hemostática em cima e espera-se 15 minutos no âmbito de obter um bom coágulo que pode ser depois selado (Figura 10) (6,14,60).

Uma das grandes desvantagens desta técnica é a possível obliteração canalar devido à irritação do tecido apical de modo a provocar o sangramento (61).

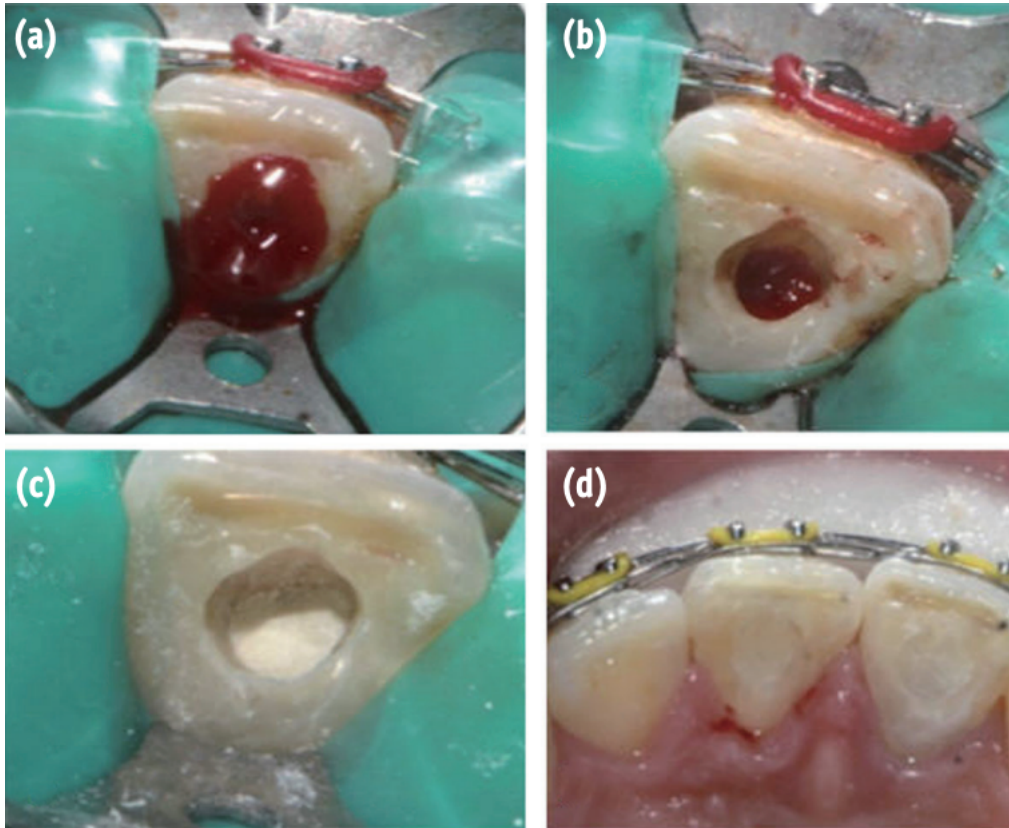


Figura 11: Segunda consulta. (a) Sangramento criado por sobreinstrumentação; (b) Sangramento parado a 3 mm da JAC; (c) Membrana de colagénio colocada por cima do coágulo sanguíneo e colocação de MTA branco; (d) Cavidade de acesso restaurada com restauração de resina composta. JAC, junção amelocementária; MTA, agregado mineral trióxido. Adaptado de Al Tammami et al. (60).

3.4.2 Utilização de outro tipo de arcabouço

A utilização de coágulos intra-canalar inclua a sua instabilidade e resultados clínicos imprevisíveis como consequência da entrada irregular de células estaminais no espaço do canal, bem como dificuldades em invocar hemorragia e hemostasia em alguns pacientes.

Assim, com o objetivo de aumentar a previsibilidade da regeneração dos tecidos, foram desenvolvidos novos tipos de andaime. Foi demonstrado que as SCAPs são superiores as outras células na formação de tecido, tendo uma elevada taxa de

proliferação. A investigação inicial concentrou-se portanto no efeito destes novos arcabouços na SCAP, na sua adesão, migração e proliferação celular (61).

Neste sentido, em 2019 Raddall et al. (61) realizaram, em 2019, uma revisão sobre estes novos arcabouços.

Neste estudo, classificaram as matrizes em três categorias: os andaimes derivados do hospedeiro, os andaimes poliméricos derivados naturalmente, e os andaimes sintéticos.

O coágulo sanguíneo em si faz parte do grupo dos andaimes derivados do hospedeiro, mas devido à sua maior utilização, já foi tratado na parte anterior (Secção 3.4.1).

Categories	Biomaterial	Ventagens	Desvantagens
Andaimes Derivados do Hospedeiro	PRP E PRF	<ul style="list-style-type: none"> • ↗ Angiogênese • Sem Resposta de corpo estranho • ↘ Risco de obliteração do canal radicular 	<ul style="list-style-type: none"> • Necessidade de recolher sangue de um paciente jovem • Equipamento adicional necessário • Variabilidade na sua composição • Falha na regeneração da polpa-dentina ao longo prazo
Andaimes Poliméricos Derivados Naturalmente (APDN)	Alginato	<ul style="list-style-type: none"> • Biocompatibilidade • Imunogenicidade favorável • Baixo preço 	<ul style="list-style-type: none"> • Transmissão de agentes patogênicos potenciais • Variabilidade do produto • Resistência mecânica inadequada • ↘ Viabilidade das SCAP comparado à outro APDN • Níveis mais elevados de apoptose in vivo • Não muito eficiente utilizado sozinho
	Ácido Hialurônico e Derivados	<ul style="list-style-type: none"> • Biocompatibilidade, biodegradabilidade e bioatividade • Arquitetura porosa semelhante à matriz extracelular nativa da polpa-dentina • Boa adaptação morfológica (fluido injetável) • Tempo de configuração rápido • Fatores de crescimento pro-angiogênicos 	<ul style="list-style-type: none"> • Resistência mecânica fraca • Não eficiente sozinho -> derivados • Reação de hipersensibilidade
	Derivados do Chitosano	<ul style="list-style-type: none"> • Biocompatibilidade e biodegradabilidade • Citotoxicidade baixa • Imunogenicidade baixa • Propriedades antibacterianas de largo espectro • Nanopartículas resistentes à degradação por enzimas bacterianas • Melhora a aderência, viabilidade e diferenciação das SCAPs • Investigação promissora sobre derivados 	<ul style="list-style-type: none"> • Gelificação e degradação complexa
Andaimes Sintéticos	PLLA Microesferas nanofibrosas	<ul style="list-style-type: none"> • Injectabilidade e capacidade de adaptação à morfologia do canal radicular • Biodegradabilidade • Potencial para fatores de crescimento e incorporação de drogas • Arquitetura semelhante ao colagênio, alta porosidade e uma grande área de superfície • Microesferas nanofibrosas facilitam a adesão das células, o crescimento, bem como a troca de nutrientes e resíduos • Baixa probabilidade de induzir uma resposta de corpo estranho 	<ul style="list-style-type: none"> • Formação desorganizada de tecidos tipo dentina • Limitado pelos custos clinicamente proibitivos de produção • Degradação liberta resíduos ácidos no microambiente circundante que podem reduzir a viabilidade celular local
	Nanopartículas PLGA-PEG	<ul style="list-style-type: none"> • Biodegradabilidade clínica rápida • Baixa toxicidade • Excelente biocompatibilidade • Minimamente imunogênicos • Propriedade antivegetativa que inibe a aderência de bactérias residuais à superfície do biomaterial 	<ul style="list-style-type: none"> • Limitado pelos custos clinicamente proibitivos de produção e padronização • Evidência radiográfica mínima da formação contínua de raízes em comprimento e espessura das paredes do canal em alguns casos
	VitroGel 3D®	<ul style="list-style-type: none"> • pode ser promissor no apoio à deposição intracanal de tecido duro e ao desenvolvimento contínuo das raízes na regeneração endodôntica 	<ul style="list-style-type: none"> • Necessidade de bancar SCAP • Limitado pelos custos clinicamente proibitivos

Tabela 4: Tabela dos ventagens e desvantagens de cada arcaço (andaime) apresentado por Radall et al. (60). PRP, Plasma Rico em Plaquetas. PRF, Fibrina Rica em Plaqueta (61). PLLA, Poly (L-Lactic) Acid. PLGA-PEG, Poly (Lactide-co Glycolide) Polyethylene.

Alguns dos biomateriais aqui apresentados nem sequer podem ser utilizados neste momento devido aos seus custos de produção, por exemplo.

No entanto, apesar da sua grande desvantagem de terem de recolher sangue de um doente pediátrico, o PRP e o PRF começam a ser encontrados frequentemente nos estudos mais recentes. A combinação do PRP ou do PRF com um sangramento apical provocado também é uma opção a tomar em conta, e que já se encontra em estudos recentes. (2).

Apesar de mostrarem resultados muito satisfatórios, a maioria dos estudos ainda não concluíram que PRP e PRF seriam melhores do que o coágulo sanguíneo no âmbito duma regeneração endodôntica. Os resultados radiográficos e clínicos não têm diferenças significativas (62,63). O dilema aqui reside então na escolha entre um risco mais elevado de obliteração do canal radicular (com o sangramento apical provocado) ou a necessidade de recolha de sangue e um equipamento mais caro (PRF e PRP).

Mais recentemente, Leite et al. (64) avaliaram a eficácia de um andaime composto por um hidrogel de colagénio e gelatina carregado com fibronectina. O colagénio e a gelatina têm sido considerados como fontes naturais interessantes para imitar o tecido conjuntivo; estes hidrogéis uma vez inseridos no tecido danificado serão degradados e substituídos por novo tecido regenerado. A fibronectina é uma glicoproteína de alto peso molecular capaz de melhorar a adesão, proliferação e diferenciação celular quando combinada com andaimes, e no nosso caso, está estudada a sua ação nas SCAPs. Mais uma vez, este estudo conclui que a combinação de estes biomateriais tem um futuro promissor para a regeneração da polpa dentária devido à alta migração de SCAPs que permite; mas são necessários mais estudos *in vivo* e *in vitro* para ter a possibilidade de utilizar estes biomateriais como arcabouços.

Como se vê na secção II.1.3 deste trabalho, para além do arcabouço, os fatores de crescimento são muito importantes. Novas investigações estão, portanto, a analisar a eficácia de certos fatores de crescimento que poderiam ser adicionados à um andaime adequado. Tais como o fator de crescimento endotelial vascular (FCEV) ou o fator de crescimento nervoso (FGN) que apresentam um potencial promissor como opções favoráveis em procedimentos de revascularização ou regeneração pulpar (65).

Não obstante, estão também a ser estudados novos compostos com o objetivo de promover uma verdadeira revascularização no verdadeiro sentido do termo. Tal como os

microfragmentos vasculares derivados de tecido adiposo, que associados às DPSCs permitiriam melhorar a vascularização para uma regeneração pulpar (66).

Em conclusão, existem hoje muitas alternativas à hemorragia apical induzida para se conseguir uma boa regeneração. Contudo, de momento, nenhum destes biomateriais mostrou quaisquer vantagens irrefutáveis sobre as desvantagens que possam trazer. Mas o futuro parece brilhante, e é provável que estas novas formas de arcabouço façam parte dele (61).

3.5 Recobrimento Coronal

Antes da selagem final do dente, é necessário utilizar um material de proteção pulpar. O papel dos produtos de proteção pulpar é fundamental para o sucesso do tratamento. Preservam a função e vitalidade do tecido subjacente ao mesmo tempo que induzem a formação de tecido duro ao seu contacto. Devem, portanto, ser biocompatíveis e proporcionar uma função de selagem contra infiltração bacteriana (67,68).

O hidróxido de cálcio tem sido durante muito tempo o material de proteção da polpa mais utilizado. Mas hoje em dia, para o tratamento de dentes imaturos por revascularização, o MTA é o mais utilizado.

Uma das maiores desvantagens observadas, como para o PAT, é a descoloração dentária que é observada após a sua utilização.

Isto foi parcialmente resolvido com a mudança de MTA cinzento para o MTA branco. Mas existem estudos que ainda mostram uma ligeira descoloração com MTA branco (53).

A Sociedade Europeia de Endodontia recomenda também no seu protocolo o uso de uma matriz de colagénio entre o coágulo sanguíneo e o MTA para ajudar no processo de cicatrização e para atuar como uma barreira e evitar a coloração do MTA pelo sangue (6). Um estudo recente também mostrou que o encerramento apical era mais provável num grupo em que uma matriz de colagénio foi adicionada em cima do coagulo sanguíneo, do que noutro grupo sem matriz de colagénio (69).

A utilização de produtos de substituição ao MTA é, portanto, utilizada por alguns profissionais. Biodentine™ tem mostrado resultados muito bons (43,70).

É também utilizado o cimento de ionómero de vidro modificado por resina, como no caso clínico de Mittal e Parashar (71).

3.6 Follow-Ups

Galler et al. (6) para a Sociedade Europeia de Endodontia recomendam um acompanhamento aos 6, 8, 12 e 24 meses e anualmente durante 5 anos.

Em alguns casos especiais pode ser realizado um acompanhamento aos 3 meses; como no caso de um paciente que sofra de uma infecção à longo prazo, ou se tiver sido difícil remover os sinais de inflamação, na presença de reabsorção radicular inflamatória ou se tiver sido realizado outro tratamento, como um autotransplante.

Se o paciente for submetido a um tratamento ortodôntico, foi demonstrado que é mais provável que desenvolva inflamação ou reabsorção radicular. Neste caso, é portanto aconselhável retirar o dente do tratamento ortodôntico e fazer as sessões de seguimento mais próximas (6).

Durante o acompanhamento, observa-se o sucesso do tratamento de regeneração de polpa realizado. Para este fim, deverá ser feito um diagnóstico clínico e radiográfico.

Os critérios que devem ser observados são descritos pela Sociedade Europeia de Endodontia (6) e são os seguintes:

- Sem dor
- Sem sinais e sintomas de inflamação
- Cura da lesão peri-apical óssea pré-existente
- Aumento da espessura e comprimento das raízes
- Ausência de (continua) reabsorção radicular externa
- Resposta positiva aos testes de sensibilidade
- Aceitação por parte dos pacientes
- Nenhuma mudança de cor inaceitável

3.7 Proposição de um protocolo simples e reproduzível para o praticante

Agora que foram abordadas, explicadas detalhadamente as diferentes fases necessárias para estabelecer um protocolo, com recurso à bibliografia mais atual abordada nesta revisão, propõe-se um protocolo simples e reproduzível para o praticante que deseja realizar uma revascularização da polpa num dente imaturo necrótico.

Decidiu-se optar por um protocolo clínico em duas fases para uma melhor desinfeção e, portanto, uma melhor previsibilidade do tratamento.

Primeira Consulta:

- Anestesia local
- Estabelecimento de um isolamento absoluto
- Abertura coronária e preparação da cavidade de acesso
- Remover o tecido da polpa solto ou necrótico usando instrumentos endodônticos adequados, evitar instrumentos mecânicos (dente imaturo com paredes finais e frágeis)
- Irrigar com 1,5-3% de hipoclorito de sódio (20 mL, 5 min), utilização de agulha com ventilação lateral (para evitar extravasamento de material pelo ápex ainda aberto) à 2mm do tecido vital
- Irrigar com soro fisiológico estéril (5 mL) para minimizar os efeitos citotóxicos do hipoclorito de sódio nos tecidos vitais
- Secar com cones de papel
- Irrigar com 20 mL de EDTA a 17%
- Inserir um produto de hidróxido de cálcio não descolorante de forma homogénea no canal radicular ou um PAT modificado por Clindamicina
- Colocar em cima do canal um algodão estéril e um material provisório (ex: Cimento de óxido de zinco-eugenol IRM)

Segunda consulta, 2-3 semanas depois:

- Diagnóstico clínico, tem de ser observada a desapareção da potencial dor e inflamação (se ainda existe inflamação: repetir à primeira consulta)
- Anestesia local sem vasoconstritor se for possível (dependentemente da história clínica do paciente)
- Estabelecimento do Isolamento absoluto
- Remover o material provisório
- Irrigar com 17% EDTA (20 mL, 5 min), uso de agulha de ventilação lateral e colocar 2 mm acima do tecido vital
- Irrigar com soro fisiológico estéril (5 mL) para reduzir os efeitos adversos dos produtos de irrigação nas células-alvo
- Remover o excesso de líquido com cones de papel
- Induz a hemorragia por irritação mecânica do tecido periapical e movimento rotacional de uma lima endodôntica (tipo K-file) pré-curvada em sobre instrumentação
- Deixar o canal encher-se de sangue até 3 mm abaixo da junção amelocementária e esperar pela formação de coágulos de sangue durante 15 min
- Cortar uma matriz de colagénio à um diâmetro maior que a parte coronal do canal radicular e a uma altura de 2-3 mm (pode ser feito com vários cortes), colocar em cima do coágulo sanguíneo
- Colocação do material de proteção do canal radicular, MTA branco ou Biodentine™
- Aplicar um cimento fluido e fotopolimerizável de ionómero de vidro ou de hidróxido de cálcio
- Preparar as paredes da cavidade com uma broca de diamante ou um jacto com óxido de alumínio
- Restaurar com restauração adesiva

III. Conclusão

A revascularização dos dentes definitivos imaturos é ainda apresentada em muitos artigos como uma técnica recente, uma alternativa à chamada técnica "tradicional" de apexificação. A primeira tentativa de revascularização endodôntica realizada por Östby Nygaard data de 1961, por isso, este assunto é estudado há 60 anos. O termo "recente" é ainda utilizado muito provavelmente porque a técnica ainda não esta bem implantada na prática da maior parte dos médicos dentistas.

No entanto, as revisões efetuadas sobre o assunto demonstraram entretanto a sua elevada taxa de sucesso.

É importante assinalar que, como demonstrou-se, os resultados obtidos inclinam-se mais para uma reparação de tecidos ou para uma mistura de reparação e regeneração do que para uma regeneração real. De facto, os tecidos encontrados durante os diferentes seguimentos não são os mesmos que os originais. Mas pode-se perguntar a si próprio se isto tem alguma importância real. Os objetivos do plano de tratamento são, no entanto, alcançados na maioria dos casos. Na grande maioria dos casos, o espessamento das paredes do canal radicular, o alongamento radicular e o fechamento do ápex dentário são conseguidos. Mais estudos sobre a vitalidade do dente após o tratamento devem ser realizados para dar uma valiosa taxa de sucesso.

Contudo, existem algumas limitações a considerar; a descoloração do dente após o tratamento é agora quase uma memória distante graças aos estudos realizados sobre o assunto. A medicação do canal radicular responsável por esta descoloração está a ser gradualmente substituído por novos medicamentos como o PAD ou novos PATs, por exemplo, substituindo a minociclina por cefaclor ou utilizando hidróxido de cálcio. Quanto à MTA, que é também responsável por esta descoloração em alguns casos, é substituída por MTA branca ou Biodentine™, por exemplo.

A maior parte das investigações atualmente em curso tem como objetivo aumentar a previsibilidade do tratamento. Isto está a ser feito utilizando os conhecimentos adquiridos sobre o processo biológico de regeneração de tecidos, tentando compreendê-lo melhor a fim de melhorar o protocolo estabelecido por Östby Nygaard.

No entanto, notamos que o protocolo final apresentado hoje neste trabalho está muito próximo do protocolo recomendado pela Sociedade Europeia de Endodontia em

2016, ou seja, há 5 anos atrás. Isto poderia ser visto como uma desilusão, mas pelo contrário; o tema está agora no centro da investigação endodôntica, e é de notar que o protocolo aqui recomendado se baseia nas propostas experimentais mais frequentemente encontradas nos estudos, dando-lhes assim um valor científico adicional. Há avanços no que concerne esta temática e o protocolo aqui recomendado não muda porque o assunto atrai muitos investigadores, cada um propondo novas técnicas como por exemplo, a utilização de novos arcabouços. A grande diversidade de protocolos propostos dá esperança para o futuro desta técnica e o provável aumento futuro da sua previsibilidade.

É portanto, compreensível que a maioria das revisões de literatura concluam que ainda é difícil de fazer uma comparação direta dos resultados ou dados sobre o desenvolvimento radicular. Os autores sugerem então que os praticantes e investigadores estejam em consenso para normalizar todas estas variáveis protocolares de modo que, mais conclusões convincentes e significativas possam ser feitas.

IV. Bibliografia

1. Friedlander LT, Cullinan MP, Love RM. Dental stem cells and their potential role in apexogenesis and apexification. *International Endodontic Journal*. 2009;42(11):955-62.
2. Lopes LB, Neves JA, Botelho J, Machado V, Mendes JJ. Regenerative Endodontic Procedures: An Umbrella Review. *Int J Environ Res Public Health*. 17 jan 2021;18(2):754.
3. Araújo PR de S, Silva LB, Neto AP dos S, Almeida de Arruda JA, Álvares PR, Sobral APV, et al. Pulp Revascularization: A Literature Review. *Open Dent J*. 31 jan 2017;10:48-56.
4. He L, Zhong J, Gong Q, Kim SG, Zeichner SJ, Xiang L, et al. Treatment of Necrotic Teeth by Apical Revascularization: Meta-analysis. *Sci Rep*. 24 out 2017;7(1):13941.
5. M N, S T. Pulp revascularization of immature permanent teeth: a review of the literature and a proposal of a new clinical protocol [Internet]. Vol. 2014, *TheScientificWorldJournal*. ScientificWorldJournal; 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25383384/>
6. Galler KM, Krastl G, Simon S, Gorp GV, Meschi N, Vahedi B, et al. European Society of Endodontology position statement: Revitalization procedures. *International Endodontic Journal*. 2016;49(8):717-23.
7. Law AS. Considerations for Regeneration Procedures. *Pediatric Dentistry*. 15 abr 2013;35(2):141-52.
8. Guerrero F, Mendoza A, Ribas D, Aspiazu K. Apexification: A systematic review. *J Conserv Dent*. 2018;21(5):462-5.
9. Mahajan T, Kochhar R, Kumari M. Apexification Using MTA : A Challenging Approach. *IJSRP*. 6 fev 2020;10(2):p9828.
10. Boufdil H, Mtalsi M, El Arabi S, Bousfiha B. Apexification with Calcium Hydroxide vs. Revascularization. *Case Rep Dent*. 2020;2020:9861609.
11. Hameed MH, Gul M, Ghafoor R, Badar SB. Management of immature necrotic

permanent teeth with regenerative endodontic procedures - a review of literature. *J Pak Med Assoc.* out 2019;69(10):1514-20.

12. Nicoloso GF, Goldenfum GM, Pizzol T da SD, Scarparo RK, Montagner F, de Almeida Rodrigues J, et al. Pulp Revascularization or Apexification for the Treatment of Immature Necrotic Permanent Teeth: Systematic Review and Meta-Analysis. *J Clin Pediatr Dent.* 2019;43(5):305-13.

13. Wikström A, Brundin M, Lopes MF, El Sayed M, Tsilingaridis G. What is the best long-term treatment modality for immature permanent teeth with pulp necrosis and apical periodontitis? *Eur Arch Paediatr Dent.* jun 2021;22(3):311-40.

14. Galler KM. Clinical procedures for revitalization: current knowledge and considerations. *International Endodontic Journal.* 2016;49(10):926-36.

15. Manguno C, Murray PE, Howard C, Madras J, Mangan S, Namerow KN. A Survey of Dental Residents' Expectations for Regenerative Endodontics. *Journal of Endodontics.* fev 2012;38(2):137-43.

16. Alghamdi FT, Alqurashi AE. Regenerative Endodontic Therapy in the Management of Immature Necrotic Permanent Dentition: A Systematic Review. *ScientificWorldJournal.* 13 jul 2020;2020:7954357.

17. Tziafas D, Kodonas K. Differentiation Potential of Dental Papilla, Dental Pulp, and Apical Papilla Progenitor Cells. *Journal of Endodontics.* maio 2010;36(5):781-9.

18. Malhotra N, Mala K. Regenerative endodontics as a tissue engineering approach: past, current and future. *Aust Endod J.* dez 2012;38(3):137-48.

19. Chalisserry EP, Nam SY, Park SH, Anil S. Therapeutic potential of dental stem cells. *J Tissue Eng.* 1 jan 2017;8:2041731417702531.

20. Egusa H, Sonoyama W, Nishimura M, Atsuta I, Akiyama K. Stem cells in dentistry – Part I: Stem cell sources. *Journal of Prosthodontic Research.* jul 2012;56(3):151-65.

21. Gronthos S, Mankani M, Brahim J, Robey PG, Shi S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 5 dez 2000;97(25):13625-30.

22. Hilkens P, Gervois P, Fanton Y, Vanormelingen J, Martens W, Struys T, et al.

Effect of isolation methodology on stem cell properties and multilineage differentiation potential of human dental pulp stem cells. *Cell Tissue Res.* jul 2013;353(1):65-78.

23. Zhang W, Walboomers XF, Shi S, Fan M, Jansen JA. Multilineage differentiation potential of stem cells derived from human dental pulp after cryopreservation. *Tissue Eng.* out 2006;12(10):2813-23.

24. Karaöz E, Demircan PC, Sağlam O, Aksoy A, Kaymaz F, Duruksu G. Human dental pulp stem cells demonstrate better neural and epithelial stem cell properties than bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Histochem Cell Biol.* out 2011;136(4):455-73.

25. Aurrekoetxea M, Garcia-Gallastegui P, Irastorza I, Luzuriaga J, Uribe-Etxebarria V, Unda F, et al. Dental pulp stem cells as a multifaceted tool for bioengineering and the regeneration of craniomaxillofacial tissues. *Front Physiol* [Internet]. 16 out 2015 [citado 21 set 2021];6. Disponível em: <http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fphys.2015.00289/abstract>

26. Chen W-J, Xie J, Lin X, Ou M-H, Zhou J, Wei X-L, et al. The Role of Small Extracellular Vesicles Derived from Lipopolysaccharide-preconditioned Human Dental Pulp Stem Cells in Dental Pulp Regeneration. *J Endod.* jun 2021;47(6):961-9.

27. Miura M, Gronthos S, Zhao M, Lu B, Fisher LW, Robey PG, et al. SHED: Stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 13 maio 2003;100(10):5807-12.

28. Sonoyama W, Liu Y, Yamaza T, Tuan RS, Wang S, Shi S, et al. Characterization of Apical Papilla and its Residing Stem Cells from Human Immature Permanent Teeth – A Pilot Study. *J Endod.* fev 2008;34(2):166-71.

29. Zhang J, An Y, Gao L-N, Zhang Y-J, Jin Y, Chen F-M. The effect of aging on the pluripotential capacity and regenerative potential of human periodontal ligament stem cells. *Biomaterials.* out 2012;33(29):6974-86.

30. Srisuwan T, Tilkorn DJ, Al-Benna S, Abberton K, Messer HH, Thompson EW. Revascularization and tissue regeneration of an empty root canal space is enhanced by a direct blood supply and stem cells: *Tissue regeneration in replanted empty root canals.* *Dental Traumatology.* abr 2013;29(2):84-91.

31. Gopal R, Doifode D, Surana P, Lunia S, Sadhu RS, Aafreen S. Revascularization:

- A New Hope for Necrotic Permanent Teeth with Immature Apex - A Review. :8.
32. Lovelace TW, Henry MA, Hargreaves KM, Diogenes A. Evaluation of the Delivery of Mesenchymal Stem Cells into the Root Canal Space of Necrotic Immature Teeth after Clinical Regenerative Endodontic Procedure. *Journal of Endodontics*. 1 fev 2011;37(2):133-8.
 33. Silva HF da, Morais APAG, Sampaio GM, Oliveira GHQ, Júnior PM, Maia SS, et al. Apice closure in Pulp Revascularization Therapy. Case report and literature review. *Research, Society and Development*. 3 ago 2021;10(9): e21110917814-e21110917814.
 34. Koç S, Del Fabbro M. Does the Etiology of Pulp Necrosis Affect Regenerative Endodontic Treatment Outcomes? A Systematic Review and Meta-analyses. *J Evid Based Dent Pract*. março 2020;20(1):101400.
 35. Ong TK, Lim GS, Singh M, Fial AV. Quantitative Assessment of Root Development after Regenerative Endodontic Therapy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Endodontics*. dez 2020;46(12):1856-1866.e2.
 36. Nagata JY, Gomes BPF de A, Rocha Lima TF, Murakami LS, de Faria DE, Campos GR, et al. Traumatized immature teeth treated with 2 protocols of pulp revascularization. *J Endod*. maio 2014;40(5):606-12.
 37. Nazzal H, Kenny K, Altimimi A, Kang J, Duggal MS. A prospective clinical study of regenerative endodontic treatment of traumatized immature teeth with necrotic pulps using bi-antibiotic paste. *International Endodontic Journal*. 2018;51(S3):e204-15.
 38. Altaii M, Richards L, Rossi-Fedele G. Histological assessment of regenerative endodontic treatment in animal studies with different scaffolds: A systematic review. *Dental Traumatology*. 2017;33(4):235-44.
 39. Wang X, Thibodeau B, Trope M, Lin LM, Huang GT-J. Histologic Characterization of Regenerated Tissues in Canal Space after the Revitalization/Revascularization Procedure of Immature Dog Teeth with Apical Periodontitis. *Journal of Endodontics*. 1 jan 2010;36(1):56-63.
 40. Shimizu E, Jong G, Partridge N, Rosenberg PA, Lin LM. Histologic Observation of a Human Immature Permanent Tooth with Irreversible Pulpitis after Revascularization/Regeneration Procedure. *Journal of Endodontics*. 1 set 2012;38(9):1293-7.

41. Digka A, Sakka D, Lyroudia K. Histological assessment of human regenerative endodontic procedures (REP) of immature permanent teeth with necrotic pulp/apical periodontitis: A systematic review. *Australian Endodontic Journal*. 2020;46(1):140-53.
42. Cerqueira-Neto ACCL, Prado MC, Pereira AC, Oliveira ML, Vargas-Neto J, Gomes BPF, et al. Clinical and Radiographic Outcomes of Regenerative Endodontic Procedures in Traumatized Immature Permanent Teeth: Interappointment Dressing or Single-Visit? *Journal of Endodontics*. 1 out 2021;47(10):1598-608.
43. Rossi-Fedele G, Kahler B, Venkateshbabu N. Limited Evidence Suggests Benefits of Single Visit Revascularization Endodontic Procedures - A Systematic Review. *Braz Dent J*. 28 nov 2019;30:527-35.
44. Steffen R. Regenerative Endodontic Procedures. In: Neuhaus KW, Lussi A, éditeurs. *Management of Dental Emergencies in Children and Adolescents* [Internet]. 1^{re} éd. Wiley; 2019 [citado 5 out 2021]. p. 131-6. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781119372684.ch3.3>
45. AAE. Clinical Considerations for a Regenerative Procedure Revised 4/1/2018. 2018;
46. Faden RR, Beauchamp TL. *A History and Theory of Informed Consent*. Oxford University Press; 1986. 414 p.
47. Concept of Informed Consent — A reflection on Faden and Beauchamp | *ēthos: a bioethics blog* [Internet]. [citado 5 out 2021]. Disponível em: <https://scholarblogs.emory.edu/bioethics116-4/2020/09/23/concept-of-informed-consent-a-reflection-on-faden-and-beauchamp/>
48. Aspesi M, Kopper PMP, de Carvalho Deluca MC, Matte BF, Brand LM, Grecca FS, et al. Cytotoxic, migration, and angiogenic effects of intracanal irrigants on cells involved in revascularization of immature teeth. *Archives of Oral Biology*. 1 jan 2021;121:104980.
49. Martin DE, De Almeida JFA, Henry MA, Khaing ZZ, Schmidt CE, Teixeira FB, et al. Concentration-dependent effect of sodium hypochlorite on stem cells of apical papilla survival and differentiation. *J Endod*. jan 2014;40(1):51-5.
50. AlSaeed T, Nosrat A, Melo MA, Wang P, Romberg E, Xu H, et al. Antibacterial Efficacy and Discoloration Potential of Endodontic Topical Antibiotics. *Journal of*

Endodontics. jul 2018;44(7):1110-4.

51. Kim SG, Malek M, Sigurdsson A, Lin LM, Kahler B. Regenerative endodontics: a comprehensive review. *International Endodontic Journal*. 2018;51(12):1367-88.
52. Kim J-H, Kim Y, Shin S-J, Park J-W, Jung I-Y. Tooth discoloration of immature permanent incisor associated with triple antibiotic therapy: a case report. *J Endod*. jun 2010;36(6):1086-91.
53. Chan EKM, Desmeules M, Cielecki M, Dabbagh B, Ferraz Dos Santos B. Longitudinal Cohort Study of Regenerative Endodontic Treatment for Immature Necrotic Permanent Teeth. *J Endod*. março 2017;43(3):395-400.
54. Nagy MM, Tawfik HE, Hashem AAR, Abu-Seida AM. Regenerative Potential of Immature Permanent Teeth with Necrotic Pulps after Different Regenerative Protocols. *Journal of Endodontics*. fev 2014;40(2):192-8.
55. Kahler B, Mistry S, Moule A, Ringsmuth AK, Case P, Thomson A, et al. Revascularization outcomes: a prospective analysis of 16 consecutive cases. *J Endod*. março 2014;40(3):333-8.
56. Cunha Neto MA da, Coêlho J de A, Pinto KP, Cuellar MRC, Marcucci MC, Silva EJNL, et al. Antibacterial Efficacy of Triple Antibiotic Medication With Macrogol (3Mix-MP), Traditional Triple Antibiotic Paste, Calcium Hydroxide, and Ethanol Extract of Propolis: An Intratubular Dentin Ex Vivo Confocal Laser Scanning Microscopic Study. *Journal of Endodontics*. 1 out 2021;47(10):1609-16.
57. Kitikuson P, Srisuwan T. Attachment Ability of Human Apical Papilla Cells to Root Dentin Surfaces Treated with Either 3Mix or Calcium Hydroxide. *Journal of Endodontics*. jan 2016;42(1):89-94.
58. Fagogeni I, Falgowski T, Metlerska J, Lipski M, Górski M, Nowicka A. Efficiency of Teeth Bleaching after Regenerative Endodontic Treatment: A Systematic Review. *Journal of Clinical Medicine*. jan 2021;10(2):316.
59. Östby BN. The role of the blood clot in endodontic therapy an experimental histologic study. *Acta Odontologica Scandinavica*. 1961;19(3-4):323-53.
60. Al-Tammami MF, Al-Nazhan SA. Retreatment of failed regenerative endodontic of orthodontically treated immature permanent maxillary central incisor: a case report. *Restor Dent Endod*. fev 2017;42(1):65-71.

61. Raddall G, Mello I, Leung BM. Biomaterials and Scaffold Design Strategies for Regenerative Endodontic Therapy. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2019;7:317.
62. Dianat O, Mashhadi Abas F, Paymanpour P, Eghbal MJ, Haddadpour S, Bahrololumi N. Endodontic repair in immature dogs' teeth with apical periodontitis: blood clot vs plasma rich in growth factors scaffold. *Dent Traumatol. abr* 2017;33(2):84-90.
63. Ulusoy AT, Turedi I, Cimen M, Cehreli ZC. Evaluation of Blood Clot, Platelet-rich Plasma, Platelet-rich Fibrin, and Platelet Pellet as Scaffolds in Regenerative Endodontic Treatment: A Prospective Randomized Trial. *Journal of Endodontics*. 1 maio 2019;45(5):560-6.
64. Leite ML, Soares DG, Anovazzi G, Anselmi C, Hebling J, de Souza Costa CA. Fibronectin-loaded Collagen/Gelatin Hydrogel Is a Potent Signaling Biomaterial for Dental Pulp Regeneration. *Journal of Endodontics*. 1 jul 2021;47(7):1110-7.
65. Shen Z, Tsao H, LaRue S, Liu R, Kirkpatrick TC, Souza LC de, et al. Vascular Endothelial Growth Factor and/or Nerve Growth Factor Treatment Induces Expression of Dentinogenic, Neuronal, and Healing Markers in Stem Cells of the Apical Papilla. *J Endod.* jun 2021;47(6):924-31.
66. Xu X, Liang C, Gao X, Huang H, Xing X, Tang Q, et al. Adipose Tissue-derived Microvascular Fragments as Vascularization Units for Dental Pulp Regeneration. *Journal of Endodontics*. 1 jun 2021;47(7):1092-100.
67. Asgary S, Eghbal MJ, Parirokh M, Ghanavati F, Rahimi H. A comparative study of histologic response to different pulp capping materials and a novel endodontic cement. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. out 2008;106(4):609-14.
68. Didilescu AC, Cristache CM, Andrei M, Voicu G, Perlea P. The effect of dental pulp-capping materials on hard-tissue barrier formation. *The Journal of the American Dental Association*. out 2018;149(10):903-917.e4.
69. Kim SG, Solomon CS. Regenerative Endodontic Therapy in Mature Teeth Using Human-Derived Composite Amnion-Chorion Membrane as a Bioactive Scaffold: A Pilot Animal Investigation. *J Endod.* jul 2021;47(7):1101-9.

70. Santos LGP dos, Chisini LA, Springmann CG, Souza BDM de, Pappen FG, Demarco FF, et al. Alternative to Avoid Tooth Discoloration after Regenerative Endodontic Procedure: A Systematic Review. *Braz Dent J.* set 2018;29(5):409-18.

71. Mittal N, Parashar V. Regenerative Evaluation of Immature Roots using PRF and Artificial Scaffolds in Necrotic Permanent Teeth: A Clinical Study. *The Journal of Contemporary Dental Practice.* 1 jun 2019;20:720-6.