



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**REVASCULARIZAÇÃO: INFLUÊNCIA DO MÉTODO DE
PREPARAÇÃO E DE APLICAÇÃO DA PASTA TRIANTIBIÓTICA
NA DENSIDADE DO PREENCHIMENTO CANALAR**

Trabalho submetido por
Tiago Miguel Bernarda Cascão
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

setembro de 2020



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**REVASCULARIZAÇÃO: INFLUÊNCIA DO MÉTODO DE
PREPARAÇÃO E DE APLICAÇÃO DA PASTA TRIANTIBIÓTICA
NA DENSIDADE DO PREENCHIMENTO CANALAR**

Trabalho submetido por
Tiago Miguel Bernarda Cascão
para a obtenção do grau de **Mestre** em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Prof.^a Doutora Ana Cristina Mano Azul

e coorientado por
Mestre Mário Rito Pereira

setembro de 2020

Agradecimentos

À Professora Doutora Ana Cristina Mano Azul, pelo importante apoio, disponibilidade irrestrita, pela constante disposição, tranquilidade e por estimular o meu interesse pelo conhecimento.

Ao Mestre Mário Rito Pereira, pela forma com que me transmitiu interesse pela Endodontia, ajuda com os materiais necessários, por todo o apoio fornecido e boa disposição ao longo da realização deste estudo.

A toda a Direção Clínica Egas Moniz, pela disponibilidade e condições fornecidas para realização deste trabalho de investigação e formação clínica.

À Sociedade Portuguesa de Estomatologia e Medicina Dentária, em especial ao Ex.^{mo}. Sr. Presidente Professor Doutor Sampaio Fernandes, pela disponibilização em participar neste estudo.

Ao Professor Doutor Luís Proença pela ajuda disponibilidade com o tratamento dos dados estatísticos.

Aos meus Pais e avós, pela oportunidade dada em frequentar este curso e por terem sido um pilar ao longo destes 5 anos.

Ao Ângelo, pelo apoio constante e incondicional, companhia e motivação.

Às minhas colegas de *box* e, amigas, Leonor e Isabel, pela amizade, conhecimentos partilhados e ajuda diária.

Aos meus amigos e colegas, por estarem presentes ao longo destes cinco anos e apoiarem indiretamente a realização do meu trabalho.

RESUMO

Objetivo: Avaliar o recurso da terapêutica de revascularização, o uso de pasta triantibiótica (PTA) nesta terapêutica, incluindo o seu método de manipulação e de aplicação pelos Médicos Dentistas/Estomatologistas na área de intervenção da Endodontia, associados da Sociedade Portuguesa de Estomatologia e Medicina Dentária (SPEMD). Pretende-se ainda comparar a extensão do preenchimento dos canais radiculares, presença de poros e a densidade média relativa através de diferentes métodos de preparação e meios de aplicação da PTA, através de um estudo *in vitro*.

Materiais e Métodos: Foi realizado um questionário *online*, direcionado a todos os associados não estudantes da SPEMD. Concomitantemente foram selecionados 60 incisivos superiores, os quais foram distribuídos por 5 grupos: Grupos 1 e 2 - aplicação de PTA, preparada com soro e aplicada no canal radicular com seringa + agulha no Grupo 1 e no Grupo 2 com seringa + agulha e lentulo; Grupos 3 e 4: Preparação da PTA com propilenoglicol e aplicação com seringa + agulha no Grupo 3 e, no Grupo 4 com seringa + agulha e lentulo; Grupo 5: Preparação da PTA com soro fisiológico e colocação com aplicador de MTA e condensador vertical. A extensão do preenchimento dos canais radiculares, presença de poros e a densidade média relativa, foram avaliados com recurso a um sistema de radiografia digital.

Resultados: De acordo com o questionário *online*, 44,9% recorre à terapêutica de revascularização, 48,6% recorre à PTA, sendo a agulha + seringa os materiais mais utilizados, com 40% das respostas. No que respeita a densidade média relativa, o Grupo 1 obteve resultados superiores. O teste de Kruskal-Wallis não evidencia diferenças estatisticamente significativas entre os 5 grupos ($P > 0,05$), no que concerne a extensão do preenchimento canal e presença de poros.

Conclusões: A terapêutica de revascularização não é a primeira opção de tratamento tomada pelos inquiridos. A falta de protocolos universais para as etapas desta terapia é um dos motivos descritos na literatura. Os veículos e meios de aplicação da PTA utilizados não interferiram estatisticamente com os resultados.

Palavras-chave: Revascularização pulpar; tratamento endodôntico regenerativo; pasta triantibiótica.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the use of revascularization therapy, the use of triantibiotic paste (TAP) in this therapy, including its method of manipulation and application by Dentists / Stomatologists in the intervention area of Endodontics, associates of the Portuguese Society of Stomatology and Dentistry (SPEMD). It is also intended to compare the extent of root canal filling, presence of voids and the relative average density through different preparation methods and means of application of PTA, through an in vitro study.

Materials and Methods: An online questionnaire was conducted, aimed at all SPEMD non-student members. At the same time, 60 upper incisors were selected, which were distributed in 5 groups: Groups 1 and 2 - application of TAP, prepared with serum and applied to the root canal with syringe + needle in Group 1 and in Group 2 with syringe + needle and lentulo; Groups 3 and 4: preparation of TAP with propylene glycol and application with syringe + needle in Group 3 and in Group 4 with syringe + needle and lentulo; Group 5: preparation of TAP with physiological saline solution and placement with MTA applicator and vertical condenser. The extent of root canal filling, presence of empty spaces and the relative mean density were evaluated using a digital radiography system.

Results: According to the online questionnaire, 44.9% resorts to revascularization therapy, 48.6% resorts to TAP, being the needle + syringe the most used materials, with 40% of the answers. Concerning the relative average density, Group 1 obtained superior results. The Kruskal-Wallis test does not show statistically significant differences between the 5 groups ($P > 0.05$), regarding the extent of canal filling and presence of voids.

Conclusions: Revascularization therapy is not the first treatment option taken by respondents. The lack of universal protocols for the stages of this therapy is one of the reasons described in the literature. The vehicles and means of application of TAP used did not statistically interfere with the results, since they were similar.

Keywords: Pulp revascularization; regenerative endodontic treatment; triple antibiotic paste.

Índice

I. INTRODUÇÃO	15
1. Contextualização	15
2. Embriologia do órgão dentário.....	18
2.1. Fase de botão	18
2.2. Fase de capuz.....	19
2.3. Fase de sino	19
2.4. Rizogénese.....	20
3. Histologia da polpa dentária.....	20
3.1. Camada de odontoblastos	21
3.2. Zona acelular	22
3.3. Zona rica em células	22
3.4. Zona central	23
4. Complexo pulpo-dentinário.....	23
5. Fisiopatologia da polpa dentária	24
6. Conceitos e Aspetos Biológicos da Revascularização	26
6.1. Células Estaminais.....	30
6.2. Fatores de Crescimento	33
6.3. Scaffolds	34
6.4. Protocolo clínico.....	35
II. OBJETIVOS DO ESTUDO.....	47
1. Questionário online	47
2. Estudo experimental.....	47
III. HIPÓTESE DE ESTUDO	47
IV. MATERIAIS E MÉTODOS	49
1. Questionário online	49
1.1. Critérios de inclusão	49
1.2. Critérios de exclusão	49
1.3. Construção do questionário online	50
1.4. Recolha de dados	52
1.5. Considerações éticas.....	52
1.6. Análise estatística	52
2. Estudo experimental.....	53
2.1. Critérios de inclusão	53
2.2. Preparação da pasta triantibiótica	53
2.3. Protocolo experimental.....	54
2.4. Análise radiográfica.....	56
2.5. Análise estatística	57
V – RESULTADOS	59
1. Questionário online	59
2. Estudo experimental in vitro	65
2.1. Análise da extensão do preenchimento canal.....	65
2.2. Análise da presença de poros.....	66
2.3. Análise da densidade média relativa	68
VI – DISCUSSÃO.....	69

VII – CONCLUSÃO	73
VIII – BIBLIOGRAFIA	75

Índice de Figuras

Figura 1 – Representação esquemáticas das 3 fases do desenvolvimento coronário da odontogênese	18
Figura 2 - A: Fotomicrografia da baixa potência do complexo pulpo-dentinário; B: Numa potência superior a zona acelular sob a camada de odontoblastos, claramente visível, tal como a zona rica em células.	21
Figura 3 - Três componentes principais da engenharia de tecidos	27
Figura 4 - Crescimento interno de periodonto no canal pulpar, incluindo osso, ligamento periodontal e cimento.....	29
Figura 5 – Nicho perivascular e multipotência de células estaminais mesenquimais (CEM).....	31
Figura 6 - Ilustração esquemática das potenciais fontes de células estaminais adultas .	32
Figura 7 - Cabeçalho do inquérito	51
Figura 8 - Análise do preenchimento radiográfico, considerando os poros detetáveis e o limite apical. A: No ápex; B: 1 a 2 mm acima do ápex; C: Mais de 2 mm acima do ápex.	66

Índice de Gráficos

Gráfico 1 - Idade dos Inquiridos.....	59
Gráfico 2 - Género dos Inquiridos.....	59
Gráfico 3 - N.º de anos de prática clínica.....	60
Gráfico 4 - Formação em Endodontia.....	60
Gráfico 5 - Percentagem de tempo dedicado à Endodontia.....	61
Gráfico 6 - Recorrência da terapêutica de revascularização.....	62
Gráfico 7 - Medicação intracanal utilizada na terapêutica de revascularização.....	62
Gráfico 8 - Antibióticos utilizados na pasta triantibiótica.....	63
Gráfico 9 - Veículo adotado na confeção da pasta triantibiótica.....	63
Gráfico 10 - Modo de inserção da pasta triantibiótica no interior dos canais radiculares	64
Gráfico 11 - Opções terapêuticas tomadas em dentes com necrose com ápex imaturo .	64

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Pontuação atribuída de acordo com a extensão do preenchimento canalar..	65
Tabela 2 - Valor crítico (H) de teste de Kruskal- Wallis - Extensão do preenchimento canalar.....	65
Tabela 3 - Pontuação atribuída de acordo com a presença de poros, por terço radicular – Grupo 1	66
Tabela 4 - Pontuação atribuída de acordo com a presença de poros, por terço radicular – Grupo 2.....	67
Tabela 5 - Pontuação atribuída de acordo com a presença de poros, por terço radicular – Grupo 3	67
Tabela 6 - Pontuação atribuída de acordo com a presença de poros, por terço radicular – Grupo 4.....	67
Tabela 7 - Pontuação atribuída de acordo com a presença de poros, por terço radicular – Grupo 5.....	67
Tabela 8 - Valor crítico (H) do teste de Kruskal-Wallis – Presença de poros.....	67
Tabela 9 - Média da densidade relativa obtida por terço radicular (%)	68

Lista de Abreviaturas

AAE – *American Association of Endodontists*

AAPD – *American Academy of Pediatric Dentistry*

ADN – Ácido desoxirribonucleico

APG – Ácido poliglicólico

APL – Ácido polilático

APLG – Ácido co-polilático-glicólico

BEH – Bainha epitelial de Hertwing

Ca(OH)₂ – Hidróxido de cálcio

CBCT – *Cone Beam Computerized Tomography*

CEM – Célula estaminal mesenquimal

CEPA – Células estaminais da papila apical

CEPD – Células estaminais da polpa dentária

EDTA – Ácido etilenodiamino tetra-acético

ESE – *European Society of Endodontology*

FCDP – Fator de crescimento derivado das plaquetas

FCEP – Fator de crescimento endotélio plaquetário

FCEV – Fator de crescimento endotelial vascular

FCT – Fatores de crescimento tecidular

MTA – Agregado de trióxido mineral

NaOCl – Hipoclorito de sódio

PCL – Policaprolactona

PER – Procedimentos endodônticos regenerativos

PTA – Pasta triantibiótica

SPEMD – Sociedade Portuguesa de Estomatologia e Medicina Dentária

TAP – *Triple Antibiotic Paste*

I. INTRODUÇÃO

1. Contextualização

A Endodontia é o ramo da Medicina Dentária que estuda a morfologia, fisiologia e patologia da polpa dentária e dos tecidos perirradiculares. O seu estudo e prática englobam as ciências básicas e clínicas, incluindo a biologia da polpa normal, etiologia, diagnóstico, prevenção, tratamento de doenças e lesões da polpa, assim como as condições perirradiculares associadas (*American Association of Endodontists [AAE]*, 2020).

Após a erupção da coroa dentária, a formação da raiz demora 2 a 3 anos até ao seu desenvolvimento completo (ESE, 2016). Porém, durante este período de tempo, é comum que ocorram situações de lesão de cárie e de traumatismo dentário, o que poderá levar a lesões da polpa dentária e da fisiologia do complexo pulpo-dentinário, bem como à interrupção da rizogénese, por necrose do feixe neuro vascular. Consequentemente, a formação de dentina radicular cessa e desta forma a dentina radicular ficará funcionalmente comprometida, frágil e suscetível à fratura radicular (Namour & Theys, 2014). Verifica-se assim uma proporção corono-radicular desfavorável, raízes curtas e diâmetros apicais largos com ausência de encerramento apical (Wigler et al., 2013). Desta forma, a abordagem clínica de dentes imaturos necrosados pode revelar-se desafiante (Nosrat et al., 2012) dada a difícil obtenção de um STOP apical aquando da obturação, não permitindo um adequado selamento do canal radicular (Wigler et al., 2013).

Ao longo dos anos, a apexificação tem sido o método de eleição para a abordagem de casos de dentes imaturos necrosados (Lee et al., 2015). Este clássico procedimento, estabelecido há mais de 40 anos consiste na medicação intracanal a longo prazo com hidróxido de cálcio de forma a estimular a formação de uma barreira de tecido duro no forame apical, de forma a que fosse possível obturar devidamente o canal radicular (Moore et al., 2011). No entanto, o contínuo uso de hidróxido de cálcio poderá deixar o dente ainda mais suscetível, uma vez que este material contribui para a fragilidade das paredes radiculares (Andreasen et al., 2002). Após a introdução do Agregado de Trióxido Mineral (MTA) foi possível contornar esta problemática (Torabinejad & Chivian, 1999). Este material biocerâmico, desenvolvido com base no cimento de Portland, foi

desenvolvido pelo Dr. Mahmoud Torabinejad e colaboradores da Universidade de Loma Linda (Torabinejad et al., 1993). Trata-se de um cimento derivado de um refinamento dos componentes do Cimento de Portland, composto por silicato de tricálcio, silicato de dicálcio, ferrite de alumínio tetracálcio, sulfato de cálcio e outros óxidos e iões minerais, como o óxido de bismuto (Roberts et al., 2008). A biocompatibilidade e a alta capacidade de selamento marginal têm contribuído para a sua utilização cada vez mais na endodontia em diversas aplicações (Torabinejad & Chivian, 1999). Nos últimos anos, existe uma mudança de paradigma na abordagem dos dentes permanentes jovens não vitais, com ápex imaturo, cujo objetivo baseia-se na indução do desenvolvimento radicular e aumento do espessamento da parede dentinária radicular com técnicas endodônticas regenerativas (Nazzal & Duggal, 2017).

O termo revascularização foi introduzido por Nygaard Ostby em 1961 e consiste num tratamento biológico em alternativa à apexificação, em casos devidamente selecionados, cujo objetivo resume-se à regeneração do complexo pulpo-dentinário. Ostby analisou as consequências da hemorragia por sobre-instrumentação dos canais radiculares de humanos e cães, com o propósito de revascularizar o tecido pulpar e consequentemente permitir desenvolvimento radicular e o encerramento apical. Em 1966, Rules e Winter documentaram o desenvolvimento radicular e a formação de uma barreira apical em casos de necrose pulpar em crianças. Em 1972, Ham et al., demonstraram o encerramento apical de dentes não vitais imaturos, em macacos. Já em 2001, Iwaya et al., e em 2004, Bamchs e Trope apresentaram as vantagens desta via de tratamento, que resultou na recuperação da vitalidade pulpar e na maturação fisiológica da raiz (Lin et al., 2017; Pannu, 2017).

O tratamento de um canal radicular vazio, com recurso à terapêutica endodôntica regenerativa, onde se regenera um tecido complexo, constitui um verdadeiro desafio (Simon et al., 2014). Esta terapêutica tem o potencial de regenerar tanto os tecidos pulpares como a dentina radicular, estando o sucesso dependentes da capacidade da técnica e da desinfeção, de forma a que seja possível a formação de tecido pulpar funcional no sistema dos canais radiculares (Murray et al., 2007). Em 1996, Hoshino introduziu uma combinação de três antibióticos, metronidazol, ciprofloxacina e minociclina, a qual apresentou elevada atividade antibacteriana, mesmo nas camadas mais profundas da dentina (Hoshino et al., 1996), criando um ambiente favorável à regeneração endodôntica (Tawfik et al., 2013). Os três antibióticos são misturados com

água, soro fisiológico ou propilenoglicol até se formar uma mistura espessa e homogênea e se obter uma certa consistência (aproximadamente 1 mg/ml) (Lee, 2019). Desta forma, a escolha do veículo é determinante, uma vez que facilitará a aplicação e difusão da medicação intracanal, potenciando a ação antimicrobiana, a cicatrização periapical (Loureiro et al., 2018) assim como, a capacidade de induzir a formação de tecidos mineralizados e a biocompatibilidade (Faria et al., 2018). A aplicação da medicação intracanal poderá ser efetuada através de diversas técnicas de aplicação, tais como a injeção, através de agulha, ou de lentulo (Staeble et al., 1997; Deveaux et al., 2000; Torres et al., 2004). Por outro lado, Torabinejad et al., (2014) apoia a utilização de agulha, lentulo e acrescenta ainda o MAP *system* (Dentsply Tulsa Dental Specialities, Tulsa, OK, EUA), não havendo assim um método de aplicação padronizado para a aplicação da pasta triantibiótica.

Após a desinfecção intracanal torna-se necessário proporcionar um espaço propício à migração, proliferação e localização espacial das células estaminais, assim como regular a sua diferenciação e metabolismo através dos fatores de crescimento (Mishra et al., 2013). Os procedimentos endodônticos regenerativos (PER) apresentam desta forma uma base biológica que visa substituir os tecidos danificados do complexo pulpo-dentinário (Murray et al., 2007) e, promover o contínuo desenvolvimento radicular de dentes imaturos (Galler, 2016). Os avanços na investigação da engenharia dos tecidos centraram-se em três elementos-chave para a regeneração dos tecidos: células estaminais, que têm a capacidade de proliferação e diferenciação; matrizes ou *scaffolds*, estrutura tridimensional que suportará toda a integridade do tecido regenerado e fatores de crescimento que participam na morfogênese e diferenciação do tecido (Hargreaves et al., 2013).

2. Embriologia do órgão dentário

A odontogênese é a denominação atribuída ao conjunto de etapas que estão na origem e histogênese dos dentes, envolvendo iniciação, histodiferenciação, morfodiferenciação e aposição (AAE, 2020). Inicia-se na sexta semana de vida de gestação e constitui um processo complexo resultante da interação entre o epitélio oral e o tecido mesenquimatoso subjacente, estruturas tecidulares distintas com origem na porção cefálica do tubo neural. Este processo apresenta três etapas diferenciadas e sequenciais, estando a designação de cada etapa relacionada com a morfologia que as estruturas celulares apresentam: a fase botão, fase de capuz e a fase de sino (Avery & Chiego, 2006) (Figura 1).

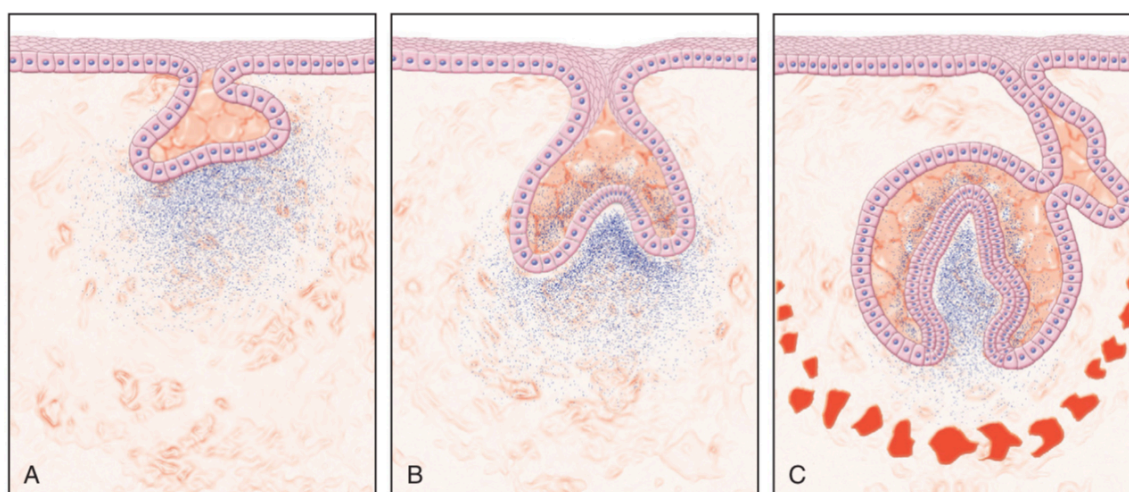


Figura 1 – Representação esquemática das 3 fases do desenvolvimento coronário da odontogênese

Fase de botão (A); Fase de capuz (B) e Fase de sino (C)

Fonte: Adaptado de Hargreaves, K., & Berman, L. (2016). *Cohen's Pathways of the Pulp* (11th ed.). Elsevier Inc.

2.1. Fase de botão

Esta fase caracteriza-se pela proliferação das células da lâmina dentária, que formará pequenas saliências arredondadas, nas posições dos futuros dentes decíduos. As células presentes na lâmina dentária, de natureza epitelial, irão formar uma estrutura arredondada que irá, dada a atividade mitótica, penetrar no interior do ectomesênquima subjacente, formando assim um botão, que estará na origem do órgão do esmalte (Avery & Chiego, 2006). Verifica-se desta forma um aumento da densidade das células

ectomensequimatosas, à medida que a proliferação do botão epitelial ocorre, denominado de condensação ectomesênquima (Nanci, 2017)

2.2. Fase de capuz

A fase de capuz inicia-se devido ao crescimento do órgão de esmalte e caracteriza-se pela formação de uma concavidade na superfície profunda do botão epitelial. À medida que o botão epitelial prolifera, parte da lâmina dentária é arrastada, provocando assim uma extensão definida de lâmina lateral. No decorrer desta fase já é possível identificar elementos de formação histológicos, como o órgão de esmalte que eventualmente irá formar o esmalte. O órgão de esmalte é constituído por células que se diferenciam em epitélio externo, interno e retículo estrelado. As células ectomesenquimais, subjacentes ao capuz irão diferenciar-se na papila dentária, que formará a dentina e a polpa dentária. Por outro lado, o restante tecido ectomesenquimal, que se organiza, limita e encapsula estas estruturas, origina-se em folículo dentário, responsável pela formação de tecidos periodontais. O órgão de esmalte, a papila dentária e o folículo dentário, constituem assim o órgão dentário (Avery & Chiego, 2006; Nanci, 2017).

2.3. Fase de sino

A fase de campânula ocorre após o capuz atingir uma determinada dimensão e define-se por uma fase de morfodiferenciação. O crescimento contínuo do órgão dentário levará a uma invaginação do órgão de esmalte no mesênquima e, desta forma este adquire um aspeto morfológico de sino. Este crescimento vai levar a que a papila dentária seja envolvida parcialmente a nível da região onde se unem os epitélios interno e externo do órgão dentário e assim será possível ver a anatomia aproximada da coroa dentária do futuro dente. Ocorrem ainda fenómenos de citodiferenciação (alteração celular) e histodiferenciação (diferenciação dos diversos tecidos dentários e alteração celular), formando duas estruturas: o epitélio externo e o interno do órgão de esmalte, que unidos dão origem à alça cervical. O epitélio interno do órgão de esmalte inicia-se no ponto em que o epitélio externo do órgão de esmalte se curva para formar a concavidade, onde as células da papila dentária se acumulam. Por outro lado, o epitélio externo do órgão de

esmalte, representa as células periféricas que cobrem a estrutura do esmalte dentário. (Nanci, 2017).

2.4. Rizogénese

Uma vez terminada a formação da coroa dentária, ou seja, quando a deposição da dentina e esmalte atingem a alça cervical, a rizogénese inicia-se. Os odontoblastos começam a formar dentina radicular e o folículo dentário, o cemento, o ligamento periodontal e o osso alveolar. Assim, os epitélios interno e externo do órgão do esmalte continuam a proliferar na alça cervical, formando a bainha epitelial de *Hertwing* (BEH), que, por sua vez, assume um papel na modelação da forma, comprimento, tamanho e número de raízes (Kumar, 2011; Nanci, 2017). A BEH tem a capacidade de sobreviver a processos inflamatórios e estimular células estaminais do ligamento periodontal a diferenciarem-se em cementoblastos, promovendo assim o desenvolvimento e reparação radicular (Keinan & Cohen, 2013). Com a deposição de dentina radicular, a camada externa desta bainha desagrega-se e forma os restos epiteliais de *Malassez*, que segundo evidência recente, poderão manter a sua capacidade de divisão celular e desta forma estarem envolvidos em processos regenerativos. (Nanci, 2017).

3. Histologia da polpa dentária

Em termos histológicos, é possível distinguir, da superfície para o centro, quatro zonas na polpa dentária (Figura 2): camada de odontoblastos; zona acelular ou camada basal de Weil; zona rica em células e a zona central ou núcleo pulpar (Nanci, 2017).

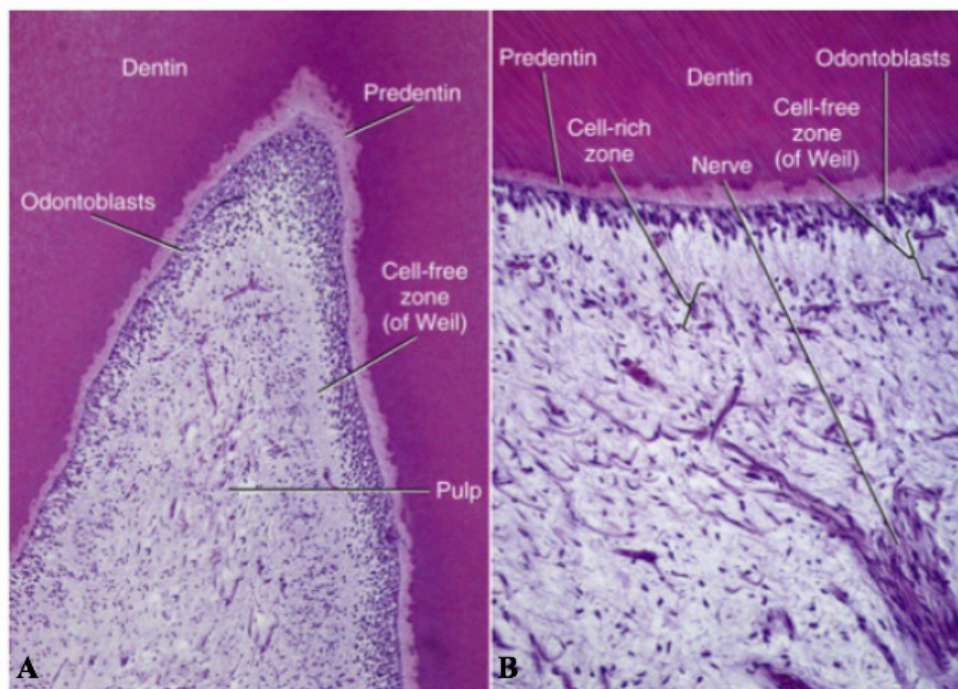


Figura 2 - A: Fotomicrografia da baixa potência do complexo pulpo-dentinário; B: Numa potência superior a zona acelular sob a camada de odontoblastos, claramente visível, tal como a zona rica em células.

Fonte: Adaptado de Nanci, A. (2017). Ten Cate's Oral Histology (9th ed.). St. Louis: Elsevier Inc.

3.1. Camada de odontoblastos

Esta camada localiza-se imediatamente abaixo da pré-dentina e representa a camada mais externa das células da polpa saudável. Os processos odontoblásticos passam pela pré-dentina para a parte interna da dentina. Consequentemente, esta camada é constituída por corpos de células dos odontoblastos, podendo ser encontradas entre os odontoblastos, fibras nervosas, capilares e células dendríticas (Hargreaves & Berman, 2016).

Na porção coronal da polpa jovem, que se encontra ativa a secretar colagénio, os odontoblastos assumem uma forma colunar alta. Os odontoblastos variam em altura (os seus núcleos não estão todos alinhados). Entre os odontoblastos adjacentes existem pequenos espaços intercelulares de aproximadamente 30 a 40 nanómetros de largura. Os corpos das células dos odontoblastos estão ligados por junções oclusivas e comunicantes. As junções comunicantes são formadas por proteínas conexinas que permitem a passagem de célula a célula de moléculas de sinal. Os desmossomas presentes na parte apical dos corpos celulares do odontoblasto, unem-se aos odontoblastos mecanicamente. As junções oclusivas determinam a permeabilidade da camada de odontoblastos quando a dentina

está coberta de esmalte ou cimento ao restringir a passagem de moléculas, iões e fluido dentro dos compartimentos extracelulares da polpa e da pré-dentina. Durante a preparação da cavidade, essas junções são rompidas, causando o aumento da permeabilidade da dentina. A camada de odontoblastos na polpa coronária contém mais células por unidade de área do que a polpa radicular. Enquanto que os odontoblastos da polpa coronária madura são geralmente colunares, os da porção média da polpa radicular são mais cubóides. Próximo ao forame apical, os odontoblastos aparecem como uma camada escamosa de células achatadas. Durante a maturação e o envelhecimento, há uma aglomeração contínua na camada de odontoblastos, especialmente na polpa coronária, devido à diminuição do espaço pulpar (Hargreaves & Berman, 2016).

3.2. Zona acelular

Esta camada subodontoblástica, também denominada de camada basal de Weil, é uma zona que, possivelmente devido à forte migração de odontoblastos, numa fase inicial da dentinogênese, é quase impercetível. Por norma é bem definida na porção coronária e ausente na porção radicular. Trata-se de uma zona estreita, pobre em células com cerca de 40 micrómetros de espessura, composta por fibras delicadas, plexo nervoso de Raschkow, pelo capilar subodontoblástico, fibroblastos subodontoblásticos e células dendríticas pulpares. É ainda uma zona onde os odontoblastos se movem com o propósito de proteção pulpar no decorrer do desenvolvimento dentário (Avery & Chiego, 2006; Ferraris & Muñoz, 2006; Kumar, 2015). A presença ou ausência da camada acelular depende do estado funcional da polpa. Poderá não estar presente em polpas jovens, nas quais a dentina se forma rapidamente, ou em polpas mais velhas, nas quais a dentina reparadora está a ser produzida. (Hargreaves & Berman, 2016).

3.3. Zona rica em células

Esta zona é muito mais proeminente na polpa coronária do que na polpa radicular. Além dos fibroblastos, a zona rica em células poderá incluir uma quantidade variável de células imunes (macrófagos e células dendríticas), mas também células tronco mesenquimais indiferenciadas. Embora a divisão celular dentro desta zona seja rara, em polpas normais, a morte dos odontoblastos dispara um aumento significativo da taxa de mitose. Como os

odontoblastos são células pós-mitóticas, os odontoblastos irremediavelmente destruídos são substituídos por células que migram da zona rica em células para a superfície interna da dentina. Esta atividade mitótica é, provavelmente, o primeiro passo na formação de uma nova camada de odontoblastos (Hargreaves & Berman, 2016). É ainda considerada uma zona que apresenta uma elevada densidade celular, vasos sanguíneos e nervos (Avery & Chiego, 2006).

3.4. Zona central

Consiste numa zona composta por tecido conjuntivo laxo e contém os vasos sanguíneos mais largos e também nervos (Hargreaves & Berman, 2016). As células mais abundantes nesta zona são os fibroblastos, com uma forma estrelada típica e extensos prolongamentos (Kumar, 2015), sendo que os elementos células presentes na polpa são os fibroblastos, os odontoblastos, as células mesenquimatosas indiferenciadas, os macrófagos e os linfócitos (Avery e Cheigo, 2006). Os odontoblastos, são, após os fibroblastos, o tipo celular presente em maior quantidade na polpa dentária, sendo responsáveis pela formação e manutenção da dentina primária e secundária (Murray et al., 2000).

4. Complexo pulpo-dentinário

A dentina e a polpa dentária, do ponto de vista embriológico, histológico e funcional, são duas fases de um mesmo tecido conjuntivo, mineralizado e laxo, funcionando assim como uma unidade (Nanci, 2017). “*A polpa mantém a vitalidade da dentina e a dentina protege a integridade da polpa*” (Cavacas, 2014).

A dentina primária é secretada durante a odontogénese e as células responsáveis por este fenómeno são os odontoblastos, sendo denominada de dentina fisiológica. Após a completa rizogénese, forma-se a dentina secundária, que, tal como a dentina primária, é uma dentina fisiológica, com formação contínua ao longo da vida. Por fim, caso o dente sofra algum tipo de agressão, por lesão de cárie por exemplo, haverá interrupção da secreção de dentina secundária e desta forma inicia-se a formação e secreção da dentina terciária (Goldberg, 2008). Por sua vez, a dentina terciária poderá ser classificada como dentina reacional, no caso de uma agressão moderada, sem destruição dos odontoblastos

e será secretada pelos mesmos, e como dentina reparadora, quando o estímulo provocado tiver causado a destruição do odontoblasto original, outras células vão migrar e modificar-se em *odontoblastic like-cells*. Este recém-diferenciados odontoblastos, vai ser responsável pela neoformação de dentina, menos tubular e mais irregular (Goldberg & Smith, 2004).

O complexo pulpo-dentinário contém células estaminais mesenquimais (CEM) com capacidades regenerativas e reparadoras deste complexo (Zivkovic et al., 2010). Assim, a dinâmica do complexo pulpo-dentinário implica que os impactos na dentina podem afetar os componentes da polpa e, as lesões desta, afetarão, por sua vez, a quantidade e qualidade de dentina produzida (Hargreaves & Berman, 2016).

5. Fisiopatologia da polpa dentária

A polpa é essencial para o desenvolvimento radicular em dentes permanentes imaturos. Portanto, o principal objetivo do tratamento endodôntico é preservar a vitalidade da polpa afetada por lesão de cárie ou traumatismo dentário e da polpa afetada por anomalias dentárias. A terapia pulpar depende se a polpa é vital ou não vital após o estímulo (*American Academy of Pediatric Dentistry [AAPD], 2014*).

A lesão de cárie é a causa mais comum de perda da vitalidade dentárias, embora o traumatismo dentário seja a principal perda de vitalidade dos dentes anteriores (Paulindraraj et al., 2015). Segundo a AAPD, as profundas lesões de cárie profundas podem afetar a polpa através dos subprodutos bacterianos que irão causar pulpíte reversível. Se esta não for tratada progredirá para a pulpíte irreversível e finalmente para necrose pulpar (AAPD, 2014). Quando a lesão de cárie afeta a polpa dentária, haverá contaminação por toxinas bacterianas e formação de biofilme nas paredes do canal radicular, podendo ocorrer a sua reabsorção deste, alterando o seu microambiente. A infecção induz uma resposta imuno-inflamatória e destruição de tecidos periradiculares, o que dificulta o potencial de regeneração de tecidos (Lin & Rosenberg, 2011). As bactérias apresentam várias vias de acesso até ao tecido pulpar, tais como a exposição dos túbulos dentinários, a exposição pulpar direta, via periodontal, através da infiltração marginal ou através da circulação sanguínea (anacorese hematogénica), levando à formação de lesão

periapical, sendo que, a extensão da destruição depende da virulência das bactérias envolvidas e da resistência dos tecidos do hospedeiro (Hargreaves & Berman, 2011). Assim a prevenção, detecção precoce e tratamento da inflamação/infeção pulpar e periapical poderá melhorar a regeneração e minimizar a reparação dos tecidos pulpares e periapicais após a terapia endodôntica (Lin & Rosenberg, 2011). O termo científico mais adequado para definir a designação comum “lesão periapical” é periodontite apical ou periradicular. Esta inflamação apresenta origem pulpar e afeta os tecidos periodontais de suporte, isto é, ligamento periodontal, cimento e osso alveolar, localizados em redor do terço apical da raiz de um dente (AAE, 2020).

Segundo Lin & Rosenberg (2011), se a BEH sobreviver a lesões inflamatórias, conseguirá induzir células estaminais do ligamento periodontal a sofrerem diferenciação em cementoblastos, promovendo desta forma o desenvolvimento, reparação ou regeneração, através da formação de cimento. Assim, caso a papila apical e a BEH sobrevivam perante situações de diagnóstico clínico de periodontite apical, as células estaminais da papila apical serão capazes, influenciadas pela BEH, de se diferenciarem em odontoblastos e assim produzir dentina radicular. Ainda, Huang et al., defendem que quanto mais tempo durar a infeção num dente imaturo, menor será a probabilidade das células estaminais necessárias para os processos regenerativos, sobreviverem. Por outro lado, consideram que o tempo permite uma penetração bacteriana mais profunda nos túbulos dentinários, o que torna a desinfeção um objetivo mais difícil de obter (Huang et al., 2008).

Kumar afirma que a gravidade da infeção está relacionada com a extensão da inflamação e com a destruição dos tecidos (Kumar et al., 2009), o que dificultará a capacidade de regeneração dos tecidos pelas células estaminais (Lin & Rosenberg, 2011). Desta forma, a presença de infeção prévia poderá afetar negativamente a regeneração do tecido pulpar, danificando as células formadoras de tecido, bem como as células estaminais nos tecidos periapicais (Kim, 2016). Feita a história clínica e a identificação dos sinais e sintomas, o médico dentista poderá chegar a um diagnóstico, apesar da maioria dos testes terem limitações inerentes. Segundo Klein, os testes de sensibilidade da polpa, como por exemplo o teste térmico e elétrico, apresentam limitação, uma vez que as raízes são imaturas. Além disso, muitas vezes são obtidas respostas inválidas em crianças com medo, incapacidade de entender ou comunicar com precisão (Klein, 1978), sendo o diagnóstico a chave fulcral do tratamento, devendo existir domínio das patologias,

consenso dos conceitos utilizados, clareza e padronização nas classificações (Hargreaves & Berman, 2016).

6. Conceitos e Aspectos Biológicos da Revascularização

De acordo com a literatura têm sido estabelecidos vários termos, sendo a endodontia regenerativa, revascularização e revitalização os mais utilizados. Segundo Murray et al., (2007) a engenharia de tecidos tem sofrido diversas alterações de definição aos longo dos anos de acordo com o progresso científico.

O mecanismo fisiológico dos procedimentos endodônticos regenerativos (PER) não se encontra totalmente claro. São vários aqueles que procuram explicar o aumento do comprimento e da espessura da dentina radicular (Albuquerque et al., 2014).

As primeiras tentativas de revascularização da polpa dentária foram realizadas nos anos 60 por Ostby. Nessa altura, o tratamento baseava-se na estimulação de hemorragia apical, com o propósito de formar um coágulo sanguíneo no interior do canal radicular. Ostby criou a hipótese que o coágulo sanguíneo será o primeiro passo na cicatrização do tecido pulpar danificado, com base nas propriedades sanguíneas (Pramila & Muthu, 2012).

Andreasen em 1994 definiu revascularização como o restabelecimento da vascularização no canal radicular após traumatismo dentário que cessa o suprimento sanguíneo para a polpa dentária de dentes permanentes imaturos, sendo este fundamental para a vitalidade de qualquer tecido (Andreasen & Andreasen, 1994) e mais satisfatório quando estamos perante raízes imaturas e ápexes abertos (Hargreaves et al., 2013). A regeneração por sua vez é definida como a restauração da arquitetura e da função biológica dos tecidos danificados, por tecidos semelhantes ao original. Por outro lado, a reparação baseia-se na substituição do tecido danificado por tecido diferente ao original, com perda da função biológica (Majno & Joris 2004). A revitalização surge na literatura uma vez que descreve tecido vital não específico e não apenas vasos sanguíneos, como implica o termo revascularização (Lenzi & Trope, 2012). Desta forma, a endodontia regenerativa inclui os *“procedimentos biologicamente guiados que têm como objetivo o restabelecimento fisiológico de estruturas dentárias danificadas, incluindo a dentina e estruturas radiculares, assim como células do complexo pulpo-dentinário”* (AAE, 2020), tendo

como princípios da regeneração de tecidos, a tríade: células estaminais, *scaffolds* e fatores de crescimento (Hargreaves et al., 2013; Lee, 2019) (Figura 3).

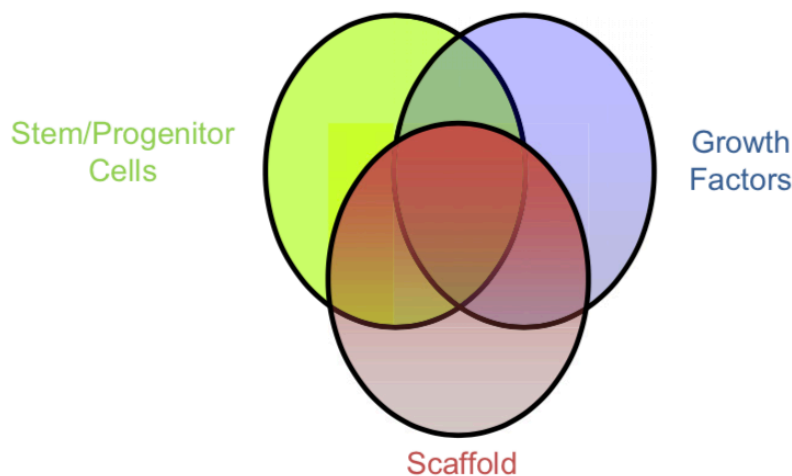


Figura 3 - Três componentes principais da engenharia de tecidos

Fonte: Adaptado de Hargreaves, K. M., Diogenes, A., & Teixeira, F. B. (2013). Treatment options: biological basis of regenerative endodontic procedures. *Journal of Endodontics*, 39(3), 30–43.

Nygaard Ostby e Hjortdal, demonstraram assim que, após a laceração do tecido periapical, com auxílio de uma lima, até que ocorra hemorragia, um novo tecido vital vascularizado ter-se-à formado no terço apical de dentes permanentes necróticos ou submetidos previamente a pulpectomia (Ostby & Hjortdal, 1961). A polpa dos dentes permanentes jovens imaturos são mais resistentes a lesões de cárie ou traumas que os dentes permanentes maduros, uma vez que a idade do paciente está relacionada com o desenvolvimento radicular e diâmetro apical. Desta forma, os dentes permanentes jovens imaturos permitem uma eficiente circulação sanguínea da polpa, com o objetivo de transportar os componentes celulares e moleculares do sistema imunitário inato e adaptativo para o interior do canal radicular (Kim et al., 2018). Segundo Fang et al., (2018) diâmetros apicais de 0,5 a 1 milímetro apresentam uma taxa de sucesso clínico elevada na terapêutica de revascularização.

A natureza dos tecidos formados no canal radicular, previamente desinfetado, após a terapia endodôntica regenerativa, não pode ser determinada através da radiografia periapical convencional ou CBCT, mas apenas por exame histológico (Kim et al., 2018). Está bem estabelecido que os sinais e sintomas clínicos não estão correlacionados com o estado histológico de dente (Dummer et al., 1980). Por outro lado, as metodologias de investigação biológica permitem uma avaliação mais precisa, permitindo assim que o

investigador observe e analise o tecido a nível histológico, o comportamento celular e o estado imunológico/inflamatório do tecido (Simon et al., 2014). Apesar dos achados radiográficos poderem ser representativos de regeneração do tecido pulpar, análises histológicas, feitas em diversos estudos, demonstram que em alguns casos ocorreu reparação tecidual através da formação de tecido fibroso, cemento ou osso no canal radicular, sem que ocorra a regeneração do tecido pulpar (da Silva et al. 2010, Wang et al. 2010, Andreasen & Bakland 2012, Martin et al. 2014, Meschi et al. 2015), caracterizando desta forma, histologicamente, a terapia endodôntica regenerativa dos dentes permanentes imaturos, com polpa necrótica um processo reparador e não regenerativo (Garcia-Godoy & Murray, 2012). Efetivamente, Shah et al., (2008) relataram que perante a estimulação da hemorragia, outras células para além das CEPA poderiam entrar no canal radicular, assim como, células do ligamento periodontal e células estaminais da medula óssea e, desta forma, o crescimento radicular resultaria da deposição de tecido periodontal ao invés da regeneração propriamente dita, da polpa dentária (Figura 4). De facto, o tamanho das células humanas varia de 10 a 100 micrometros, sendo desta forma possível, cementoblastos, osteoblastos, células do ligamento periodontal e células endoteliais entrarem no canal radicular através do forame apical, mesmo com um diâmetro inferior a 0,5 mm (Kim et al., 2018).

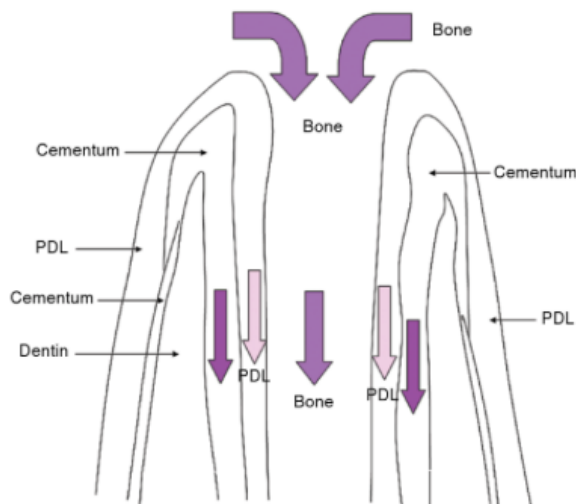


Figura 4 - Crescimento interno de periodonto no canal pulpar, incluindo osso, ligamento periodontal e cimento.

Fonte: Adaptado de Torabinejad, M. (2014). *Mineral Trioxide Aggregate: Properties and Clinical Applications*. (1st ed., pp. 160-170) <https://doi.org/10.1002/9781118892435>

Os tecidos vitais por norma apresentam revascularização interna, podendo desta forma responder a testes pulpares, ou seja, a estímulos externos. Desta forma, a resposta positiva ao teste de sensibilidade da polpa dentária em dentes permanentes imaturos com polpa necrótica após o PER, não indica necessariamente regeneração do tecido pulpar (Kim et al., 2018), mas indica que após o tratamento foi restaurada a vascularização, independente do tipo de tecido formado no canal radicular (Bezgin & Sonmez, 2015). Por outro lado, se a resposta for negativa poderá estar associada a uma camada maior que 3-4 milímetros de MTA, ou de outro cimento restaurador (Bezgin & Sonmez, 2015). Para o paciente, se a formação no interior do canal radicular é verdadeiramente tecido pulpar ou não, é irrelevante (ESE, 2016) desde que ocorra maturação radicular, isto é, aumento da espessura da dentina radicular e/ou contínuo desenvolvimento radicular, para que a resistência da raiz seja aumentada (ESE, 2016). Segundo Li et al., (2017) a imprevisibilidade da maturação radicular poderá estar associada à perturbação na interação entre a BEH e as CEM no fóliculo pericoronário. Radiograficamente, recorrendo à radiografia convencional bidimensional, pode-se observar uma maturação radicular completa, mas recorrendo ao CBCT poder-se-á observar um desenvolvimento defeituoso (Linsuwanont et al., 2017).

6.1. Células Estaminais

Foi demonstrado que o PER se trata de uma terapia à base de células estaminais (Iohara et al., 2004; Lovelance et al., 2011). As células estaminais são definidas como células que apresentam divisão dando origem a células filhas estaminais com características semelhantes, ao longo de toda a vida (Weissman, 2000). Estas células poderão ser classificadas de acordo com a sua origem, em células estaminais embrionárias, presentes em tecidos embrionários e, em células estaminais pós-natais, presentes nos tecidos diferenciados, apresentando estas últimas um menor potencial de diferenciação (Zivkovic et al., 2010). O recurso às células estaminais embrionárias está rodeado de questões éticas e legais, o que reduz o seu interesse nestas, aumentando desta forma o interesse pelas células estaminais pós-natais (Murray et al., 2007) que, dependendo da sua localização, poderão ser divididas em duas linhagens: células hematopoiéticas e células estaminais mesenquimais (Figura 5). As células estaminais hematopoiéticas derivam da medula óssea, sangue periférico ou do cordão umbilical. Por outro lado, as células estaminais mesenquimais têm origem por exemplo, no fígado, no tecido adiposo, no líquido amniótico e nos tecidos dentários, entre outros (Shilpa et al., 2013). As CEM residem em nichos perivasculares onde sofrem processos de autorrenovação e asseguram as células/tecidos circundantes. Em condições de sinalização específicas, as CEM poderão sofrer processos de diferenciação em osteoblástica (osteocítica), endotelial, condrocita, adipocítica, odontoblástica e linhagens neurais (Oh & Nör, 2015) (Figura 5). Desta forma, a terapia regenerativa endodôntica nos sistemas de canais radiculares, com recurso às células sanguíneas do próprio paciente evita a possibilidade de rejeição imunológica e transmissão de agentes patogénicos (Murray et al., 2007).

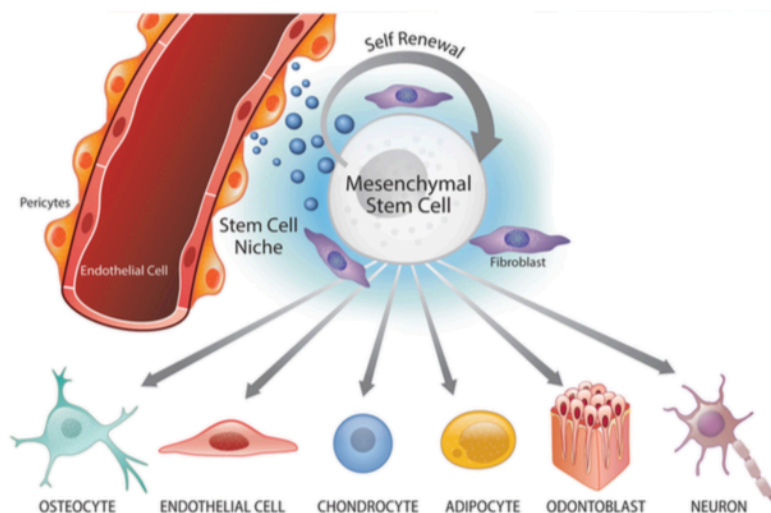


Figura 5 – Nicho perivascular e multipotência de células estaminais mesenquimais (CEM).

Fonte: Adaptado Oh, M., & Nör, J. E. (2015). The perivascular niche and self-renewal of stem cells. In *Frontiers in Physiology*. 6, 376.

As células estaminais pós-natais poderão reagir através da sua capacidade de autorrenovação de um determinado tecido por diferenciação destas em outros tecidos, apresentando assim a capacidade de reparação e regeneração dos tecidos ao longo da vida. Estas células são influenciadas por um microambiente designado de nicho de células estaminais, presente na polpa dentária e na dentina, que assume um papel base de controlo destas células (Goodis et al., 2012), podendo assim diferenciarem-se em diversos fenótipos celulares de acordo com a sua linhagem e com o estímulo ambiental a que estão sujeitas, assim como, fatores de crescimento, matriz extracelular e hipoxia (Hargreaves et al., 2013).

Na Figura 6 estão representados os vários tipos de células estaminais presentes nos tecidos orais e maxilo-faciais, sugerindo assim que os tecidos orais são uma rica fonte de células estaminais (Hargreaves et al., 2013). Desta forma, podemos caracterizar estas células mesenquimatosas em, células do folículo dentário, células estaminais da polpa dentária (CEPD) de dentes esfoliados e de dentes adultos e, células estaminais da papila apical (CEPA). Todas estas células poderão ser aplicadas na engenharia de tecidos, dado o seu fácil acesso, versatilidade e capacidade de proliferação (Huang et al., 2010). As CEPA, células pluripotentes utilizadas na regeneração (AAE, 2020) apresentam a vantagem de uma vascularização colateral, dada a sua localização anatómica e ao facto de estarem envolvidas pelo periodonto. Desta forma sobrevivem perante uma situação de pulpite

irreversível ou até mesmo de necrose pulpar (Tziafas & Kodonas, 2010). Um recente estudo concluiu que tanto as células estaminais da polpa dentária (CEPD) como as da papila apical (CEPA), células provenientes do ápex de um dente imaturo, poderiam sofrer processos de diferenciação, transformando-se assim em células odontoblásticas com potencial para migrar e mineralizar; contudo as CEPA apresentariam um maior potencial de proliferação em relação às primeiras (Mrovik et al., 2010). Whiting et al., (2018) demonstraram que as CEPA são menos resistentes à morte celular, quando comparadas com outras células estaminais da cavidade oral, o que as poderia tornar mais suscetíveis às células imunitárias. É essencial que a combinação de antibióticos seja biocompatível e não tenha qualquer efeito tóxico nas células estaminais do hospedeiro, uma vez que o sucesso do PER depende da preservação das células hospedeiras residuais e desta forma a regeneração dos tecidos só ocorrerá se as células estaminais tiverem sobrevivido (Diogenes et al., 2013). Ruparel et al., (2012) avaliaram a sobrevivência das CEPA expostas a várias concentrações de medicação intracanal e demonstraram que quando as células foram expostas a concentrações elevadas de antibióticos, houve uma diminuição significativa da sobrevivência destas células. Assim, de forma a reduzir a toxicidade e evitar quaisquer efeitos prejudiciais nas células estaminais da papila apical Lee, recomenda a utilização da pasta triantibiótica numa concentração não superior a 1mg/mL (Lee, 2019).

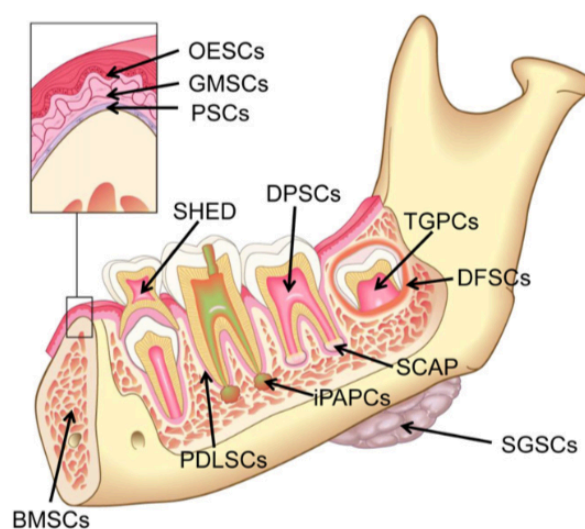


Figura 6 - Ilustração esquemática das potenciais fontes de células estaminais adultas

Fonte: Adaptado de Hargreaves, K. M., Diogenes, A., & Teixeira, F. B. (2013). Treatment options: biological basis of regenerative endodontic procedures. *Journal of Endodontics*, 39(3), 30–43.

6.2. Fatores de Crescimento

Os fatores de crescimento são classificados como um grupo diversificado de polipéptidos, com um papel relevante na regulação da regeneração, no crescimento e desenvolvimento de tecidos (AAE, 2020). Estas moléculas sinalizadoras transmitem sinais para controlar o comportamento e atividade celular, através de recetores específicos existentes na superfície celular (Goodis et al., 2012). Devem ser considerados como coadjuvantes importantes, uma vez que a simples estimulação de hemorragia ao nível da papila apical e conseqüentemente entrada de células estaminais para o canal radicular poderá não ser suficiente para levar à diferenciação em células do complexo pulpo-dentinário (Hargreaves et al., 2013).

Até hoje, muitos fatores foram identificados com funções específicas e com utilidade na engenharia de tecidos (Murray et al., 2007), sendo os de maior relevo, os que apresentam um papel fundamental nos processos de desenvolvimento e regeneração tecidual: os fatores de crescimento de transformação beta (TGF- β), β 1 e β 3 e as proteínas morfogénicas ósseas (BMP) -2, 4 e 7. Os fatores de crescimento de transformação são vitais para a diferenciação odontoblástica e estimulação da secreção da matriz dentinária. Estes fatores são secretados pelos odontoblastos e depositados no interior da matriz dentinária, onde se mantêm protegidos de forma ativa através da interação com outros componentes da matriz dentinária. Além disso, a AAE e a ESE recomendam a utilização um agente quelante, como o EDTA a 17%, como solução de irrigação final (ESE, 2016; AAE, 2018) uma vez que este se ligará aos iões de cálcio e libertará fatores de crescimento da dentina radicular (Taweewattanapaisan et al., 2019), dependendo a taxa de libertação do fator de crescimento, do tipo e taxa de degradação da *scaffold* e, da taxa de difusão do fator de crescimento através dos seus poros (Zivkovic et al., 2010). Por outro lado, as BMP, de forma combinada, estimulam a diferenciação de células estaminais pós-natais em odontoblastos e conseqüentemente a formação de dentina (Murray et al., 2007).

6.3. Scaffolds

As *scaffolds* proporcionam uma estrutura para as células estaminais crescerem (AAE, 2020). São utilizadas como um meio de suporte, que proporcionará desta forma condições biológicas e físico-químicas apropriadas, onde células e vasos sanguíneos irão crescer e diferenciar, promovendo desta forma adesão e migração celular (Nakashima, 2005). Por outro lado, também regulam a liberação local de fatores de crescimento e a cascata de sinalização desencadeada quando ocorre ligação das células estaminais entre si e à matriz extracelular (Hargreaves et al., 2013).

A *scaffold* ideal deverá ser esterilizada, biocompatível, não provocar uma resposta inflamatória ou citotóxica, permitir o recrutamento, adesão, proliferação, diferenciação e vascularização das células estaminais e outras, organizadas de forma tridimensional, de modo a conduzir a um melhor e rápido desenvolvimento tecidual em sintonia com a biodegradação da mesma (Galler et al., 2011). Posto isto, deverá apresentar alta porosidade para que haja fácil interação entre a matriz e as células, através da circulação de nutrientes e produtos residuais (Zivkovic et al., 2011) e, resistência física e mecânica (Saber, 2009), não devendo libertar toxinas (Zivkovic et al., 2011).

Poderão ser classificadas de acordo com a sua origem em: naturais, como a matriz de colagénio, glicosaminoglicanos, quitosano (Murray et al., 2007), matriz dentinária desmineralizada (Hargreaves & Berman, 2016), plasma rico em plaquetas (PRP) (Jadhav et al., 2014), fibrina rica em plaquetas (FRP) (Jadhav et al., 2015), coágulo sanguíneo (Banchs & Trope, 2014) e seda (Yang et al., 2015); em matrizes sintéticas, confeccionadas a partir do ácido co-poliláctico-glicólico (APLG), ácido poliláctico (APL), ácido poliglicólico (APG) e de policaproactona (PCL) (Murray et al., 2007) e materiais biocerâmicos: materiais de cálcio/fosfato, vidros bioativos e vidros cerâmicos (Hargreaves & Berman, 2016).

O coágulo sanguíneo, o PRF e o PRP são considerados a primeira opção no tratamento de dentes imaturos com necrose pulpar, utilizados na terapia endodôntica regenerativa, representando assim a “mudança de paradigma (Kim et al., 2018). O coágulo sanguíneo tem sido amplamente utilizado, visto que apresenta fatores de crescimento, tais como o fator de crescimento endotelial vascular (FCEV), fator de crescimento endotelial

plaquetário (FCEP), fator de crescimento derivado das plaquetas (FCDP) e fatores de crescimento tecidual (FCT), que estimulam as células mesenquimatosas indiferenciadas a sofrerem diferenciação, crescimento e maturação em fibroblastos, odontoblastos e cementoblastos, responsáveis pela formação de novos tecidos (Shah et al., 2008). A estimulação da hemorragia promove desta forma o influxo de células estaminais e de fatores de crescimento, no interior do canal, potencializando desta forma a regeneração dos tecidos (Lovelace et al., 2011).

6.4. Protocolo clínico

Por se tratar de um procedimento relativamente recente, a variabilidade dos protocolos clínicos aplicados durante o PER é considerada elevada. Devido à falta de elevados níveis de evidência, está ainda por determinar um protocolo favorável que proporcione o resultado mais favorável (Kontakiotis et al., 2014)

Os elementos chave dos procedimentos de revitalização segundo a ESE, (2016) passam pela mínima ou nenhuma instrumentação das paredes dentina radicular; desinfecção com irrigantes; aplicação da medicação intracanal; provocação da hemorragia e posterior formação de um coágulo sanguíneo; cobertura do coágulo com cimento de silicato hidráulico e selamento coronário.

De acordo com a AAE e a ESE, o protocolo clínico da regeneração endodôntica requer pelo menos duas consultas (ESE, 2016; AAE, 2018).

6.4.1. Seleção do caso

Dada a complexidade biológica do procedo regenerativo, é fundamental uma prévia avaliação do grau de desenvolvimento radicular, o diâmetro apical, a história de inflamação e a restaurabilidade do dente em questão (Wigler et al., 2013).

Segundo a AAE, pacientes com dentes permanentes com diagnóstico de necrose pulpar, com desenvolvimento radicular incompleto, com ou sem periodontite apical, paciente cooperante, dado o número de consultas necessárias, bem como a ausência de alergias a

qualquer antibióticos utilizados, são candidatos a este tipo de procedimento (AAE, 2020). Como já foi referido anteriormente, o ápex aberto permite a migração de células estaminais para o canal radicular. Um diâmetro apical de 1,1 milímetros ou maior beneficia o PER em 18% a 34%, uma vez que quanto mais pequeno for o forame apical, maior limitação de fluxo ocorre e conseqüentemente menor possibilidade de revascularização e regeneração de tecidos existe (Garcia-Godoy & Murray, 2012). A idade também parece ser um fator importante, uma vez que segundo os casos documentados, os pacientes com 8 a 16 anos de idade apresentaram resultados mais vantajosos (Chueh & Huang, 2006; Garcia-Godoy & Murray, 2012).

6.4.2. Consentimento Informado

Antes de se iniciar a revascularização, o parente ou responsável legal deverá ser informado da necessidade de pelo menos duas consultas neste procedimento, da utilização de antibióticos e possíveis efeitos adversos, como a coloração da coroa/raiz, da ausência de respostas ao tratamento, e de dor e infeção. Deverá também ser informado do insucesso do tratamento, assim como das alternativas, como a apexificação através de uma barreira apical com MTA, a extração dentária ou o não efetuar nenhum tipo de tratamento. Por último e opcional, deverá ser pedida a autorização para introduzir as informações do caso clínico na base de dados da AAE (AAE, 2018).

6.4.3. Primeira Consulta

A primeira consulta deverá iniciar-se com a desinfeção do campo cirúrgico com recurso a iso-Betadine®, por exemplo (ESE, 2016), anestesia local, isolamento absoluto com dique de borracha e acesso coronário (AAE, 2018).

Como já foi referido, os dentes com ápex imaturo apresentam canais com paredes dentinárias frágeis, isto é, subdesenvolvidas, pelo que a instrumentação mecânica está contraindicada. Desta forma, o desbridamento químico é a principal via de desinfeção (Lee, 2019).

O hipoclorito de sódio, líquido transparente, amarelo esverdeado, altamente alcalino, com forte odor a cloro (AAE, 2020) é a principal solução irrigante utilizada em Endodontia dada a sua eficácia, dissolução de tecido orgânico, eliminação de microrganismos e capacidade de lubrificação (Basrani & Haapsalo, 2013). No entanto, a sua concentração máxima utilizada provoca a desnaturação dos fatores de crescimento presentes na dentina e tem um efeito sobre as células estaminais (AAE, 2018). Desta forma, as orientações recomendam a irrigação abundante e suave com 20 mL de NaOCl durante 5 minutos por canal, com concentração mínima de 1,5% (ESE, 2016; AAE, 2018), nunca ultrapassando a concentração de 3% (ESE, 2016), e com recurso a uma agulha com saída lateral inserida até 1 milímetro do ápex (AAE, 2018).

De acordo com a ESE (2016), após a irrigação com NaOCl, deve-se irrigar com soro fisiológico (5 mL) de forma a reduzir os seus efeitos citotóxicos, nos tecidos vitais. De seguida secam-se os canais e recorre-se ao EDTA a 17% (20 mL) (ESE, 2016). Por outro lado, a AAE recomenda a utilização de soro fisiológico ou EDTA (20mL/canal, 5 minutos), com a agulha colocada a 1 milímetro do ápex, durante 5 minutos, de forma a minimizar os efeitos citotóxicos. Além disso, a irrigação passiva por ultrassons (PUI) e o recurso à XP-endo finisher (FKG Dentaire AS, La Chaux-de-Fonds, Switzerland) poderá aumentar a atividade antimicrobiana (AAE, 2018).

Diversos autores afirmam que os 2 milímetros é o limite de extensão antes do ápex, uma vez que a aquando da irrigação, a solução irrigante não progride mais do que 1 milímetro desde a ponta da agulha (Wigler et al., 2013).

Terminada a desinfeção inicial os canais radiculares, é recomendada a sua secagem com cones de papel esterilizados, a fim de se aplicar a medicação intracanal (Wigler et al., 2013; AAE, 2018). O recurso ao hidróxido de cálcio, embora eficaz na redução da carga bacteriana (Bystrom et al., 1985), e no preenchimento do espaço necessário para a revascularização, inicia uma resposta do tecido duro por necrose do tecido do ápex radicular (Schroder et al., 1971), assim como diminui a resistência da dentina radicular após uso prolongado (Doyon et al., 2005). Apesar da aplicação de hidróxido de cálcio não promover citotoxicidade para as células estaminais e não apresentar vantagem no desenvolvimento radicular, ao contrário da pasta triantibiótica (Lee, 2019), foi

demonstrado que promove a desnaturação do colagénio e a quebra das ligações entre as fibras de colagénio e os cristais de hidroxiapatite, (Bakhtiar et al., 2017) Segundo Andreasen et al., após 14 dias da presença de hidróxido de cálcio a resistência à fratura da dentina radicular estava inalterada e só após 2 meses foram notadas alterações (Andreasen et al., 2002). Recentemente, a ESE defendeu a utilização de hidróxido de cálcio em vez de antibióticos (ESE, 2016), salientando que não existe evidência suficiente que apoie a utilização de antibióticos nos PER (Galler, 2016). Por outro lado, estudos clínicos que analisaram os resultados dos PER, nos quais foram utilizados antibióticos, revelaram taxas de sucesso elevadas. Estudos de Chan et al., (2017), incluíram 28 dentes permanentes imaturos com necrose pulpar, e utilizaram pasta triantibiótica com cefaclor, ciprofloxacina e metronidazol, relatando 100% de eliminação da radiotransparência apical e 93% de sucesso clínico. Desta forma, e como já foi mencionado anteriormente, existe uma combinação triantibiótica, contendo metronidazol, ciprofloxacina e minociclina numa proporção 1:1:1, cujo objetivo é a desinfeção do sistema radicular a fim de aumentar o sucesso clínico da endodontia regenerativa (AAE, 2018).

O microambiente pulpar deverá ser mantido o mais próximo possível do microambiente de um canal estéril original, a fim de conferir um meio adequado para que a regeneração do tecido pulpar ocorra (Kim et al., 2018) e desta forma, a desinfeção dos canais radiculares deverá ser feita de forma completa afim de não impedir a cicatrização e integração do tecido pulpar com a dentina radicular dos canais radiculares (Murray et al., 2007). Assim, recorre-se à colocação de medicação intracanal com o intuito de reduzir a carga bacteriana (Cvek et al., 1976)

Uma vez que a pasta triantibiótica não está disponível comercialmente, nem qualquer tipo de protocolo padronizado, cabe ao próprio clínico realizar a sua preparação, dentro da posologia recomendada. O primeiro protocolo clínico recorreu a uma pasta biantibiótica, que apresentava ciprofloxacina e metronidazol (Iwaya et al., 2001). Posteriormente, foi utilizada a pasta triantibiótica com, metronidazol ciprofloxacina e minociclina (Banchs & Trope 2004; Petrino, 2007; Jung et al., 2008; Reynolds et al., 2009; Torabinejad & Turman, 2011; Martin et al., 2013; Becerra et al., 2014). Mais tarde, cefaclor (Thibodeau & Trope 2007; Kim et al., 2012; Bezgin et al., 2014) ou clindamicina (Kahler et al., 2014).

Atualmente, a pasta triantibiótica, também definida como “pasta de Hoshino” (Garcia-Godoy & Murray, 2012), é a medicação mais utilizada para desinfetar os canais radiculares (AAE, 2020).

É assim imperativo que o primeiro passo crítico na endodontia regenerativa passe pela desinfecção adequada do sistema de canais radiculares enquanto se cria um microambiente conducente à sobrevivência, proliferação e diferenciação das células estaminais (Berkhoff et al., 2014). Deverá ser feito um correto diagnóstico através da história médica e dentária completa, independentemente dos antibióticos serem ou não administrados durante o tratamento (Wigler et al., 2013) uma vez que existe a possibilidade de promover resistência bacterianas aos antibióticos ou até mesmo o risco de desencadear reações alérgicas em pacientes sensíveis (Huang, 2008). Por outro lado, existe a hipótese de provocarem reações alérgicas a doentes (Jetty & Sidebottom 2013).

O metronidazol é um composto nitroimidazol que apresenta um amplo espectro de atividade contra protozoários e bactérias anaeróbias obrigatórias (Connor & Jacqueline, 2020). De facto, mais de 99% das bactérias encontradas nas lesões de cárie e na dentina radicular infetada, não tiveram recidiva na presença de 10 microgramas ($\mu\text{m/ml}$) de metronidazol em experiências *in vitro* (Sato et al., 1996). O metronidazol permeia as membranas celulares bacterianas, interage com o ácido desoxirribonucleico (ADN) e desta forma inibe a síntese de proteínas, perturbando a sua estrutura helicoidal, levando à morte celular (Connor & Jacqueline, 2020). Também conhecido pela sua forte atividade antibacteriana contra cocos anaeróbios, assim como bacilos gram-negativos e gram-positivos, tem sido utilizado tanto sistemicamente como topicamente no tratamento da doença periodontal (Windeley et al., 2005). Desta forma, a infeção do sistema de canais radiculares é considerada polimicrobiana, constituída por bactérias aeróbias e anaeróbias (Bergenholtz, 1974) e devido a esta complexidade da infeção no canal radicular, é improvável que um único antibiótico possa resultar na desinfecção eficaz do canal; assim surge a necessidade de adicionar ciprofloxacina e minociclina (Sato et al., 1993).

A ciprofloxacina é uma fluoroquilonona sintética de 2ª geração, bactericida, que atua através da inibição da ADN girase, resultando desta forma na degradação deste por exonucleases. Este fármaco tem atividade muito potente contra gram-negativos, mas limitada contra bactérias gram-positivas (Windeley et al., 2005).

A minociclina, tetraciclina inibidora da síntese proteica, apresenta um amplo espectro de ação contra microrganismo gram-positivos e gram-negativos. É bacteriostática e eficaz contra a maioria das espiroquetas e muitas bactérias anaeróbicas facultativas (Windeley et al., 2005). Esta tetraciclina liga-se aos íons cálcio através de quelação para formar um complexo insolúvel e é incorporada na matriz dentária, causando descoloração (Kim et al., 2010). A redução do tempo de aplicação da PTA poderá prevenir a descoloração associada à presença de minociclina. Estudos experimentais demonstraram que a aplicação de 24 a 48 horas é suficiente para desinfecção eficaz da dentina radicular afetada (Sato et al., 1996; Hoshino et al. 1996). Contudo, não é provável que este período seja suficiente para prevenir a descoloração, uma vez que esta se iniciou após 24 horas de aplicação, segundo estudos *in vitro* (Kim et al., 2010).

Os antibióticos utilizados poderão ser misturados em diversos veículos. Estes são classificados de acordo com as suas características químicas, em hidrossolúveis aquosos (soro fisiológico, água destilada, solução anestésica), hidrossolúveis viscosos (polietileno glicol, propilenoglicol, metil celulose) e não hidrossolúveis oleosos (paramonoclorofenol canforado, óleo de oliva e lipiodol) (Loureiro et al., 2018). O propilenoglicol foi sugerido por Laws em 1962 para uso endodôntico enquanto veículo de medicação intracanal (Srinivas et al., 2016). Trata-se de um líquido estável, incolor, viscoso e inodoro, sendo, de todos os glicóis, o que apresenta toxicidade mais baixa (Bischoff, 2013). Este composto orgânico apresenta capacidades de se difundir através dos túbulos dentinários, dada a sua baixa tensão superficial, ao contrário do soro fisiológico, que devido à alta tensão superficial que apresenta poderá dificultar a penetração da pasta nos túbulos dentinários. Clinicamente o propilenoglicol apresenta forte ação antibacteriana assim como natureza higroscópica e viscosidade, o que resulta na libertação sustentada de íons (Srinivas et al., 2016).

Seguidamente, a pasta triantibiótica deverá ser inserida no canal radicular, com auxílio de um lentulo, aplicador de MTA (*MAP system*) ou com um sistema de agulha (Torabinejad, 2014), abaixo da junção amelocimentária (JAC), para minimizar a descoloração provocada pela minociclina (AAE, 2018). Avanços recentes na medicação intracanal sugerem que deverá ser feita uma aplicação combinada de métodos físicos e químicos, para introdução desta no interior dos canais radiculares (Pal et al., 2019).

Wigler et al., sugerem que a pasta triantibiótica deverá ser colocada no interior do canal radicular através de uma seringa ou de lentulo. Uma vez dentro do canal, a pasta será compactada a uma distância de um milímetro do ápex (Wigler et al., 2013)

Devido à descoloração provocada pela minociclina, houve necessidade de substituí-la por amoxicilina ou cefaclor, conferindo eficiência equivalente à da mistura inicial proposta por Hoshino (Sato et al., 1993). Foi sugerida a aplicação de um *bonding* de forma a selar os túbulos dentinários da câmara pulpar, para evitar o contacto entre a dentina coronária e a pasta triantibiótica (Reynolds et al., 2009). Por outro lado, Shokouhinejad (2017) refere que o selamento dos túbulos dentinários diminui a descoloração coronária, mas não a impede (Shokouhinejad et al., 2018).

Segundo os estudos de Yadlapati et al., concluiu-se que a minociclina apresentava efeito citotóxico nos fibroblastos (Yadlapati et al., 2014) assim como na papila apical e células da polpa dentária (Chuensombat et al. 2013). A AAE, recomenda a utilização da pasta triantibiótica numa concentração não superior a 1mg/mL (0,01-1 mg/mL), de forma reduzir a toxicidade e evitar quaisquer efeitos prejudiciais nas células estaminais da papila apical (Lee, 2019).

Após aplicação da medicação intracanal é recomendado o selamento coronário com 3-4 milímetros de material restaurador coronário provisório (AAE, 2018).

6.4.4. Segunda Consulta

A segunda consulta deverá realizar-se, segundo as recomendações da AAE, 1 a 4 semanas após a primeira consulta. Deverá ser feita uma avaliação dos procedimentos clínicos realizados na primeira consulta e se houver sinais ou sintomas de infeção persistente, deverá propor-se um tempo adicional da pasta triantibiótica ou alterar os antibióticos utilizados inicialmente (AAE, 2018). Segundo a ESE, o recurso à antibioterapia sistémica poderá ser considerada se o paciente apresentar alterações gerais de saúde, como febre ou disfagia (ESE, 2016)

Antes da colocação do isolamento absoluto com dique de borracha, é recomendada a utilização de anestesia sem vasoconstritor, 3% de mepivacaína (AAE, 2018), uma vez que o vasoconstritor iria limitar a hemorragia no interior do canal radicular, passo esse fulcral para o sucesso desta terapia (Miller et al., 2012).

Após removida a restauração temporária, está recomendado o soro fisiológico e o EDTA, uma vez que não se deve recorrer ao NaOCl, dada a suscetibilidade das células estaminais assim como o seu efeito na adesão às paredes do canal radicular após a hemorragia (Law, 2013). Como tal, opta-se pela irrigação final com EDTA a 17% (20 mL, 5min), utilizando uma agulha com saída lateral a 2 milímetros acima do tecido vital e posteriormente com 5 mL de soro fisiológico estéril com o objetivo de reduzir os efeitos adversos dos irrigantes nas células (ESE, 2016) e a inibição do coágulo (Lee, 2019; Taweewattanapaisan et al., 2019). O EDTA é fundamental para a libertação de fatores de crescimento da dentina, o que, por sua vez, ajudará as células estaminais da papila apical a diferenciarem-se (Lee, 2019).

Após a irrigação final, o canal radicular deverá ser seco com cones de papel estéreis e posteriormente recomenda-se a sobre-instrumentação do canal radicular com laceração dos tecidos apicais a fim de conseguir a hemorragia apical. Para tal, utiliza-se uma lima K pré-curvada ou uma sonda endodôntica exploratória, a pelo menos 2 milímetros para além do forame apical. A hemorragia deverá ficar ao nível da JAC e posteriormente controla-se a sua extensão até no máximo 3-4 milímetros da JAC (AAE, 2018) com auxílio de algodão embebido em soro fisiológico, mantido cerca de 15 minutos, até se conseguir a formação e estabilização do coágulo (Banchs & Trope, 2004).

Uma alternativa à criação do coágulo sanguíneo é a utilização de PRP, PRF ou matriz de fibrina autóloga (AAE, 2018). O PRP tem sido eleito a *scaffold* ideal na terapia endodôntica regenerativa, devido à sua elevada concentração de fatores de crescimento (Torabinejad & Turman, 2011) mas, por outro lado, requer manipulação bioquímica do sangue, ao contrário do PRF, sendo desta forma fácil de preparar e consequentemente eleito o material ideal neste tipo de terapia (Shivashankar et al., 2012). Contudo, o PRP e PRF poderão apresentar resistência por parte dos clínicos, uma vez que requerem a colheita de sangue venoso do braço do paciente no momento do tratamento,

acrescentando desta forma complexidade e custos adicionais, ao ato clínico (Dhurat & Sukesh, 2014).

Uma vez conseguida a estabilização do coágulo sanguíneo é necessário colocar um material selador sobre o mesmo. A primeira opção é a aplicação 3-4 milímetros de MTA branco, mas este tem sido associado a descoloração dentária, pela presença do óxido de bismuto (Wigler et al., 2013) e como tal a AAE (2018) recomenda a sua substituição por outro biocerâmico ou cimento de silicato de tricálcio, quando a estética for comprometida (AAE, 2018). Desta forma, num tentativa de retificar estas propriedades desfavoráveis, surgiram novos materiais à base de silicato de cálcio, como a Biodentine™ (Septodont, Saint-Maur-des-Fossés, France). Este material é um substituto da dentina constituído por um pó formado pela junção de silicato tricálcico com óxido de zircónio mais carbonato de cálcio e, por um líquido constituído por cloreto de cálcio, que acelera a reação de presa (Aggarwal et al., 2012). As suas vantagens em relação ao MTA centram-se no tempo de presa mais curto e maior resistência à compressão, semelhante ao da dentina (Camilleri et al., 2013).

Por último, recomenda-se a aplicação de ionómero de vidro fotopolimerizável ou cimento de hidróxido de cálcio (ESE, 2016). Sobre este material selante pulpar deve passar-se de forma ligeira, com uma broca diamantada ou com jato de óxido de alumínio nas paredes da cavidade (ESE, 2016) e por fim aderir a restauração adesiva final (AAE, 2018).

6.4.5. *Follow-up*

O paciente deverá ser avaliado clínica e radiograficamente após 6, 12, 18 e 24 meses, depois disso anualmente, durante 5 anos. É recomendado o acompanhamento de 3 em 3 meses em casos de infeções prolongadas, difícil eliminação dos sinais de inflamação, presença de reabsorção radicular inflamatória ou quando for necessário considerar um tratamento alternativo (ESE, 2016)

Segundo a AAE, o sucesso da endodontia regenerativa define-se em três objetivos (AAE, 2018):

- Objetivo principal (essencial): Eliminação da sintomatologia e evidência de regeneração óssea;
- Objetivo secundário (desejável): Aumento da espessura da dentina radicular e/ou do comprimento da raiz;
- Objetivo terciário: Resposta positiva aos testes de vitalidade (que se alcançados poderiam indicar tecido pulpar vital mais organizado).

Uma vez que o objetivo primário resume-se à eliminação da sintomatologia e evidência de regeneração óssea, como visto acima (AAE, 2018), a reparação apesar de não ser o ideal não é considerado um fracasso da terapia endodôntica regenerativa (Lin & Rosenberg, 2011; Simon et al., 2014)

De acordo com a ESE, os critérios de sucesso da endodontia regenerativa são (ESE, 2016):

- Ausência de dor;
- Ausência de sinais e sintomas de inflamação;
- Resolução da lesão periapical pré-existente;
- Aumento da espessura e comprimento radicular;
- Ausência de reabsorção radicular externa;
- Resposta positiva aos testes de vitalidade pulpar;
- Consentimento informado aceite;
- Não haver alterações de cor inaceitáveis
- Evidência radiográfica de um novo ligamento periodontal.

Relativamente às taxas de sucesso e insucesso, podem ser atribuídas a vários motivos, como, ausência de técnica padronizada; desinfecção inadequada; conhecimento insuficiente sobre as CEPA e matrizes utilizadas (Lee, 2019).

6.4.6. Contraindicações

Segundo a ESE, são contraindicações para este tratamento casos de: Trauma por avulsão dentária imediatamente após o reimplante, uma vez que a revitalização poderá ocorrer naturalmente se o dente for replantado dentro de 5 minutos; casos de impossibilidade de um correto isolamento absoluto; dentes com extensa perda de tecido coronário que requerem reabilitação com recurso a espigão intracanal, que ocupará o espaço exigido para a formação do coágulo sanguíneo (ESE, 2016).

Devido à falta de evidência clínica, não se deverá recomendar estes procedimentos a pacientes com casos de trauma por luxação e quando medicamente comprometidos, isto é, quando apresentem sistema de classificação do estado físico ASA II e superior. O indicado será recorrer ao tratamento convencional (ESE, 2016).

O PER também está contraindicado na dentição decídua, dado o risco de afetar a correcta erupção da dentição permanente (Garcia-Godoy & Murray, 2012).

II. OBJETIVOS DO ESTUDO

1. Questionário *online*

Com o questionário *online* pretende-se perceber as seguintes questões: qual a percentagem de profissionais que recorrem à opção terapêutica revascularização na sua prática clínica e quais os critérios que seguem, aferir se utilizam pasta triantibiótica ou outro tipo de medicação intracanal, quais os antibióticos utilizados na confeção da pasta triantibiótica, quando utilizada, qual o seu método de manipulação, de confeção e qual o método de aplicação da mesma, através de um inquérito por questionário *online* direcionado a Médicos Estomatologistas e Médicos Dentistas, associados da Sociedade Portuguesa de Estomatologia e de Medicina Dentária (SPEMD).

2. Estudo experimental

Na componente experimental intenciona-se comparar a extensão do preenchimento dos canais radiculares, presença de poros e a densidade média relativa através de diferentes métodos de preparação e meios de aplicação da pasta triantibiótica. Recorrer-se-á assim a um estudo *in vitro* com uma amostra de 60 dentes (incisivos centrais e laterais superiores), com ápexes completos, sem qualquer restauração, lesão de cárie ou tratamento endodôntico, extraídos por motivos periodontais ou ortodônticos.

III. HIPÓTESE DE ESTUDO

Foram consideradas duas hipóteses de estudo para o objetivo principal mencionado:

- Hipótese nula (H0): o método de preparação e colocação da pasta triantibiótica não influencia a extensão do preenchimento dos canais radiculares, presença de poros e a densidade média relativa.
- Hipótese alternativa (H1): o método de preparação e colocação da pasta triantibiótica influencia a extensão do preenchimento dos canais radiculares, presença de poros e a densidade média relativa.

IV. MATERIAIS E MÉTODOS

1. Questionário *online*

Foi realizado um inquérito por questionário, através da ferramenta *Google forms* direcionado aos associados da Sociedade Portuguesa de Estomatologia e de Medicina Dentária (SPEMD), em específico aos Médicos Dentistas e Médicos Estomatologistas, o qual teve como principal objetivo avaliar a prática de utilização da pasta triantibiótica na área de intervenção de Endodontia. Neste sentido, foi solicitada a colaboração desta Sociedade, por forma a que remetesse o inquérito em questão, apenas aos sócios já formados.

A população abrangida pelo questionário acima referido é constituída por 2.841 associados, dos quais 1.049 não apresentavam qualquer endereço eletrónico na ficha de associado (99 Estomatologistas, 517 Médicos Dentistas e 433 não definidos). Assim, considerando que o presente inquérito foi realizado com recurso a uma plataforma *online*, apenas 1.792 foram enviados com sucesso, significando assim que apenas 1.792 indivíduos receberam o questionário, dos quais 110 são Médicos Estomatologistas, 1.552 são Médicos Dentistas e 130 não apresentavam informação referente à sua especialidade, podendo estes ser, quer médicos estomatologistas, quer médicos dentistas.

1.1. Critérios de inclusão

Neste inquérito, incluíram-se:

- Médicos Dentistas e Médicos Estomatologistas associados da Sociedade Portuguesa de Estomatologia e Medicina Dentária (SPEMD).

1.2. Critérios de exclusão

Excluíram-se:

- Estudantes associados;
- Sócios da SPEMD que não apresentavam endereço eletrónico na base de dados.

1.3. Construção do questionário online

A crescente utilização da *Internet* leva a que os questionários *online* sejam cada vez mais comuns, podendo desta forma tornar-se num dos métodos mais utilizados em investigação, dadas as inúmeras vantagens que apresentam, nomeadamente, serem menos dispendiosos, de rápida disseminação e resposta, bem como facilidade em preservar o anonimato. Por outro lado, este instrumento de recolha de dados apresenta algumas desvantagens, desde logo o facto de alguns indivíduos de uma dada população que se pretende estudar não terem acesso e facilidade na utilização de um computador e de meios informáticos, bem como a possibilidade de existirem respostas repetidas, deliberadamente ou por erro (Hunter, 2012).

Os inquéritos por questionário permitem organizar, normalizar e controlar os dados de forma a que as informações recolhidas sejam o mais rigorosas possível (Fortin, 1996). A utilização de palavras de fácil compreensão e precisão é importante, por forma a não suscitar ao inquirido confusão e controvérsia durante a resposta ao questionário, resultando assim num aumento da validade interna deste instrumento de recolha de dados (Mattheos et al., 2012).

De acordo com Oatts (2012), a realização de um pré teste do instrumento de recolha de dados usado, poderá de certa forma aumentar a sua validade interna. A validade interna refere-se à relação causa-efeito que se estabelece entre as diferentes variáveis de um estudo. Quanto maior for a validade interna da pesquisa desenvolvida, mais robustas serão as conclusões do estudo, permitindo argumentar com maiores certezas de que uma certa relação é de facto causal (Sekaran, 2000).

Neste sentido, foi realizado um pré teste do questionário, tendo o mesmo sido enviado numa fase preliminar para cerca de 15 pessoas, por forma a melhorar a linguagem utilizada, tornar as questões o menos ambíguas possível, aferir qual o grau de interesse e dificuldade das questões, bem como a extensão do mesmo. Com efeito, algumas das questões, bem como a estruturação do questionário, foram levemente alteradas por forma a aumentar a validade interna do instrumento de recolha de dados utilizado, e ainda fazer com que o seu tempo de preenchimento fosse reduzido.

Após obtenção da versão final e aprovação da SPEMD, este foi enviado para os indivíduos de interesse.

Tal como se poderá constatar através da figura abaixo (Figura 7), o âmbito e objetivos da investigação foram devidamente enunciados, bem como a Instituição de Insino onde decorreu, o nome do aluno, orientador e coorientador, e a duração aproximada de resposta do inquérito.

O questionário apresentava um sistema de respostas de escolha múltipla com uma ou várias opções, dependendo da questão, bem como questões com resposta livre.

Revascularização: Influência do Método de Preparação e de Aplicação da Pasta Triantibiótica na Densidade do Preenchimento Canal

No âmbito da Unidade Curricular Orientação Tutorial de Projeto Final do curso de Mestrado Integrado em Medicina Dentária do Instituto Universitário Egas Moniz, foi elaborado este questionário integrante do Projeto Final de Dissertação, intitulado "Revascularização: Influência do Método de Preparação e de Aplicação da Pasta Triantibiótica na Densidade do Preenchimento Canal", elaborado por Tiago Miguel Bernarda Cascão, sob orientação da Prof. Doutora Ana Cristina Mano Azul, e Coorientação do Mestre Mário Rito Pereira.

Este questionário visa analisar a prática de utilização da pasta triantibiótica pelos médicos dentistas / estomatologistas na área de intervenção da Endodontia.

Solicitamos a sua participação neste estudo de forma voluntária.

A informação recolhida destina-se unicamente a tratamento estatístico e/ou publicação e será tratada pelo(s) orientador(es) e/ou pelos seus mandatados. A sua recolha é anónima e confidencial.

O preenchimento do questionário demora cerca de 5 minutos.

Agradecemos a sua participação.

***Obrigatório**

Figura 7 - Cabeçalho do inquérito

1.4. Recolha de dados

A distribuição do questionário foi efetuada através do envio de um *e-mail*, por parte da SPEMD aos seus sócios, Médicos Dentistas e Médicos Estomatologistas, contendo um breve texto introdutório acerca da investigação, por forma a realizar um enquadramento do tema e dos respetivos objetivos. Adicionalmente, os inquiridos foram ainda informados de que a participação neste estudo seria voluntária, anónima e confidencial. No seguimento desta informação, foi disponibilizado o *link* de acesso ao questionário *online*, realizado através da Plataforma *Google Forms*.

O questionário foi enviado a 25 de abril de 2020, tendo permanecido disponível para resposta até ao dia 25 de maio de 2020.

1.5. Considerações éticas

Quer o estudo, quer o inquérito foram submetidos para aprovação pela Comissão de Ética do Instituto Universitário Egas Moniz (Anexo 1). No entanto, como se trata de um questionário *online*, o Consentimento Informado foi transmitido ao inquirido através do texto introdutório presente no cabeçalho (Figura 7).

Como tal, o consentimento do participante foi obtido a partir da realização do questionário. Foram ainda prestados os devidos esclarecimentos quanto à utilização a conferir aos dados recolhidos, assegurando-se sempre o anonimato e confidencialidade de cada resposta.

1.6. Análise estatística

Os dados recolhidos foram tratados com recurso à ferramenta Microsoft Excel 2020 Versão 16.36.

A análise estatística foi efetuada com recurso ao *software SPSS (Statistical Package for the Social Sciences)* (SPSS25.0).

2. Estudo experimental

Adicionalmente, foi realizado um estudo *in-vitro*, na Clínica Universitária Egas Moniz, tendo sido selecionados 60 dentes naturais monoradiculares (n=60) (incisivos centrais e laterais superiores), com ápexes completos, sem qualquer restauração, lesão de cárie ou tratamento endodôntico, extraídos por motivos periodontais ou ortodônticos.

2.1. Critérios de inclusão

Neste estudo, incluíram-se:

- Incisivos centrais ou laterais superiores com, ápexes completos, raízes retas, ângulo menor ou igual a 5°, segundo a Classificação de Schneider, 1971, monoradiculares, sem qualquer restauração, lesão de cárie, reabsorções ou tratamento endodôntico, extraídos por motivos periodontais ou ortodônticos.

Neste estudo, excluíram-se:

- Dentes que não fossem incisivos centrais ou laterais superiores;
- Incisivos centrais ou laterais superiores com ápex imaturos ou reabsorções, raízes curvas, com restaurações, lesão de cárie e extraídos por motivos que não fossem periodontais ou ortodônticos.

2.2. Preparação da pasta triantibiótica

A pasta triantibiótica foi preparada no dia da experiência, imediatamente antes da sua utilização, com base na mistura dos três antibióticos, metronidazol 250mg (lote: 3149), ciprofloxacina 250mg (lote: L1816171), minociclina 100mg (lote: 18002T), reduzidos sob a forma de pó com o auxílio de um almofariz e pilão, na mesma proporção (1:1:1), tendo, posteriormente, sido adicionado soro fisiológico ou propilenoglicol, de acordo com o grupo formado, até se obter uma consistência cremosa (Hoshino et al., 1996).

Visto que os medicamentos não apresentam a mesma dosagem, foi necessário utilizar vários comprimidos para obter a mesma proporção de antibiótico. Assim, foram utilizados:

- 5 comprimidos de minociclina 100mg para obter 500mg;
- 2 comprimidos de metronidazol 250 mg para obter 500mg;
- 2 comprimidos de ciprofloxacina 250mg para obter 500mg.

Estes medicamentos apresentam como desvantagem a impossibilidade de serem visualizados radiograficamente e desta forma apresentarem um desafio clínico. A adição da componentes radiopacos, como bário, zircônio e bismuto, conferem radiopacidade, ajudando desta forma a visualizar radiograficamente o sistema de canais (Verma et al., 2018). Neste estudo foi estabelecido um rácio de 1:8 entre sulfato de bário de ($BaSO_4$) e antibióticos (1:8) (Orucoglu & Cobankara, 2008).

2.3. Protocolo experimental

Após a extração dentária, removeram-se os tecidos moles aderidos aos dentes, tendo posteriormente, sido armazenados em cloramina tri-hidratada a 1% para desinfecção durante um período máximo de uma semana. Após este período, foram armazenados em água destilada, a 4° C, substituída a cada duas semanas evitando-se, dessa forma, a sua contaminação até ao início do período experimental. Todos os procedimentos mencionados foram executados de acordo com a norma ISO/TS 11405:2015. Posteriormente foi feita a confirmação da presença de apenas um canal nos dentes da amostra através de radiografias com a técnica de paralelismo e bissetriz. A ampola do raio-x foi posicionada a um centímetro de cada dente, de forma a garantir que todas as radiografias fossem realizadas na mesma posição e com o mesmo tempo de exposição.

Por forma a dar início à aplicação dos diferentes protocolos, os dentes foram divididos em 5 grupos distintos. O primeiro passo consistiu em estabelecer um comprimento padronizado para todos os dentes da amostra, desde o ápex radicular, de onze milímetros, com ponto de corte na coroa dentária. De seguida, foi realizada a calibração canalal com uma broca *Peeso* nº 3 (1,1 milímetros de diâmetro) a toda a amostra, de forma a simular o ápex imaturo. Posteriormente, foi determinado o comprimento de trabalho

radiograficamente com uma lima 10 K. Seguidamente, cada espécime foi colocada num bloco de cera rosa e foi efetuada a irrigação com hipoclorito de sódio (NaOCl) a 1,5% (20mL, 5 minutos) com uma agulha de saída lateral 27 Gauge (G) bem como a irrigação com EDTA 17% (20mL, 5 min), colocada a 1 mm do ápex. Após a irrigação, o canal foi seco com cones de papel (Dentsply Maillefer). Por fim, aplicou-se a pasta triantibiótica previamente preparada e de acordo com os grupos formados.

No Grupo 1 (n=12) foi aplicada como medicação intracanal uma mistura de pasta triantibiótica de metronidazol, ciprofloxacina e minociclina (1:1:1) com soro fisiológico (CE01AD). A introdução da pasta foi realizada com uma agulha de 20G de 25 milímetros (28190638E) desde o comprimento de trabalho até à porção mais cervical do canal radicular.

No Grupo 2 (n=12) foi aplicada como medicação intracanal uma mistura de pasta triantibiótica de metronidazol, ciprofloxacina e minociclina (1:1:1) com soro fisiológico (CE01AD). A introdução da pasta foi realizada com uma agulha de 20G de 25 milímetros (28190638E) e lentulo (No. 4, Maillefer Instruments SA, Ballaigues, Suíça), desde o comprimento de trabalho até à porção mais cervical do canal radicular.

No Grupo 3 (n=12) foi aplicada como medicação intracanal uma mistura de pasta triantibiótica de metronidazol, ciprofloxacina e minociclina (1:1:1) com propilenoglicol. A introdução da pasta foi realizada com uma agulha de 20G de 25 milímetros (28190638E) desde o comprimento de trabalho até à porção mais cervical do canal radicular.

No Grupo 4 (n=12) foi aplicada como medicação intracanal uma mistura de pasta triantibiótica de metronidazol, ciprofloxacina e minociclina (1:1:1) com propilenoglicol. A introdução da pasta foi realizada com uma agulha de 20G de 25 milímetros (28190638E) e lentulo (No. 4, Maillefer Instruments SA, Ballaigues, Suíça) desde o comprimento de trabalho até à porção mais cervical do canal radicular.

No Grupo 5 (n=12) foi aplicada como medicação intracanal uma mistura de pasta triantibiótica de metronidazol, ciprofloxacina e minociclina (1:1:1) com soro fisiológico

(CE01AD). A introdução da pasta foi realizada com aplicador de MTA e condensador vertical, desde o comprimento de trabalho até à porção mais cervical do canal radicular.

Após a colocação da pasta foram realizadas radiografias digitais a cada amostra.

2.4. Análise radiográfica

As radiografias foram efetuadas com recurso à técnica de paralelismo e bisettriz, para melhor reproduzir a colocação do sensor radiográfico. As radiografias digitais diretas foram gravadas e arquivadas em computador em formato *jpeg*, com *software* de imagem Sidexis XQ 2010 (Versão 2.52, Sirona Dental Systems, registo nº 696806409) presente na clínica. Posto isto, as radiografias foram observadas individualmente.

Antes da utilização da amostra experimental foi feita uma calibração na interpretação da análise radiográfica com um docente clínico experiente na área de intervenção da Endodontia.

A análise radiográfica comparativa teve por base a avaliação dos seguintes parâmetros:

- 1- Extensão do preenchimento canalar;
- 2- Presença ou ausência de poros;
- 3- Densidade relativa do preenchimento canalar.

A avaliação do grau de preenchimento do canal do dente com a pasta triantibiótica foi realizada de acordo com os critérios utilizados por Rivera e Willams (Rivera & Williams, 1994): A qualidade do preenchimento do canal foi avaliada de acordo com 2 critérios: (1) distância do comprimento de trabalho e (2) totalidade do preenchimento nos terços apical, médio e cervical. O preenchimento foi classificado de acordo com o comprimento de trabalho e pontuado da seguinte forma:

- 1- No ápex;
- 2- 1 a 2 mm acima do ápex;
- 3- Mais de 2 mm acima do ápex.

O preenchimento completo de cada terço do canal foi pontuado da seguinte forma:

- 1- Sem poros;
- 2- Menos de um quarto do terço radicular com poros;
- 3- Um quarto a um meio do terço radicular com poros;
- 4- Mais de um meio do terço radicular com poros.

A densidade relativa foi avaliada através da análise histográfica, de acordo com a intensidade média do nível de cinza do preenchimento canal, de cada terço (cervical, médio e apical) da raiz, com recurso ao *software* de imagem Sidexis XQ, através da função “*Medir o perfil de densidade*”.

2.5. Análise estatística

Foi aplicado o teste de análise de variância Kruskal-Wallis, para um nível de significância de 5%, por forma a determinar as diferenças estatísticas entre os 5 grupos, no que respeita ao comprimento e à totalidade do preenchimento do canal. O teste em causa visa determinar se existem diferenças estatisticamente significativas entre as medianas de diversos grupos independentes.

V – RESULTADOS

1. Questionário online

O inquérito por questionário realizado foi remetido a um total de 1.792 sócios da SPEMD, tendo sido obtido um número total de 95 respostas, representado desta forma uma taxa de resposta de 5,30%. Por outro lado, considerando que um dos respondentes não concluiu o questionário, as suas respostas foram excluídas para efeitos da presente análise.

No que respeita à caracterização sociodemográfica dos respondentes, foi possível determinar que a maioria dos respondentes são do género feminino (56%), correspondendo a 53 indivíduos, e os remanescentes 42 indivíduos correspondem ao género masculino, representando desta forma 44% da totalidade dos respondentes (Gráfico 1). O intervalo de idades predominante diz respeito aos 22-35 anos, representando 45,8% dos respondentes (44 indivíduos), sendo ainda e realçar que 74,7% dos inquiridos apresentam uma idade inferior a 45 anos (Gráfico 2).

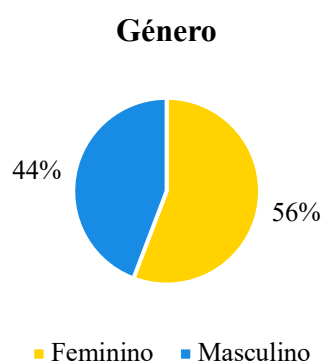


Gráfico 1 - Idade dos Inquiridos

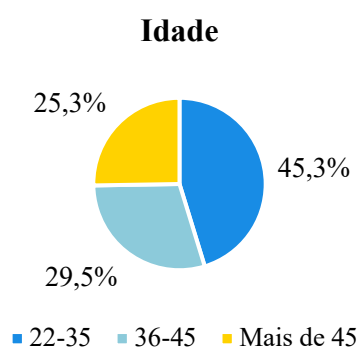


Gráfico 2 - Género dos Inquiridos

Por forma a determinar a experiência dos inquiridos, foi recolhida informação acerca dos anos de experiência de prática clínica, bem como do grau de formação em Endodontia (Gráfico 3 e 4, respetivamente).

N.º de anos de experiência de prática clínica

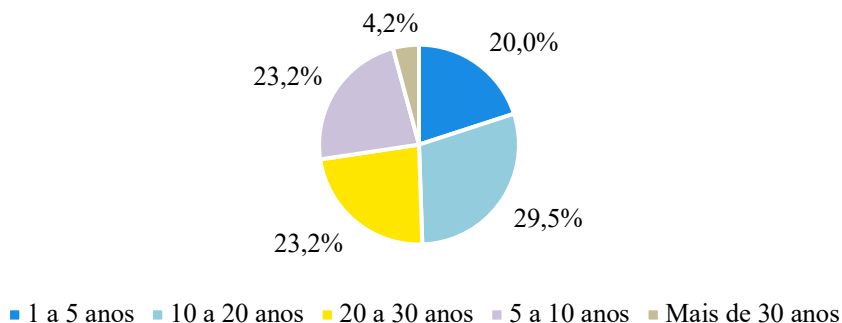


Gráfico 3 - N.º de anos de prática clínica

Formação em Endodontia

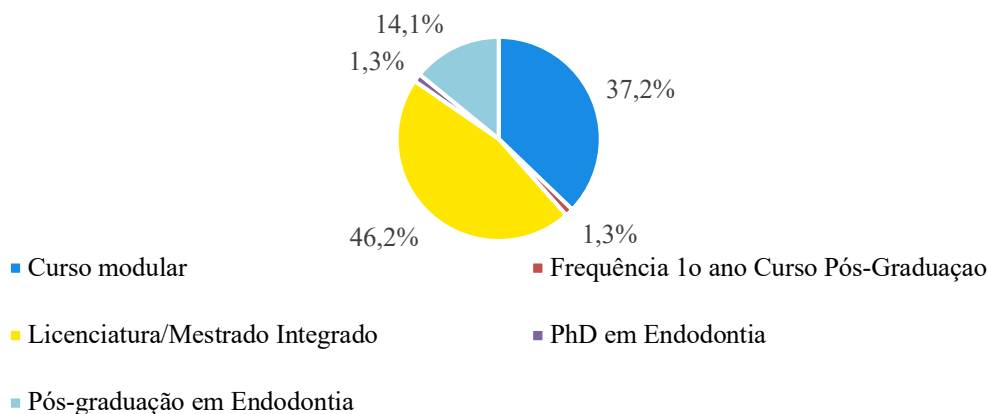


Gráfico 4 - Formação em Endodontia

Neste sentido, foi possível constatar que o número de anos de experiência de prática clínica dos inquiridos na área de Endodontia se distribuiu de forma equitativa entre os diferentes intervalos considerados, pelo que, 20% dos inquiridos apresentam entre 1 a 5 anos de experiência, 23,2% dos inquiridos possuem entre 5 a 10 anos de experiência, 29,5% possuem entre 10 a 20 anos de experiência, 23,2% apresentam entre 20 a 30 anos de experiência, e por fim, apenas 4,2% têm mais do que 30 anos de experiência nesta área. Desta forma, é possível concluir que cerca de 50% dos inquiridos apresentam menos de 20 anos de experiência nesta área.

No que diz respeito ao grau de formação em Endodontia (Gráfico 4), foi possível constatar que grande parte dos inquiridos possuem o grau académico de Licenciatura/Mestrado Integrado, correspondendo a 46,2% da amostragem. No entanto, 52,6% dos restantes respondentes continuaram a sua formação após conclusão do licenciatura/mestrado integrado, isto é, 37,2% dos indivíduos realizaram um curso modular e 15,4% possuem uma Pós-graduação em Endodontia, sendo que um dos respondentes (1,3%) encontra-se a frequentar o referido curso. Por último, apenas 1,3% dos inquiridos possui Doutoramento na área de Endodontia.

Relativamente à percentagem de tempo clínico dedicado à Endodontia (Gráfico 5), 17,9% dos inquiridos (17 indivíduos) não realiza qualquer prática de Endodontia. Neste sentido, foi solicitado aos respondentes que escolhessem a opção “Não” na questão 5, que passassem diretamente para a questão 7. Por outro lado, foi ainda possível constatar que 48,4% dos respondentes apresentam entre 20-40% de prática em Endodontia, 18,9% dos indivíduos 40-60%, 8,4% indicavam 60-80% e, por último, 6,3% pratica exclusivamente Endodontia.

Percentagem de tempo clínico dedicado à Endodontia

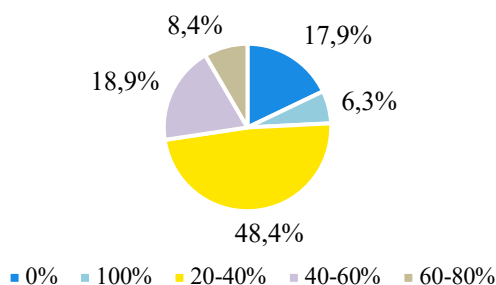


Gráfico 5 - Percentagem de tempo dedicado à Endodontia

No que respeita à recorrência de terapêutica de revascularização na prática clínica (Gráfico 6), foi possível constatar que apenas 35 dos inquiridos recorrem a esta técnica (44,9%), sendo que os restantes 43 não o fazem, querendo isto dizer que dos 95 respondentes, 17 não exercem Endodontia na sua prática clínica. Importa ainda referir que 7 dos respondentes indicaram a resposta “Não” à questão 6 do questionário, tendo, em seguida, respondido às restantes questões. Contudo, considerando que a resposta “Não” à questão referida, implicava que o respondente passasse diretamente para a última

questão, foram excluídas para efeitos da presente análise, as respostas atribuídas às questões 6.1. a 6.4. dadas pelos respondentes acima mencionados.

Recorrência da terapêutica de revascularização na prática clínica

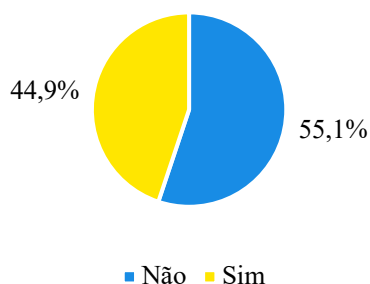


Gráfico 6 - Recorrência da terapêutica de revascularização

No que concerne a medicação intracanal utilizada (Gráfico 7), 48,6% dos respondentes afirmam recorrer à pasta triantibiótica, enquanto que 42,9% indicam recorrer à utilização do hidróxido de cálcio. Por fim, apenas 7,1% dos inquiridos utilizam a pasta biantibiótica.

Medicação intracanal utilizada na terapêutica de revascularização

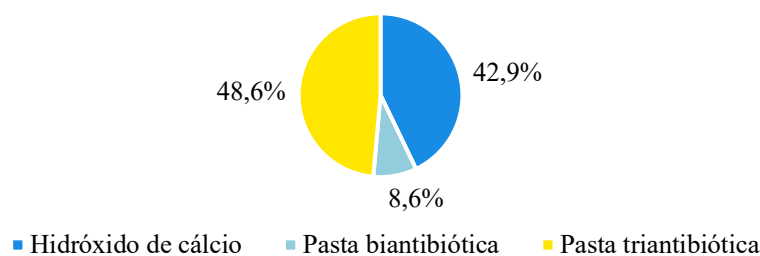


Gráfico 7 - Medicação intracanal utilizada na terapêutica de revascularização

No que concerne à utilização de antibióticos (Gráfico 8), quer a ciprofloxacina, quer a metronidazol, são representativos, assumindo pesos de 90% e 83,3%, respetivamente. A minociclina apresenta 40% das respostas, enquanto que o cefaclor representa 23,3%. Por outro lado, a amoxicilina é usada em 20% dos casos. Quanto às combinações mais utilizadas para confeção da pasta triantibiótica, constatou-se que a que representa maior peso é a combinação de ciprofloxacina, metronidazol, minociclina, sendo utilizada em

precisamente 1/3 dos casos. Adicionalmente, 16,7% dos inquiridos recorre à combinação de ciprofloxacina, metronidazol, cefaclor. Por fim, importa ainda referir que cerca de 13,3% inquiridos recorre ao uso de apenas dois antibióticos, ciprofloxacina e metronidazol.

Antibióticos utilizados para confeção da pasta triantibiótica

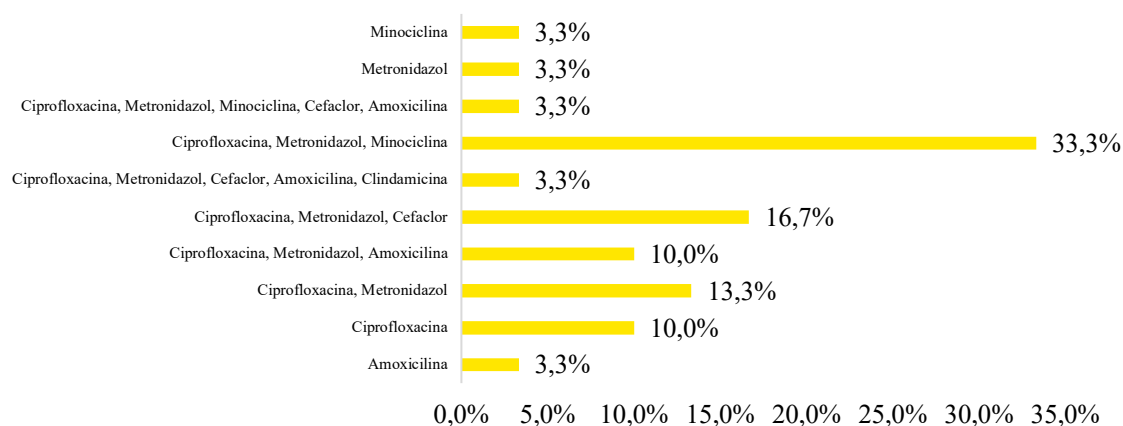


Gráfico 8 - Antibióticos utilizados na pasta triantibiótica

No que respeita aos veículos adicionados aos antibióticos no momento anterior à sua aplicação, é possível constatar através do gráfico que se segue, que a maioria dos inquiridos opta pela utilização de soro fisiológico na confeção da pasta antibiótica, representando desta forma 80% da amostra (24 indivíduos). Por outro lado, apenas 13,3% dos indivíduos recorrem ao propilenoglicol como veículo (Gráfico 9).

Veículos adicionados aos antibióticos no momento anterior à sua aplicação

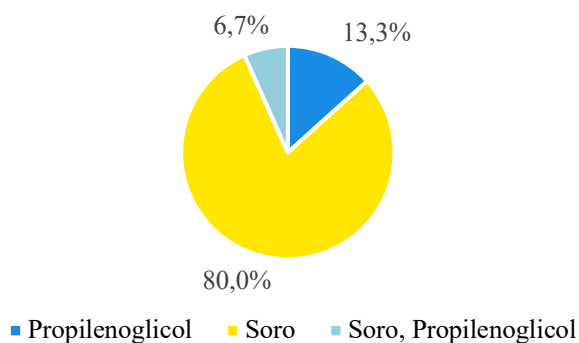


Gráfico 9 - Veículo adotado na confeção da pasta triantibiótica

Já no que respeita ao modo de aplicação da pasta triantibiótica, como se pode observar no Gráfico 10, 40% refere recorrer a seringa + agulha, enquanto que 36,7% diz utilizar lentulo e por fim 23,3% recorrem ao aplicador de MTA.

Modo de aplicação da pasta triantibiótica no canal radicular

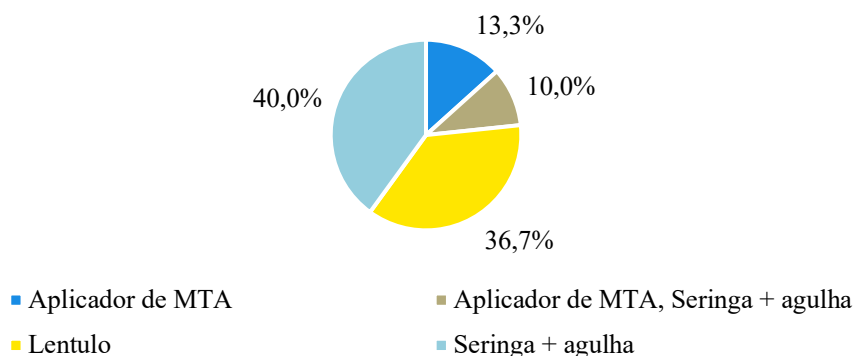


Gráfico 10 - Modo de inserção da pasta triantibiótica no interior dos canais radiculares

Por fim, no que concerne o tipo de opção terapêutica em caso de dentes com necrose e ápex imaturo (Gráfico 11), cerca de 52,6% recorrem ao método de apexificação. Por outro lado, 23,1% dos inquiridos recorre à técnica de revascularização, sendo desta forma a segunda técnica mais utilizada. Por fim, cerca de 20,5% indicaram que nestas circunstâncias procedem ao reencaminhamento do paciente. Foi ainda possível constatar que as técnicas de obturação com MTA e revitalização pela classificação de ESE ou, REPs, de acordo com a classificação da AAE são bastante residuais, representando apenas 3,8% dos inquiridos.

Tipo de opção terapêutica em caso de dentes com necrose e ápex imaturo

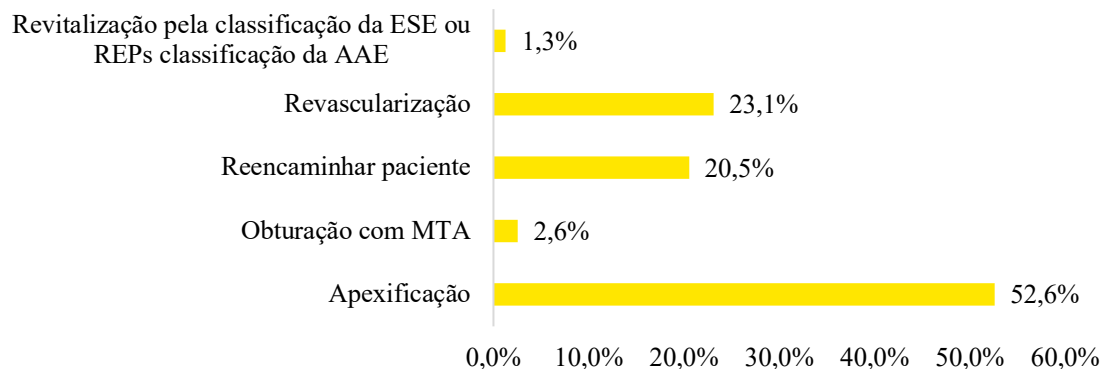


Gráfico 11 - Opções terapêuticas tomadas em dentes com necrose com ápex imaturo

2. Estudo experimental *in vitro*

2.1 Análise da extensão do preenchimento canalar

De acordo com os testes de Kruskal-Wallis conclui-se que não existem quaisquer diferenças estatisticamente significativas. Com efeito, assumindo um nível de confiança de 95%, e consequentemente um valor *alpha* (α) de 0,05, a hipótese nula apenas poderá ser rejeitada caso se verifique que a estatística de teste é inferior a esse valor. Neste sentido, o resultado obtido para a estatística de teste (valor de p) assumiu os valores de $p=0,076$ para o preenchimento total (Tabela 2). De uma forma geral, o preenchimento do canal radicular nos Grupos 1 e 3 obteve resultados próximos do protocolo da terapêutica de revascularização mencionado anteriormente (1 a 2 mm acima do ápex) (Figura 8).

Tabela 1 – Pontuação atribuída de acordo com a extensão do preenchimento canalar

	GRUPO 1	GRUPO 2	GRUPO 3	GRUPO 4	GRUPO 5
Espécime 1	2	2	2	1	1
Espécime 2	1	3	1	1	3
Espécime 3	1	3	1	1	1
Espécime 4	2	3	1	1	1
Espécime 5	2	1	1	1	3
Espécime 6	1	2	2	1	3
Espécime 7	1	1	1	1	3
Espécime 8	1	1	1	1	2
Espécime 9	1	1	2	2	1
Espécime 10	2	1	2	1	2
Espécime 11	3	1	2	1	1
Espécime 12	1	2	2	1	2

Tabela 2 - Valor crítico (H) de teste de Kruskal- Wallis - Extensão do preenchimento canalar

	Preenchimento total
H de Kruskal-Wallis	8,473
Graus de liberdade (gl)	4
Significância (Sig.)	0,076

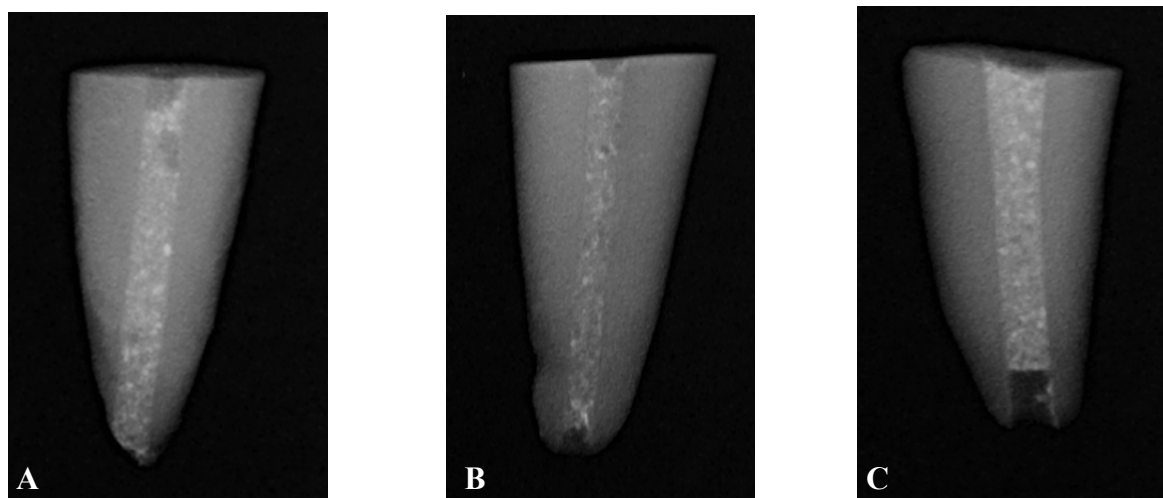


Figura 8 - Análise do preenchimento radiográfico, considerando os poros detetáveis e o limite apical. A: No ápex; B: 1 a 2 mm acima do ápex; C: Mais de 2 mm acima do ápex.

2.2 Análise da presença de poros

No que diz respeito ao preenchimento completo de cada terço, os resultados obtidos no teste de Kruskal-Wallis para a estatística de teste (valor de p) assumiram os valores de $p=0,084$, $p=0,176$ e $p=0,906$, para o preenchimento do terço cervical, médio e apical, respetivamente (Tabela 8). Desta forma conclui-se não existirem diferenças estatisticamente significativas entre os grupos definidos, no que concerne o preenchimento completo de cada terço.

Nota: E – Espécime

Tabela 3 - Pontuação atribuída de acordo com a presença de poros, por terço radicular – Grupo 1

	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11	E12
1/3 Cervical	2	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1
1/3 Médio	2	2	1	2	1	1	2	2	2	1	1	2
1/3 Apical	1	4	1	2	1	1	1	1	2	1	1	2

Tabela 4 - Pontuação atribuída de acordo com a presença de poros, por terço radicular – Grupo 2

	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11	E12
1/3 Cervical	1	1	2	1	2	1	2	2	1	1	1	1
1/3 Médio	1	2	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1
1/3 Apical	2	2	1	1	2	1	1	1	2	2	1	2

Tabela 5 - Pontuação atribuída de acordo com a presença de poros, por terço radicular – Grupo 3

	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11	E12
1/3 Cervical	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1/3 Médio	1	1	2	2	1	2	1	1	1	1	1	1
1/3 Apical	1	2	2	1	1	1	1	2	2	1	1	1

Tabela 6 - Pontuação atribuída de acordo com a presença de poros, por terço radicular – Grupo 4

	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11	E12
1/3 Cervical	1	1	1	2	1	1	1	2	1	1	1	1
1/3 Médio	1	1	1	3	1	1	1	1	1	1	1	1
1/3 Apical	1	2	2	2	1	1	2	1	1	1	2	2

Tabela 7 - Pontuação atribuída de acordo com a presença de poros, por terço radicular – Grupo 5

	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11	E12
1/3 Cervical	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1/3 Médio	1	2	1	1	3	4	1	1	1	1	1	1
1/3 Apical	1	3	1	1	2	2	2	2	1	1	1	1

Tabela 8 - Valor crítico (H) do teste de Kruskal-Wallis – Presença de poros

	1/3 Cervical	1/3 Médio	1/3 Apical
H de Kruskal-Wallis	8,227	6,327	1,026
Graus de liberdade (gl)	4	4	4
Significância (Sig.)	0,084	0,176	0,906

2.3 Análise da densidade média relativa

Através do *software* de imagem Sidexis XQ, com recurso à função “*Medir o perfil de densidade*”, avaliou-se a densidade relativa, de acordo com a intensidade média do nível de cinza do preenchimento canalar, de cada terço radicular (cervical, médio e apical).

O Grupo 1, mostrou uma maior radiodensidade, seguido pelo Grupo 5, em todos os terços radiculares. Na tabela 9 estão registados os valores das médias da densidade relativa de cada grupo, por terço.

Tabela 9 - Média da densidade relativa obtida por terço radicular (%)

	G1	G2	G3	G4	G5
1/3 Cervical	51,2	48,5	49,6	44,6	50
1/3 Médio	45,6	41,2	40,7	39,1	42,1
1/3 Apical	34,7	23	24,6	25,3	25,7

VI – DISCUSSÃO

A quantidade de respostas obtidas no questionário *online* foi de 95 respostas, representado desta forma uma taxa de resposta de 5,3%. Pelo facto desta parte do estudo ter sido realizada com base num inquérito por questionário *online*, a amostra dificilmente pode ser representativa da população em geral médica dentista ou médica estomatologista, uma vez que estes teriam de ter acesso e facilidade de manusear meios informáticos, além de existir a possibilidade de participação repetida, propositadamente ou por lapso.

O tratamento endodôntico convencional, como solução terapêutica nos casos de tecido pulpar necrótico em dentes imaturos apresenta um prognóstico comprometido. Na abordagem deste tipo de dentes, os resultados clínicos ideais passam por prevenir ou tratar o desenvolvimento de periodontite apical (Lin & Rosenberg, 2011), promover o desenvolvimento contínuo radicular e regenerar o tecido pulpar, aumentando desta forma a durabilidade da dentição (ESE, 2016)

Embora a revascularização seja uma terapia recente e pareça ser eficaz no caso de dentes imaturos, atualmente não é a primeira opção de tratamento clínico. A apexificação com hidróxido de cálcio ou MTA parece ser a primeira linha de tratamento (Araújo et al., 2017), tal como foi conclusivo no questionário *online*, onde 52% dos inquiridos afirmaram recorrer à terapia de apexificação. Este motivo talvez se deva à falta de colaboração do paciente, dificuldade da técnica clínica, falta de protocolos padronizados e de evidência clínica, no que concerne a terapia de revascularização (Lee, 2019).

Na prática clínica, o método do desempenho biológico da resposta aos materiais aplicados à técnica de PER passa pela avaliação dos sinais e sintomas clínicos, assim como controlos radiográficos. No entanto, a formação de tecidos pulpare e periapicais, em resposta ao tratamento só poderá ser avaliada através de análise histológica (Kim et al., 2018). A maioria dos procedimentos endodônticos regenerativos incluem o mínimo ou nenhum desbridamento mecânico (Diogenes et al., 2013), apoiando-se no desbridamento químico e na utilização de medicação intracanal, tal como já mencionado anteriormente. Por conseguinte, esta tem sido utilizada em quase todos os

processos endodônticos regenerativos. A medicação intracanal é assim um fator chave para se obter um meio livre de microrganismos. Os fármacos tradicionalmente utilizados, como o hidróxido de cálcio e, mais recentemente a pasta triantibiótica, combinação de ciprofloxacina, metronidazol e minociclina, como já referido, atuam como microbicida e são biocompatíveis com as células estaminais, presentes na zona periapical (Lee, 2019). Sato et al, (1996) e Hoshino et al, (1996) relataram a eficácia bactericida da mistura de ciprofloxacina, metronidazol e minociclina para erradicar bactérias da dentina radicular infetada. Desde então, a pasta triantibiótica tem sido utilizada com frequência nos procedimentos endodônticos generativos, tornando-se na medicação intracanal mais popular neste tipo de procedimentos.

A pasta triantibiótica poderá ser preparada e aplicada no interior do canal radicular através de vários métodos, não havendo desta forma uma técnica padronizada. Em estudos, verificou-se que a pasta triantibiótica mostrou melhores propriedades de desinfecção em comparação com o hidróxido de cálcio (Adl et al., 2014; Lakhani et al., 2017; Ghabraei et al., 2018), o que de certa forma fundamenta a opção tomada na maioria dos inquiridos do estudo atual, de acordo com inquérito *online* realizado, onde 48,6% dos inquiridos dizem recorrer à pasta triantibiótica, sendo a ciprofloxacina, metronidazol e minociclina os antibióticos mais utilizados com 33,3% das respostas. 42,9% afirmam recorrer ao hidróxido de cálcio. Após um estudo onde foi feita a comparação entre pasta triantibiótica, hidróxido de cálcio e desinfecção fotoativa na desinfecção do canal radicular, foram observados 15% de insucesso quando utilizado hidróxido de cálcio, 5% de insucesso para a pasta triantibiótica e, 100% de sucesso para desinfecção fotoativa, o que leva a concluir que a combinação de desinfecção fotoativa com pasta triantibiótica poderá apresentar resultados benéficos na desinfecção do canal radicular (Johns et al., 2014). Um problema que acompanha o uso da pasta triantibiótica é a pigmentação dentinária (Hoshino et al., 1996). Thibodeau & Trope (2007) sugeriram a substituição da minociclina por cefaclor para evitar a descoloração da dentina e a AAE (2018) confirma que a incorporação de clindamicina, amoxicilina ou de cefaclor na pasta triantibiótica, em vez de minociclina, ou o uso de um *bonding*, de forma a selar os túbulos dentinários da câmara pulpar, evita a pigmentação dentinária. Por outro lado, a posição da ESE sobre a utilização de antibióticos em Endodontia é de que, tendo em conta a falta de evidência sólida, que apoie a utilização de antibióticos na terapia endodôntica regenerativa, a

utilização de hidróxido de cálcio deve ser preferida à pasta triantibiótica a fim de evitar a pigmentação dentária (ESE, 2016).

No que concerne ao estudo *in vitro*, os canais radiculares foram preparados de forma a simular o diâmetro apical de um dente imaturo, eliminar variações na anatomia do canal e permitir um alto grau de padronização. Além disso, o uso de dentes naturais reproduz com maior precisão as condições clínicas.

A pasta triantibiótica foi preparada com soro fisiológico ou propilenoglicol, após redução a pó dos três antibióticos, metronidazol 250mg, ciprofloxacina 250mg, minociclina 100mg. Foi aplicada com recurso a seringa + agulha, lentulo ou a aplicador de MTA e condensador vertical. O propilenoglicol apresenta forte ação antibacteriana assim como natureza higroscópica e viscosidade, o que resulta na libertação sustentada dos componentes da medicação intracanal. Dada a sua baixa tensão superficial, ao contrário do soro fisiológico, apresenta a vantagem de penetrar facilmente através dos túbulos dentinários (Srinivas et al., 2016). Após um estudo disponível sobre o tema, conduzido por Cruz et al, em 2002, cujo objetivo foi avaliar a penetração do propilenoglicol na dentina radicular, demonstrou-se que este composto poderá ser útil como veículo da medicação intracanal.

A agulha selecionada apresentava 25 milímetros de comprimento e 20G de diâmetro, para permitir que a pasta triantibiótica fosse direcionada de forma eficaz para o canal radicular, uma vez que após pré-testes verificou-se que dada a espessura da mistura obtida, a pasta não era injetada pela agulha em diâmetros menores a 20G.

Os resultados obtidos através do estudo *in vitro* levaram a que a hipótese nula fosse aceite, uma vez que não se verificaram diferenças estatisticamente significativas no método de preparação e aplicação da pasta triantibiótica, no interior do canal radicular.

As técnicas testadas foram semelhantes em termo da extensão do preenchimento do canal radicular, sem diferenças estatisticamente significativas entre elas. Na maioria dos casos, o limite apical variou entre “no ápex” (pontuação 1 em 58% dos casos) e “1 e 2 mm do ápex” (pontuação 2 em 28% do casos).

A presença de poros foi menos notória aquando da utilização do propilenoglicol como veículo e posterior aplicação da pasta triantibiótica com agulha + seringa (Grupo 3) e aplicação com agulha + seringa e lentulo (Grupo 4), apesar de não se terem verificado diferenças estatisticamente significativas entre os 5 grupos deste estudo, talvez pela baixa tensão superficial deste composto e uma vez que a consistência da pasta facilitou o preenchimento dos canais radiculares, ao contrário do soro fisiológico utilizado no grupo 1, 2 e 5. Por outro lado, de acordo com as respostas obtidas no inquérito *online*, 80% dizem recorrer ao soro fisiológico e apenas 13,3% ao propilenoglicol. No que respeita ao modo de aplicação da pasta, 40% refere recorrer a seringa + agulha, enquanto que 36,7% diz utilizar lentulo, o que apoia os resultados benéficos obtidos nos Grupos 3 e 4.

No Grupo experimental 1, no qual se recorreu à agulha + seringa para aplicação da pasta triantibiótica no canal radicular, previamente manipulada com soro fisiológico, obteve-se uma maior radiodensidade, seguido pelo Grupo 5, em todos os terços radiculares, sendo a maior percentagem média da densidade relativa obtida ao nível do terço cervical do Grupo 1, com 51,2%.

Considerando os limites deste estudo *in-vitro*, como a falta de experiência clínica do operador, o facto dos dentes utilizados apresentarem canais radiculares com alto grau de padronização, conclui-se que de uma forma geral, a inserção manual da pasta triantibiótica foi bem executada e produziu uma qualidade de preenchimento semelhante em comparação com as técnicas utilizadas.

VII – CONCLUSÃO

A terapia endodôntica regenerativa apresenta uma base biológica e destina-se a promover o processo natural de cicatrização da lesão pulpar para restaurar a vitalidade, assim como regenerar ou produzir um novo tecido semelhante à polpa dentária, recuperando desta forma a vitalidade dentária, possibilitando um desenvolvimento radicular, aumento a espessura das paredes radiculares.

O diagnóstico precoce, a preservação da integridade da papila apical e da BEH assim como a execução de um protocolo atual, são condições fundamentais que podem levar à constituição do complexo pulpo-dentinário e consequente contínuo desenvolvimento radicular. Embora a reparação e, nem sempre a regeneração, seja conseguida com os protocolos atuais, espera-se que mais investigações na área da engenharia pulpar baseada em células estaminais permitam uma verdadeira regeneração e que se desenvolvam técnicas padronizadas para aplicação da pasta triantibiótica.

Nesta investigação podemos inferir que os veículos e meios de aplicação da pasta triantibiótica utilizados não interferiram no comprimento do preenchimento dos canais radiculares, com a presença de poros, nem com a densidade média relativa, uma vez que os resultados foram semelhantes, independentemente dos meios utilizados.

Apenas 23,1% dos inquiridos recorre à terapia de revascularização, sendo a pasta triantibiótica a medicação intracanal mais utilizada, com 48,6% das respostas dos inquiridos, constituída por ciprofloxacina, metronidazol e minociclina. O veículo mais utilizado para a confeção desta pasta, segundo este inquérito *online* foi o soro fisiológico e a angulha + seringa o método de aplicação mais recorrido.

Desta forma, é de um grande interesse futuro desenvolver um protocolo padronizado e reavaliar a qualidade das técnicas atuais disponíveis, de forma a obter melhores resultados clínicos na terapia de revascularização.

VIII – BIBLIOGRAFIA

- AAE. (2018). AAE Clinical Considerations for a Regenerative Procedure Revised 4/1/2018. *Aae*.
- AAE. (2020). Glossary of Endodontic Terms 2020. (10th ed). Disponível em <https://www.aae.org/specialty/clinical-resources/glossary-endodontic-terms/>
- Adl, A., Hamed, S., Shams, M. S., Motamedifar, M., & Sobhnamayan, F. (2014). The ability of triple antibiotic paste and calcium hydroxide in disinfection of dentinal tubules. *Iranian Endodontic Journal*, 9(2), 123–126. <https://doi.org/10.22037/iej.v9i2.4816>
- Aggarwal, V., Miglani, S., & 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), 68–72. <https://doi.org/10.4103/0972-0707.92610>
- Albuquerque, M. T. P. et al. (2014). Pulp revascularization: an alternative treatment to the apexification of immature teeth. *RGO- Revista Gaúcha de Odontologia*. 62(4), pp. 401-409.
- American Academy of Pediatric Dentistry Clinical Affairs Committee Pulp Therapy S, American Academy of Pediatric Dentistry Council on Clinical A (2014). Guideline on pulp therapy for primary and young permanent teeth. *Pediatric Dentistry*, 27, 130-134.
- Andreasen, J. O. & Andreasen, F. M., (1994). Textbook and Color Atlas of Traumatic Injuries to the Teeth, (3th ed), Copenhagen, Munksgaard.
- Andreasen, J. O., & Bakland, L. K. (2012). Pulp regeneration after non-infected and infected necrosis, what type of tissue do we want? A review. *Dental Traumatology*, 28(1), 13–18. <https://doi.org/10.1111/j.1600-9657.2011.01057.x>

- Andreasen, J. O., Farik, B., & Munksgaard, E. C. (2002). Long-term calcium hydroxide as a root canal dressing may increase risk of root fracture. *Dental Traumatology*, 18(3), 134–137. <https://doi.org/10.1034/j.1600-9657.2002.00097.x>
- Antônio, M., Loureiro, Z., Barbosa, M. G., Chaves, G. S., Siqueira, P. C. De, & Decurcio, D. D. A. (2018). Avaliação Da Composição Química E Radiopacidade De Diferentes Pastas De Hidróxido De Cálcio. 27(80), 19–23.
- Araújo, P. R. de S., Silva, L. B., Neto, A. P. dos S., Almeida de Arruda, J. A., Álvares, P. R., Sobral, A. P. V., Júnior, S. A., Leão, J. C., Braz da Silva, R., & Sampaio, G. C. (2017). Pulp Revascularization: A Literature Review. *The Open Dentistry Journal*, 10(1), 48–56. <https://doi.org/10.2174/1874210601711010048>
- Avery, J. K., & Chiego, D. J. (2006). *Essentials of Oral Histology and Embryology A Clinical Approach* (3rd ed). Mosby Elsevier, pp.73 – 100.
- Bakhtiar, H., Esmacili, S., Fakhr Tabatabayi, S., Ellini, M. R., Nekoofar, M. H., & Dummer, P. M. H. (2017). Second-generation Platelet Concentrate (Platelet-rich Fibrin) as a Scaffold in Regenerative Endodontics: A Case Series. *Journal of Endodontics*, 43(3), 401–408. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2016.10.016>
- Banchs, F., & Trope, M. (2004). Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: New treatment protocol? *Journal of Endodontics*, 30(4), 876–887. <https://doi.org/10.1097/00004770-200404000-00003>
- Basrani, B., & Haapasalo, M. (2012). Update on endodontic irrigating solutions. *Endodontic Topics*, 27(1), 74–102. <https://doi.org/10.1111/etp.12031>
- Becerra, P., Ricucci, D., Loghin, S., Gibbs, J. L., & Lin, L. M. (2014). Histologic study of a human immature permanent premolar with chronic apical abscess after revascularization/revitalization. *Journal of Endodontics*, 40(1), 133–139. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2013.07.017>
- Bergenholtz, G. (1974). Microorganisms from necrotic pulp of traumatized teeth. *ODONT.REVY*, 25 (4), 347–358.

- Berkhoff, J. A., Chen, P. B., Teixeira, F. B., & Diogenes, A. (2014). Evaluation of triple antibiotic paste removal by different irrigation procedures. *Journal of Endodontics*, 40(8), 1172–11. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2013.12.027>
- Bezgin, T., & Sönmez, H. (2015). Review of current concepts of revascularization/revitalization. *Dental Traumatology*, 31(4), 267–273. <https://doi.org/10.1111/edt.12177>
- Bezgin, T., Yilmaz, A. D., Çelik, B. N., & Sönmez, H. (2014). Concentrated platelet-rich plasma used in root canal revascularization: 2 case reports. *International Endodontic Journal*, 47(1), 41–49. <https://doi.org/10.1111/iej.12144>
- Bischoff, K., & Ms, D. V. M. (2012). 72 - Propylene Glycol. In *Small Animal Toxicology* (3th ed). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-0717-1.00072-7>
- Byström, A., Claesson, R., & Sundqvist, G. (1985). The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. *Dental Traumatology*, 1(5), 170–171. <https://doi.org/10.1111/j.1600-9657.1985.tb00652.x>
- Camilleri, J., Sorrentino, F., & Damidot, D. (2013). Investigation of the hydration and bioactivity of radiopacified tricalcium silicate cement, Biodentine and MTA Angelus. *Dental Materials*, 29(5), 580–593. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2013.03.007>
- Cavacas, M. A. (2014). Alterações morfológicas dentárias provocadas pelo ruído industrial. Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar - Universidade do Porto.
- Chan, E. K. M., Desmeules, M., Cielecki, M., Dabbagh, B., & Ferraz dos Santos, B. (2017). Longitudinal Cohort Study of Regenerative Endodontic Treatment for Immature Necrotic Permanent Teeth. *Journal of Endodontics*, 43(3), 395–400. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2016.10.035>
- Chueh, L. H., & Huang, G. T. J. (2006). Immature Teeth With Periradicular Periodontitis or Abscess Undergoing Apexogenesis: A Paradigm Shift. *Journal of Endodontics*, 32(12), 1205–1213. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2006.07.010>

- Chuensombat, S., Khemaleelakul, S., Chattipakorn, S., & Srisuwan, T. (2013). Cytotoxic effects and antibacterial efficacy of a 3-antibiotic combination: An in vitro study. *Journal of Endodontics*, 39(6), 813–819. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2012.11.041>
- Connor, B. W., Jacqueline K., L. (2020). Metronidazole. *StatPearls* [Online]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539728/>
- Cruz, E. V., Kota, K., Huque, J., Iwaku, M., & Hoshino, E. (2002). Penetration of propylene glycol into dentine. *International Endodontic Journal*, 35(4), 330–336. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2591.2002.00482.x>
- Cvek, M., Nord, C. E., & Hollender, L. (1976). Antimicrobial effect of root canal débridement in teeth with immature root. A clinical and microbiologic study. *Odontologisk Revy*, 27(1), 1–10.
- da Silva, L. A. B., Nelson-Filho, P., da Silva, R. A. B., Flores, D. S. H., Heilborn, C., Johnson, J. D., & Cohenca, N. (2010). Revascularization and periapical repair after endodontic treatment using apical negative pressure irrigation versus conventional irrigation plus triantibiotic intracanal dressing in dogs' teeth with apical periodontitis. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, 109(5), 779–787. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2009.12.046>
- Deveaux, E., Dufour, D., & Boniface, B. (2000). Five methods of calcium hydroxide intracanal placement An in vitro evaluation. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 89(3), 349–355. <https://doi.org/10.1067/moe.2000.103528>
- Dhurat, R., & Sukesh, M. (2014). Principles and methods of preparation of platelet-rich plasma: A review and author's perspective. *Journal of Cutaneous and Aesthetic Surgery*, 7(4), 189–197. <https://doi.org/10.4103/0974-2077.150734>
- Diogenes, A., Henry, M. A., Teixeira, F. B., & Hargreaves, K. M. (2013). An update on clinical regenerative endodontics. *Endodontic Topics*, 28(1), 2–23. <https://doi.org/10.1111/etp.12040>

- Doyon, G. E., Dumsha, T., & Von Fraunhofer, J. A. (2005). Fracture resistance of human root dentin exposed to intracanal calcium hydroxide. *Journal of Endodontics*, 31(12), 895–89. <https://doi.org/10.1097/01.don.0000194542.02521.af>
- Dummer, P. M. H., Hicks, R., & Huws, D. (1980). Clinical signs and symptoms in pulp disease. *International Endodontic Journal*, 13(1), 27–35. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.1980.tb00834.x>
- Estefan, B. S., El Batouty, K. M., Nagy, M. M., & Diogenes, A. (2016). Influence of Age and Apical Diameter on the Success of Endodontic Regeneration Procedures. *Journal of Endodontics*, 42(11), 1620–1625. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2016.06.020>
- Fang, Y., Wang, X., Zhu, J., Su, C., Yang, Y., & Meng, L. (2018). Influence of Apical Diameter on the Outcome of Regenerative Endodontic Treatment in Teeth with Pulp Necrosis: A Review. *Journal of Endodontics*, 44(3), 414–413. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2017.10.007>
- Faria, G., Rodrigues, E. M., Coaguila-Llerena, H., Gomes-Cornélio, A. L., Neto Angélico, R. R., Swerts Pereira, M. S., & Tanomaru Filho, M. (2018). Influence of the Vehicle and Antibiotic Formulation on Cytotoxicity of Triple Antibiotic Paste. *Journal of Endodontics*, 44(12), 1812–1816. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2018.09.009>
- Fortin, M.-F. (1996). O Processo de Investigação: Da concepção à realização (5th ed – pp. 249) Lusociência.
- Galler, K. M. (2016). Clinical procedures for revitalization: current knowledge and considerations. *In International Endodontic Journal*, 49(10), 926-936. <https://doi.org/10.1111/iej.12606>
- Galler, K. M., D'Souza, R. N., Hartgerink, J. D., & Schmalz, G. (2011). Scaffolds for dental pulp tissue engineering. *Advances in Dental Research*, 23(3), 333–339. <https://doi.org/10.1177/0022034511405326>

- Galler, K. M., Krastl, G., Simon, S., Van Gorp, G., Meschi, N., Vahedi, B., & Lambrechts, P. (2016). European Society of Endodontology position statement: Revitalization procedures. *International Endodontic Journal*, 49(8), 717–723. <https://doi.org/10.1111/iej.12629>
- Garcia-Godoy, F., & Murray, P. E. (2012). Recommendations for using regenerative endodontic procedures in permanent immature traumatized teeth. *Dental Traumatology*, 28(1), 33–41. <https://doi.org/10.1111/j.1600-9657.2011.01044.x>
- Ghabraei, S., Bolhari, B., Sabbagh, M. M., & Afshar, M. S. (2018). Comparison of Antimicrobial Effects of Triple Antibiotic Paste and Calcium Hydroxide Mixed with 2% Chlorhexidine as Intracanal Medicaments Against *Enterococcus faecalis* Biofilm. *Journal of Dentistry (Tehran, Iran)*, 15(3), 151–160.
- Goldberg, M. (2008). Histologie du complexe dentinopulpaire. In *Chirurgie Orale et Maxillo-Faciale*.
- Goldberg, M., & Smith, A. J. (2004). Cells and extracellular matrices of dentin and pulp: A biological basis for repair and tissue engineering. In *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 15(1), 13-27. <https://doi.org/10.1177/154411130401500103>
- Goodis, H. E., Kinaia, B. M., Kinaia, A. M., & Chogle, S. M. A. (2012). Regenerative Endodontics and Tissue Engineering. What the Future Holds? *Dental Clinics of North America*, 56(3), 677–689. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2012.05.007>
- Hargreaves, K. M., Diogenes, A., & Teixeira, F. B. (2013). Treatment options: Biological basis of regenerative endodontic procedures. *Journal of Endodontics*, 39(3), 30–43. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2012.11.025>
- Hargreaves, K., & Berman, L. (2016). *Cohen's Pathways of the Pulp* (11th ed.). Elsevier Inc, pp. 447 – 469; 532-566; 630-640.
- Hoshino, E., Kurihara-Ando, N., Sato, I., Uematsu, H., Sato, M., Kota, K., & Iwaku, M. (1996). In-vitro antibacterial susceptibility of bacteria taken from infected root dentine to a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline. *International*

- Endodontic Journal*, 29(2), 125–130. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2591.1996.tb01173.x>
- Huang, G. T. J., Sonoyama, W., Liu, Y., Liu, H., Wang, S., & Shi, S. (2008). The Hidden Treasure in Apical Papilla: The Potential Role in Pulp/Dentin regeneration and BioRoot Engineering. *Journal of Endodontics*, 34(6), 645–651. <http://doi.org/10.1016/j.joen.2008.03.001>
- Huang, G. T. J., Yamaza, T., Shea, L. D., Djouad, F., Kuhn, N. Z., Tuan, R. S., & Shi, S. (2010). Stem/Progenitor cell-mediated de novo regeneration of dental pulp with newly deposited continuous layer of dentin in an in vivo model. *Tissue Engineering - Part A*, 16(2), 605–615. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2009.0518>
- Hunter, L. (2012). Challenging the reported disadvantages of e-questionnaires and addressing methodological issues of online data collection. *Nurse Researcher*, 20(1), 11–20. <http://doi.org/10.7748/nr2012.09.20.1.11.c9303>
- Iohara, K., Nakashima, M., Ito, M., Ishikawa, M., Nakasima, A., & Akamine, A. (2004). Dentin regeneration by dental pulp stem cell therapy with recombinant human bone morphogenetic protein 2. *Journal of Dental Research*, 83(8), 590–595. <https://doi.org/10.1177/154405910408300802>
- Iwaya, S. I., Ikawa, M., & Kubota, M. (2001). Revascularization of an immature permanent tooth with apical periodontitis and sinus tract. *Dental Traumatology*, 17(4), 185–187. <https://doi.org/10.1034/j.1600-9657.2001.017004185.x>
- Jadhav, G. R., Shah, D., & 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 Natural Science, Biology and Medicine*, 6(1), 224–225. <https://doi.org/10.4103/0976-9668.149187>
- Jetty, K. R., & Sidebottom, A. (2013). Informing the patient. *British Dental Journal*, 214(12), 607. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2013.592>
- Johns, D. A., Varughese, J. M., Thomas, K., Abraham, A., James, E. P., & Maroli, R. K. (2014). Clinical and radiographical evaluation of the healing of large periapical

- lesions using triple antibiotic paste, photo activated disinfection and calcium hydroxide when used as root canal disinfectant. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 6(3), 230–236. <https://doi.org/10.4317/jced.51324>
- Jung, I. Y., Lee, S. J., & Hargreaves, K. M. (2008). Biologically Based Treatment of Immature Permanent Teeth with Pulpal Necrosis: A Case Series. *Journal of Endodontics*, 34(7), 876–887. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2008.03.023>
- Kahler, B., Mistry, S., Moule, A., Ringsmuth, A. K., Case, P., Thomson, A., & Holcombe, T. (2014). Revascularization outcomes: A prospective analysis of 16 consecutive cases. *Journal of Endodontics*, 40(3), 333–338. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2013.10.032>
- Kim, D. S., Park, H. J., Yeom, J. H., Seo, J. S., Ryu, G. J., Park, K. H., Shin, S. Il, & Kim, S. Y. (2012). Long-term follow-ups of revascularized immature necrotic teeth: Three case reports. *International Journal of Oral Science*, 4(2), 109–113. <https://doi.org/10.1038/ijos.2012.23>
- Kim, J. H., Kim, Y., Shin, S. J., Park, J. W., & Jung, I. Y. (2010). Tooth discoloration of immature permanent incisor associated with triple antibiotic therapy: A case report. *Journal of Endodontics*, 36(6), 1086–1091. <http://doi.org/10.1016/j.joen.2010.03.031>
- Kim, S. (2016). Infection and Pulp Regeneration. *Dentistry Journal*, 4(1), 4. <https://doi.org/10.3390/dj4010004>
- Kim, S. G., Malek, M., Sigurdsson, A., Lin, L. M., & Kahler, B. (2018). Regenerative endodontics: a comprehensive review. *In International Endodontic Journal*. 51(12), 1367-1388. <https://doi.org/10.1111/iej.12954>
- Klein, H. (1978). Pulp responses to an electric pulp stimulator in the developing permanent anterior dentition. *ASDC Journal of Dentistry for Children*, 45(3), 199–20.

- Kontakiotis, E. G., Filippatos, C. G., & Agrafioti, A. (2014). Levels of evidence for the outcome of regenerative endodontic therapy. *Journal of Endodontics*, *40*(8), 1045–1053. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2014.03.013>
- Kumar, G. S. (2015) *Orban's Oral Histology and Embryology* (14th ed.) Elsevier Inc, pp. 25 – 39.
- Kumar, V., Abbas, A. K., Fausto, N., & Aster, J. C. (2009). Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease, Professional Edition: Expert Consult-Online. *In Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*.
- Lakhani, A. A., Sekhar, K. S., Gupta, P., Jolatha, B., Gupta, A., Kashyap, S., Desai, V., & Farista, S. (2017). Efficacy of triple antibiotic paste, moxifloxacin, calcium hydroxide and 2% chlorhexidine gel in elimination of E. Faecalis: An in vitro study. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, *11*(1), 6–9. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2017/22394.9132>
- Law, A. S. (2013). Considerations for regeneration procedures. *Journal of Endodontics*, *39*(3), 44–56. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2012.11.019>
- Lee, B.-N., Moon, J.-W., Chang, H.-S., Hwang, I.-N., Oh, W.-M., & Hwang, Y.-C. (2015). A review of the regenerative endodontic treatment procedure. *Restorative Dentistry & Endodontics*, *40*(3), 179–187. <http://doi.org/10.5395/rde.2015.40.3.179>
- Lee, S. M. (2019). *Infection Control in Regenerative Endodontic Procedures*. Postado em *Regenerative Endodontics* – AAE, Disponível em: <https://www.aae.org/specialty/2019/11/04/infection-control-in-regenerative-endodontic-procedures/>
- Lenzi, R., & Trope, M. (2012). Revitalization procedures in two traumatized incisors with different biological outcomes. *Journal of Endodontics*, *38*(3), 411–414. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2011.12.003>
- Li, J., Parada, C., & Chai, Y. (2017). Cellular and molecular mechanisms of tooth root development. *Development (Cambridge)*, *144*(3), 374–384. <https://doi.org/10.1242/dev.137216>

- Lin, J., Zeng, Q., Wei, X., Zhao, W., Cui, M., Gu, J., Lu, J., Yang, M., & Ling, J. (2017). Regenerative Endodontics Versus Apexification in Immature Permanent Teeth with Apical Periodontitis: A Prospective Randomized Controlled Study. *Journal of Endodontics*, 43(11), 1821–1827. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2017.06.023>
- Lin, L. M., & Rosenberg, P. A. (2011). Repair and regeneration in endodontics. *In International Endodontic Journal*, 44(10), 889-906. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2011.01915.x>
- Linsuwanont, P., Sinpitaksakul, P., & Lertsakchai, T. (2017). Evaluation of root maturation after revitalization in immature permanent teeth with nonvital pulps by cone beam computed tomography and conventional radiographs. *International Endodontic Journal*, 50(9), 836–884. <https://doi.org/10.1111/iej.12705>
- Lovelace, T. W., Henry, M. A., Hargreaves, K. M., & Diogenes, A. (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), 133–138. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2010.10.009>
- Majno G, Joris I (2004) *Cells, Tissues, and Disease*, (2nd ed), Oxford, London, UK: *Oxford University Press*. pp. 15-35.
- Martin, D. E., De Almeida, J. F. A., Henry, M. A., Khaing, Z. Z., Schmidt, C. E., Teixeira, F. B., & Diogenes, A. (2014). Concentration-dependent effect of sodium hypochlorite on stem cells of apical papilla survival and differentiation. *Journal of Endodontics*, 40(1), 51–55. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2013.07.026>
- Martin, G., Ricucci, D., Gibbs, J. L., & Lin, L. M. (2013). Histological findings of revascularized/revitalized immature permanent molar with apical periodontitis using platelet-rich plasma. *Journal of Endodontics*, 39(1), 138–144. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2012.09.015>
- Mattheos, N., Storrs, M., Foster, L. e Oberholzer, T. (2012). Intraprofessional, team-based treatment planning for oral health students in the comprehensive care clinic. *Journal of Dental Education*, 76(12), 1589-1599.

- Meschi, N., Hilkens, P., Lambrechts, I., Van den Eynde, K., Mavridou, A., Strijbos, O., De Ketelaere, M., Van Gorp, G., & Lambrechts, P. (2016). Regenerative endodontic procedure of an infected immature permanent human tooth: an immunohistological study. *Clinical Oral Investigations*, 20(4), 807–814. <https://doi.org/10.1007/s00784-015-1555-8>
- Miller, E. K., Lee, J. Y., Tawil, P. Z., Teixeira, F. B., & Vann, W. F. (2012). Emerging therapies for the management of traumatized immature permanent incisors. *Pediatric Dentistry*, 34(1), 66–69.
- Mishra, N., Narang, I. & Mittal, N. (2013). Platelet-rich fibrin-mediated revitalization of immature necrotic tooth. *Contemporary Clinical Dentistry*, 4(3), 412–415. <https://doi.org/10.4103/0976-237x.118379>
- Moore, A., Howley, C. e O’Connell, A. (2011). Treatment of open apex teeth using two types of withe mineral trioxide aggregate after initial dressing with calcium hydroxide in children. *Dental traumatology*. 27 (3), 166 - 173. <https://doi.org/10.1111/j.1600-9657.2011.00984.x>
- Mrozik, K. M., Zilm, P. S., Bagley, C. J., Hack, S., Hoffmann, P., Gronthos, S., & Bartold, P. M. (2010). Proteomic characterization of mesenchymal stem cell-like populations derived from ovine periodontal ligament, dental pulp, and bone marrow: Analysis of differentially expressed proteins. *Stem Cells and Development*, 19(10), 1485–1499. <https://doi.org/10.1089/scd.2009.0446>
- Murray, P. E., About, I., Lumley, P. J., Franquin, J. C., Remusat, M., & Smith, A. J. (2000). Human odontoblast cell numbers after dental injury. *Journal of Dentistry*, 28(4), 277–285. [https://doi.org/10.1016/S0300-5712\(99\)00078-0](https://doi.org/10.1016/S0300-5712(99)00078-0)
- Murray, P. E., Garcia-Godoy, F., & Hargreaves, K. M. (2007). Regenerative Endodontics: A Review of Current Status and a Call for Action. *Journal of Endodontics*, 33(4), 377–390. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2006.09.013>
- Nakashima, M. (2005). Tissue engineering in endodontics. *Australian Endodontic Journal*, 51(4), 495–507. <https://doi.org/10.1111/j.1747-4477.2005.tb00317.x>

- Namour, M., & Theys, S. (2014). Pulp revascularization of immature permanent teeth: A review of the literature and a proposal of a new clinical protocol. *In Scientific World Journal*. <https://doi.org/10.1155/2014/737503>
- Nanci, A. (2017). *Ten Cate's Oral Histology* (9th ed), St. Louis: Elsevier Inc. pp. 201-225.
- Nazzal, H., & Duggal, M. S. (2017). Regenerative endodontics: a true paradigm shift or a bandwagon about to be derailed? *European Archives of Paediatric Dentistry*, 18(1), 3–15. <https://doi.org/10.1007/s40368-016-0265-5>
- Nosrat, A., Homayounfar, N., & Oloomi, K. (2012). Drawbacks and unfavorable outcomes of regenerative endodontic treatments of necrotic immature teeth: a literature review and report of a case. *Journal of Endodontics*, 38(10), 1428–1434. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2012.06.025>
- Oatts, L. (2012). *Taxation: A Fieldwork research handbook*. Routledge: Grã-Bretanha.
- Oh, M., & Nör, J. E. (2015). The perivascular niche and self-renewal of stem cells. *Frontiers in Physiology*, 6, 376. <https://doi.org/10.3389/fphys.2015.00367>
- Orucoglu, H., & Cobankara, F. K. (2008). Effect of Unintentionally Extruded Calcium Hydroxide Paste Including Barium Sulfate as a Radiopaquing Agent in Treatment of Teeth with Periapical Lesions: Report of a Case. *Journal of Endodontics*, 34(7), 888–891. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2008.04.012>
- Ostby, B. N. & Hjortdal, O. (1971). Tissue formation in the root canal following pulp removal. *European Journal of Oral Sciences*, 79(5), 33–349. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.1971.tb02019.x>
- Pal, H., Sarkar, A., Das, L., Saha, S., & Sarkar, S. (2019). Application of Intracanal Medicaments: A Review. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences (IOSR-JDMS)*, 18(1), 14–21. <https://doi.org/10.9790/0853-1801031421>
- Pannu, R., (2017). Pulp revascularisation – An evolving concept: A review. *International Journal of Applied Dental Sciences*, 3(4), 118-21.

- Paulindraraj S, Venkatesan R, Suprakasam S, Christopher A (2015). Apexification-Then and Now: A Review. *International Journal of Dental and Medical Research* 1(6), 193-196.
- Petrino, J. A. (2007). Revascularization of necrotic pulp of immature teeth with apical periodontitis. *Northwest Dentistry*, 86(3), 33–35.
- Pramila, R., & Muthu, M. (2012). Regeneration potential of pulp-dentin complex: Systematic review. In *Journal of Conservative Dentistry*.
<https://doi.org/10.4103/0972-0707.94571>
- Reynolds, K., Johnson, J. D., & Cohenca, N. (2009). Pulp revascularization of necrotic bilateral bicuspid using a modified novel technique to eliminate potential coronal discolouration: A case report. *International Endodontic Journal*, 42(1), 84–92.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2008.01467.x>
- Reynolds, K., Johnson, J. D., & Cohenca, N. (2009). Pulp revascularization of necrotic bilateral bicuspid using a modified novel technique to eliminate potential coronal discolouration: A case report. *International Endodontic Journal*, 42(1), 84–92.
<http://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2008.01467.x>
- Rivera, E. M., & Williams, K. (1994). Placement of calcium hydroxide in simulated canals: Comparison of glycerin versus water. *Journal of Endodontics*, 20(9), 445–448. [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(06\)80035-X](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(06)80035-X)
- Roberts, H. W., Toth, J. M., Berzins, D. W., & Charlton, D. G. (2008). Mineral trioxide aggregate material use in endodontic treatment: A review of the literature. In *Dental Materials*, 24(2), 149-164. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2007.04.007>
- Ruparel, N. B., Teixeira, F. B., Ferraz, C. C. R., & Diogenes, A. (2012). Direct effect of intracanal medicaments on survival of stem cells of the apical papilla. *Journal of Endodontics*, 38(10), 1372–1375. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2012.06.018>
- Saber, S. E. D. M. (2009). Tissue engineering in endodontics. *Journal of Oral Science*, 51(4), 495–507. <https://doi.org/10.2334/josnusd.51.495>

- Sato, I., Ando-Kurihara, N., Kota, K., Iwaku, M., & Hoshino, E. (1996). Sterilization of infected root-canal dentine by topical application of a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline in situ. *International Endodontic Journal*, 29(2), 118–124. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.1996.tb01172.x>
- Sato, T., Hoshino, E., Uematsu, H., & Noda, T. (1993). In vitro antimicrobial susceptibility to combinations of drugs of bacteria from carious and endodontic lesions of human deciduous teeth. *Oral Microbiology and Immunology*, 8(3), 172–176. <https://doi.org/10.1111/j.1399-302X.1993.tb00661.x>
- Schneider, S. W. (1971). A comparison of canal preparations in straight and curved root canals. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 32(2), 271–275. [https://doi.org/10.1016/0030-4220\(71\)90230-1](https://doi.org/10.1016/0030-4220(71)90230-1)
- Schröder, U., & Granath, L. E. (1971). Early reaction of intact human teeth to calcium hydroxide following experimental pulpotomy and its significance to the development of hard tissue barrier. *Odontologisk Revy*, 22(4), 379–395.
- Segura-Egea, J. J., Gould, K., Şen, B. H., Jonasson, P., Cotti, E., Mazzoni, A., Sunay, H., Tjäderhane, L., & Dummer, P. M. H. (2017). Antibiotics in Endodontics: a review. *International Endodontic Journal*, 50(12), 1169–1184. <https://doi.org/10.1111/iej.12741>
- Sekaran, U. (2000). *Research Methods for Business; A Skill Building Approach*. 3th ed. John Wiley and Sons: New York.
- Shah, N., Logani, A., Bhaskar, U., & Aggarwal, V. (2008). Efficacy of Revascularization to Induce Apexification/Apexogenesis in Infected, Nonvital, Immature Teeth: A Pilot Clinical Study. *Journal of Endodontics*, 34(8), 919-925. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2008.05.001>
- Shilpa, P., Sultana, N., Kaul, R., & Bhat, S. (2013). Stem cells: Boon to dentistry and medicine. *Dental Research Journal*, 10(2), 149–154. <https://doi.org/10.4103/1735-3327.113321>

- Shivashankar, V. Y., Johns, D. A., Vidyanath, S., & Ramesh Kumar, M. (2012). Platelet Rich Fibrin in the revitalization of tooth with necrotic pulp and open apex. *Journal of Conservative Dentistry*, 15(4), 395–398. <https://doi.org/10.4103/0972-0707.101926>
- Shokouhinejad, N., Khoshkhounejad, M., Alikhasi, M., Bagheri, P., & Camilleri, J. (2018). Prevention of coronal discoloration induced by regenerative endodontic treatment in an ex vivo model. *Clinical Oral Investigations*, 22(4), 1725–173. <https://doi.org/10.1007/s00784-017-2266-0>
- Simon, S. R. J., Tomson, P. L., & Berdal, A. (2014). Regenerative endodontics: Regeneration or repair? *Journal of Endodontics*, 40(4), 70–75. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2014.01.024>
- Simon, S. R. J., Tomson, P. L., & Berdal, A. (2014). Regenerative endodontics: Regeneration or repair? *Journal of Endodontics*, 40(4), 70–75. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2014.01.024>
- Srinivas, S., Jibhkate, N., Baranwal, R., Avinash, A., Tandil, Y., & Rathi, S. (2016). Propylene Glycol: A New Alternative for an Intracanal Medicament. *Journal of International Oral Health*, 8(5), 611–614. <https://doi.org/10.2047/jioh-08-05-16>
- Staehe, H. J., Thomä, C., & Müller, H. P. (1997). Comparative in vitro investigation of different methods for temporary root canal filling with aqueous suspensions of calcium hydroxide. *Endodontics and Dental Traumatology*, 13(3), 106–112. <https://doi.org/10.1111/j.1600-9657.1997.tb00022.x>
- Taweewattanapaisan, P., Jantararat, J., Ounjai, P., & Janebodin, K. (2019). The Effects of EDTA on Blood Clot in Regenerative Endodontic Procedures. *Journal of Endodontics*, 45(3), 281–286. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2018.10.010>
- Tawfik, H., Abu-Seida, A. M., Hashem, A. A., & Nagy, M. M. (2013). Regenerative potential following revascularization of immature permanent teeth with necrotic pulps. *International Endodontic Journal*, 46(10), 910–922. <https://doi.org/10.1111/iej.12079>

- Thibodeau, B., Teixeira, F., Yamauchi, M., Caplan, D. J., & Trope, M. (2007). Pulp Revascularization of Immature Dog Teeth With Apical Periodontitis. *Journal of Endodontics*, 29(1), 47–50. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2007.03.001>
- Torabinejad, M., & Chivian, N. (1999). Clinical applications of mineral trioxide aggregate. *Journal of Endodontics*, 25(3), 197–205. [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(99\)80142-3](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(99)80142-3)
- Torabinejad, M., & 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), 265–268. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2010.11.004>
- Torabinejad, M., Corr, R.P., Huang, G.T.J. (2014) Mineral Trioxide Aggregate: Properties and Clinical Applications. In *Mineral Trioxide Aggregate: Properties and Clinical Applications*, 141-176. <https://doi.org/10.1002/9781118892435>
- Torabinejad, M., Watson, T. F., & Pitt Ford, T. R. (1993). Sealing ability of a mineral trioxide aggregate when used as a root end filling material. *Journal of Endodontics*, 19(12), 591–595. [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(06\)80271-2](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(06)80271-2)
- Torres, C. P., Apicella, M. J., Yancich, P. P., & Parker, M. H. (2004). Intracanal placement of calcium hydroxide: A comparison of techniques, revisited. *Journal of Endodontics*, 30(4), 225–227. <https://doi.org/10.1097/00004770-200404000-00010>
- Tziafas, D., & Kodonas, K. (2010). Differentiation Potential of Dental Papilla, Dental Pulp, and Apical Papilla Progenitor Cells. *Journal of Endodontics*, 36(5), 781–789. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2010.02.006>
- Wang, X., Thibodeau, B., Trope, M., Lin, L. M., & Huang, G. T. J. (2010). Histologic Characterization of Regenerated Tissues in Canal Space after the Revitalization/Revascularization Procedure of Immature Dog Teeth with Apical Periodontitis. *Journal of Endodontics*, 36(1), 56–63. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2009.09.039>

- Weissman, I. L. (2000). Stem cells: Units of development, units of regeneration, and units in evolution. *Cell*, 100(1), 157–168. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81692-X](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81692-X)
- Whiting, D., Chung, W. O., Johnson, J. D., & Paranjpe, A. (2018). Characterization of the Cellular Responses of Dental Mesenchymal Stem Cells to the Immune System. *Journal of Endodontics*, 44(7), 1126–1131. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2018.03.018>
- Wigler, R., Kaufman, A. Y., Lin, S., Steinbock, N., Hazan-Molina, H., & Torneck, C. D. (2013). Revascularization: A treatment for permanent teeth with necrotic pulp and incomplete root development. *In Journal of Endodontics*, 39(3), 319 – 326. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2012.11.014>
- Windley, W., Teixeira, F., Levin, L., Sigurdsson, A., & Trope, M. (2005). Disinfection of immature teeth with a triple antibiotic paste. *Journal of Endodontics*, 31(6), 439–443. <https://doi.org/10.1097/01.don.0000148143.80283.ea>
- Yadlapati, M., Souza, L. C., Dorn, S., Garlet, G. P., Letra, A., & Silva, R. M. (2014). Deleterious effect of triple antibiotic paste on human periodontal ligament fibroblasts. *International Endodontic Journal*, 47(8), 769–775. <https://doi.org/10.1111/iej.12216>
- Yang, J. W., Zhang, Y. F., Sun, Z. Y., Song, G. T., & Chen, Z. (2015). Dental pulp tissue engineering with bFGF-incorporated silk fibroin scaffolds. *Journal of Biomaterials Applications*, 30(2), 221–229. <https://doi.org/10.1177/0885328215577296>
- Zivkovic, P., Petrovic, V., Najman, S., & Stefanovic, V. (2010). Stem cell-based dental tissue engineering. *The Scientific World Journal*, 10, 901–916. <https://doi.org/10.1100/tsw.2010.81>

ANEXOS

Anexo 1 – Documento de aprovação pela Comissão de Ética da Egas Moniz

Comissão de Ética EGAS MONIZ



Proc. Interno nº 860

Ex.mo Senhor
Tiago Miguel Bernarda Cascão

Monte de Caparica, 26 de março de 2020

Ex.mo Senhor,


Em resposta ao Pedido de Parecer que submeteu à apreciação da Comissão de Ética da Egas Moniz, com o tema denominado **“Revascularização: Influência do Método de Preparação e de Aplicação da Pasta Triantibiótico na Densidade do Preenchimento Canalar”**, foi aprovado por unanimidade.

Com os melhores cumprimentos,

A Presidente da Comissão de Ética da Egas Moniz

Profª. Doutora Maria Fernanda de Mesquita

Anexo 2 – Documento de cedência de dentes do Banco de Dentes da Clínica Dentária Egas Moniz


EGAS MONIZ

Declaração da Direção Clínica para cedência de dentes do BDH para realização do trabalho de projeto final do Mestrado Integrado de Medicina Dentária
Código| IMP.CDEM.04_01

IDENTIFICAÇÃO DO ESTUDANTE: Tiago Miguel Bernarda Cascão

TÍTULO DO TRABALHO: Revascularização: Influência do Método de Preparação e de Aplicação da Pasta Triantibiótica na Densidade do Preenchimento Canalar

Excelentíssima Professora Doutora Fernanda de Mesquita – Presidente da Comissão de Ética,

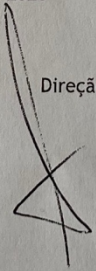
O aluno Tiago Miguel Bernarda Cascão pode utilizar 60 dentes (incisivos centrais e laterais superiores) do Banco de Dentes Humanos (BDH) da Clínica Dentária Egas Moniz (CDEM).

Aguardo a aprovação da Comissão Científica e da Comissão de Ética, para cedência dos dentes.

Atenciosamente, com os melhores cumprimentos

Monte da Caparica, 11 de fevereiro de 2020

Direção Clínica



Anexo 3 – Questionário *Online*

Revascularização: Influência do Método de Preparação e de Aplicação da Pasta Triantibiótica na Densidade do Preenchimento Canalar

No âmbito da Unidade Curricular Orientação Tutorial de Projeto Final do curso de Mestrado Integrado em Medicina Dentária do Instituto Universitário Egas Moniz, foi elaborado este questionário integrante do Projeto Final de Dissertação, intitulado "Revascularização: Influência do Método de Preparação e de Aplicação da Pasta Triantibiótica na Densidade do Preenchimento Canalar", elaborado por Tiago Miguel Bernarda Cascão, sob orientação da Prof. Doutora Ana Cristina Mano Azul, e Coorientação do Mestre Mário Rito Pereira.

Este questionário visa analisar a prática de utilização da pasta triantibiótica pelos médicos dentistas / estomatologistas na área de intervenção da Endodontia.

Solicitamos a sua participação neste estudo de forma voluntária.

A informação recolhida destina-se unicamente a tratamento estatístico e/ou publicação e será tratada pelo(s) orientador(es) e/ou pelos seus mandatados. A sua recolha é anónima e confidencial.

O preenchimento do questionário demora cerca de 5 minutos.

Agradecemos a sua participação.

***Obrigatório**

1. Género: *

Marcar apenas uma oval.

- Masculino
 Feminino

2. Idade (anos): *

Marcar apenas uma oval.

- 22-35
 36-45
 Mais de 45

3. N.º de anos de experiência de prática clínica: *

Marcar apenas uma oval.

- 1 a 5 anos
 5 a 10 anos
 10 a 20 anos
 20 a 30 anos
 Mais de 30 anos

4. Que formação possui em Endodontia? *

Marcar apenas uma oval.

- Licenciatura/Mestrado Integrado
 Pós-graduação em Endodontia
 Curso modular
 Outra: _____

5. Qual a percentagem de tempo clínico dedicado à Endodontia? *

Se responder "0%", o questionário está finalizado.

Marcar apenas uma oval.

- 0%
- 20-40%
- 40-60%
- 60-80%
- 100%

6. Na sua prática clínica recorre à terapêutica de revascularização?

Se responder "Não", passe para a questão 7.

Marcar apenas uma oval.

- Sim
- Não

6.1. Utiliza maioritariamente, relativamente à terapêutica de revascularização, como medicação intracanal:

Marcar apenas uma oval.

- Pasta triantibiótica
- Pasta biantibiótica
- Hidróxido de cálcio
- Outra: _____

6.2. Que antibióticos utiliza para confeção da pasta triantibiótica?

Marcar tudo o que for aplicável.

- Ciprofloxacina
- Metronidazol
- Minociclina
- Cefaclor
- Amoxicilina

Outra: _____

6.3. Que veículo adiciona aos antibióticos no momento anterior à sua aplicação?

Marcar tudo o que for aplicável.

- Soro
- Propilenoglicol

Outra: _____

6.4. Como aplica a pasta triantibiótica no canal radicular?

Marcar tudo o que for aplicável.

- Aplicador de MTA
- Seringa + agulha
- Lentulo

Outra: _____

7. Que tipo de opção terapêutica opta maioritariamente em caso de dentes com necrose e ápex imaturo?

Marcar apenas uma oval.

- Revascularização
- Apexificação
- Reencaminhar paciente
- Outra: _____