



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**TAXA DE SUCESSO CLÍNICO DO TRATAMENTO
ENDODÔNTICO REGENERATIVO EM DENTES MADUROS
MONORRADICULARES: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

Trabalho submetido por
Teresa Fortunato de Sousa
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Setembro de 2022



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**TAXA DE SUCESSO CLÍNICO DO TRATAMENTO
ENDODÔNTICO REGENERATIVO EM DENTES MADUROS
MONORRADICULARES: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

Trabalho submetido por
Teresa Fortunato de Sousa
para a obtenção do grau de **Mestre** em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Prof. Doutora Maria Alzira Cavacas

Setembro de 2022

Dedicatória

À minha mãe, pelo exemplo enquanto
Pessoa e profissional.

Agradecimentos

À minha orientadora, a Prof.^a Doutora Maria Alzira Cavacas, pela partilha de conhecimento, pelo rigor e exigência sempre acompanhados de uma enorme receptividade, preocupação, carinho e amizade.

Ao Prof. Doutor João Botelho, pela disponibilidade, apoio e profissionalismo não só durante a realização deste trabalho como também ao longo dos últimos anos.

Ao Mestre Paulo Mascarenhas pelo seu conhecimento, disponibilidade e ajuda.

Ao Instituto Universitário Egas Moniz, pelos últimos 5 anos de aprendizagem.

Aos meus pais, pelo exemplo que são, pela educação e amor. Pela oportunidade de tirar este curso e por toda a força que me deram ao longo do mesmo e sempre.

Ao João Maria Trincão e à Marta Neves dos Santos, por tudo o que me ensinaram, por terem sido um pilar ao longo destes anos. Pela amizade, por serem o “porto seguro”, pelo apoio incontestável e a pela sua alegria.

Ao João, pela presença em todos os momentos, por puxar sempre por mim e acima de tudo pela confiança.

À minha irmã Francisca pela disponibilidade e preciosa ajuda na realização deste trabalho.

Às minhas queridas amigas, pela nossa grande amizade, pelas palavras de apoio e por serem incansáveis.

Resumo

Introdução: O tratamento endodôntico regenerativo (TER) tem como objetivo restabelecer a vitalidade, a função e o tecido do complexo pulpar. É habitualmente realizado em dentes imaturos, no entanto, pode também ser feito em dentes maduros com a raiz totalmente formada, apresentando maior dificuldade devido, entre outros fatores, ao ápex se encontrar totalmente fechado. Para determinar o sucesso do tratamento endodôntico regenerativo em dentes maduros, são considerados dois fatores: 1) resolução clínica dos sinais e sintomas; 2) resposta positiva aos testes de sensibilidade. Diversos estudos foram realizados no sentido de determinar o sucesso clínico do tratamento endodôntico regenerativo TER em dentes imaturos, contudo existe escassa evidência científica relativamente ao sucesso deste tratamento em dentes maduros.

Objetivos: Avaliar, através de uma revisão sistemática, a evidência disponível relativamente à taxa de sucesso clínico do tratamento endodôntico regenerativo em dentes maduros monorradiculares.

Materiais e Métodos: O levantamento bibliográfico foi realizado até ao ano de 2022 em três bases de dados eletrónicas: *PubMed*, *B-on*, *Scopus*. Foi utilizado o algoritmo de pesquisa “mature teeth” AND “regenerative endodontics” NOT “case report”. Foi posteriormente efetuada uma pesquisa manual de referências bibliográficas dos artigos selecionados, de modo a abranger artigos com possível interesse para a investigação.

Resultados: Foram apenas recolhidos estudos de elevada evidência científica – *randomized controlled trials*. Dada a heterogeneidade metodológica dos estudos, optou-se pela utilização da *guideline* SWiM, desenvolvida para que fosse possível obter uma análise dos métodos e resultados alcançados nas intervenções realizadas, quando existe carência de dados passíveis de meta-análise.

Conclusões: Foi evidenciado o sucesso clínico do TER em dentes maduros, no entanto, é necessária a realização de um maior número de estudos de elevada evidência científica padronizados para que este tratamento se possa tornar uma prática habitual em Medicina Dentária.

Palavras-chave: Tratamento endodôntico regenerativo; Dentes maduros; Sucesso clínico; Follow-up.

Abstract

Introduction: Regenerative endodontic treatment (RET) aims to regenerate the vitality, function and tissue of the pulpal complex. It is usually performed on immature teeth, however, it can also be done on mature teeth with fully formed roots, presenting greater difficulty due, among other factors, to the fact that the apex is fully closed. To determine the success of regenerative endodontic treatment on mature teeth, two factors are considered: 1) clinical resolution of signs and symptoms; 2) positive response to sensitivity tests. Several studies have been conducted to determine the clinical success of RET in immature teeth, however there is little scientific evidence regarding the success of this treatment in mature teeth.

Aim: To evaluate, through a systematic review, the available evidence regarding the clinical success rate of regenerative endodontic treatment in mature monoradicular teeth.

Methodology: Literature up to the year of 2022 was searched in three electronic databases: *PubMed*, *B-on*, *Scopus*. The search algorithm "mature teeth" AND "regenerative endodontics" NOT "case report" was used. A manual search for references of the selected articles was then performed in order to cover articles of possible interest for the research.

Results: Only studies with high scientific evidence - *randomized controlled trials* - were collected. Given the methodological heterogeneity of the studies, we chose to use the SWiM guideline. This guideline was developed so that it is still possible to obtain an analysis of the methods and results achieved in the interventions carried out, when there is a lack of data for meta-analysis.

Conclusions: The clinical success of RET in mature teeth was demonstrated, however, it is necessary to carry out a larger number of studies with high scientific evidence for this treatment to become a standard practice in dentistry.

Keywords: Regenerative endodontic treatment; Mature teeth; Clinical success; Follow-up.

Índice geral

I.	Introdução	13
1.1.	Regeneração pulpar e tratamento endodôntico regenerativo.....	13
1.1.1.	Aspetos fisiológicos	13
1.1.2.	Aspetos histológicos - odontogénese	15
1.1.3.	Variáveis que influenciam a regeneração pulpar	24
1.2.	Protocolo tratamento endodôntico regenerativo.....	28
1.3.	Avaliação e sucesso clínico	30
II.	Materiais e Métodos	33
2.1.	Definição da pergunta de investigação	33
2.2.	Crítérios de seleção de estudos	33
2.3.	Estratégia de pesquisa sistemática	34
2.4.	Seleção dos estudos	34
2.5.	Recolha e processamento de dados	35
2.6.	Avaliação do risco de viés	35
2.7.	Justificação da <i>guideline</i> utilizada – SWiM	36
III.	Resultados.....	37
3.1.	Seleção de estudos	37
3.2.	Resultados da seleção de pesquisa: fluxograma PRISMA	37
3.3.	Características dos estudos	38
3.4.	Síntese qualitativa de evidência - SWiM.....	42
3.4.1.	Tratamento endodôntico convencional vs. tratamento endodôntico regenerativo	43
3.4.2.	Abordagens do tratamento endodôntico regenerativo	50
3.5.	Resultados da avaliação do risco de viés.....	58
IV.	Discussão	61
V.	Conclusões	73
VI.	Bibliografia.....	75

VII.	Anexos.....	89
------	-------------	----

Índice de figuras

Figura 1 - Esquema representativo da odontogénese (esquema original).	16
Figura 2 - Odontogénese: Fase de botão. Adaptado de “ <i>Dental Stem Cells: Regenerative Potential, Stem Cell Biology and Regenerative Medicine</i> ” por Zavan, B. & Bressan, E. (Eds.) 2016.	17
Figura 3 - Odontogénese: Fase de capuz. Adaptado de “ <i>Dental Stem Cells: Regenerative Potential, Stem Cell Biology and Regenerative Medicine</i> ” por Zavan, B. & Bressan, E. (Eds.) 2016.	18
Figura 4 - Odontogénese: Fase de sino. Adaptado de “ <i>Dental Stem Cells: Regenerative Potential, Stem Cell Biology and Regenerative Medicine</i> ” por Zavan, B. & Bressan, E. (Eds.) 2016.....	19
Figura 5 - Diferentes fases do desenvolvimento dentário. Adaptado de “ <i>Orban’s oral histology and embryology</i> ” por Bhaskar, S. N., Kumar, G. S. (Eds), 2015.	20
Figura 6 - Diagrama ilustrativo da histologia da polpa. Retirado de “ <i>Orban’s oral histology and embryology</i> ” por Bhaskar, S. N., Kumar, G. S. (Eds), 2015.	20
Figura 7 - Esquema representativo das células estaminais, fatores de crescimento e moléculas de sinalização presentes no coágulo de sangue (esquema original).	26
Figura 8 - Esquema representativo do protocolo para o TER utilizando PRF (esquema original).	27
Figura 9 - Esquema representativo do protocolo do TER sugerido pela AAE. (A) Mínima instrumentação e irrigação com NaClO e EDTA. (B) Aplicação de medicação intracanal: pasta tri ou di-antibiótica ou hidróxido de cálcio. (C) Irrigação com EDTA 17% e indução do sangramento apical. (D) Controlo do sangramento até à JAC. (E) Selamento com MTA ou outro material biocerâmico e restauração definitiva (esquema original).	30
Figura 10 - Fluxograma de acordo com a <i>guideline</i> PRISMA.	38
Figura 11 - Esquema referente aos grupos de heterogeneidade metodológica dos artigos incluídos neste trabalho (esquema original).	42
Figura 12 - Gráfico representativo dos resultados obtidos no parâmetro "Resolução de sinais e sintomas", no TEC e no TER, nos estudos conduzidos por Arslan et al. (2019), Brizuela et al. (2020) e Jha et al. (2019).	50

Figura 13 - Gráfico representativo dos resultados obtidos no parâmetro "Resposta ao teste elétrico", no TEC e no TER, nos estudos conduzidos por Arslan et al. (2019) e Brizuela et al. (2020).	50
Figura 14 - Gráfico representativo dos resultados obtidos no parâmetro "Melhoria radiográfica da lesão apical", no TER com recurso ao coágulo sanguíneo e ao PRF, nos estudos conduzidos por Mittal et al. (2021) e Youssef et al. (2022).	54
Figura 15 - Gráfico representativo dos resultados obtidos no parâmetro "Resposta ao teste elétrico", no TER com recurso ao coágulo sanguíneo e ao PRF, nos estudos conduzidos por Mittal et al. (2021) e Youssef et al. (2022).	55
Figura 16 - Gráfico <i>Traffic light plot</i> (RobVis tool) para análise do risco de enviesamento dos ensaios clínicos randomizados.	59
Figura 17 - Gráfico <i>summary plot</i> (RobVis tool) para análise enviesamento de ensaios clínicos randomizados.	60

Índice de tabelas

Tabela 1 - Tabela de evidência dos artigos incluídos na revisão sistemática.....	39
Tabela 2 - Tabela referente a cada intervenção realizada nos estudos incluídos na revisão sistemática.....	41
Tabela 3 - Resultados do estudo Arslan et al. (2019) aos 12 meses de <i>follow-up</i>	45
Tabela 4 - Resultados do estudo Brizuela et al. (2020) aos 12 meses de <i>follow-up</i>	47
Tabela 5 - Resultados do estudo Jha et al. (2019) aos 18 meses de <i>follow-up</i>	49
Tabela 6 - Resultados do estudo Mittal et al. (2021) aos 12 meses de <i>follow-up</i>	52
Tabela 7 - Resultados do estudo Youssef et al. (2022) aos 12 meses de <i>follow-up</i>	53
Tabela 8 - Resultados do estudo Abielhassan et al. (2021) aos 12 meses de <i>follow-up</i> .56	
Tabela 9 - Resultados do estudo El-Kateb et al. (2020) aos 12 meses de <i>follow-up</i>	58

Lista de siglas

AAE		<i>American Association of Endodontics</i>
AGF		Fator de crescimento angiogénico
BMP		Proteínas morfogénicas ósseas
DPSCs		Células estaminais da polpa dentária
EDTA		Ácido etilenodiamino tetra-acético
EGF		Fator de crescimento epidérmico
EPT		<i>Electric pulp test</i>
FGF		Fator de crescimento fibroblástico
IGF		Fator de crescimento semelhante à insulina
IRM		Material restaurador intermediário
JAC		Junção amelocimentária
LAP		Lima Apical Principal
LPO		Ligamento periodontal
MDPSCs		Células mesenquimais da polpa dentária
MRI		Imagem por ressonância magnética
MTA		Agregado de trióxido mineral
NaClO		Hipoclorito de sódio
OMS		Organização Mundial de Saúde
PAI		Índice periapical
PRF		<i>Platelet-rich fibrin</i>
PPP		<i>Platelet poor plasma</i>
PDGF		Fator de crescimento derivado das plaquetas
PIGF		Fator de crescimento da placenta
RET		<i>Regenerative endodontic treatment</i>
SCAPs		Células estaminais da papila apical
SHEDs		Células estaminais de dentes humanos decíduos exfoliados
SI		Intensidade do sinal
SWiM		<i>Synthesis without meta-analysis</i>
TEC		Tratamento endodôntico convencional
TER		Tratamento endodôntico regenerativo
TGF		Fator de crescimento transformador

UC-MSC | Células estaminais mesenquimais do cordão umbilical

VEGF | Fator de crescimento endotelial vascular

I. Introdução

O tratamento endodôntico regenerativo em dentes imaturos revela um bom prognóstico, resultando na redução da lesão periapical, quando presente, na completa formação da raiz e na manutenção ou recuperação da vitalidade do dente tratado (Chen et al., 2015). Em dentes imaturos, onde a raiz não se encontra totalmente formada e, consequentemente, com o ápex ainda não completamente encerrado, existe facilidade na regeneração do tecido pulpar a partir das células estaminais presentes não só na papila apical como também nos tecidos periodontais (Huang et al., 2008).

O tratamento endodôntico convencional (TEC) apresenta uma elevada taxa de sucesso clínico, uma vez que, na grande maioria dos casos tratados, ocorre redução da lesão apical e resolução dos sintomas (Pirani et al., 2015). No entanto, é possível identificar algumas desvantagens do TEC a longo prazo como, por exemplo, o enfraquecimento da estrutura dentária levando à fratura desta e, por outro lado, a possibilidade de reinfeção, conduzindo à necessidade de retratamento ou mesmo extração do dente (Chen et al., 2021). Isto poderá ocorrer, dado que, após submetido ao tratamento endodôntico, o dente perde os seus mecanismos propriocetivos e de defesa (Galler et al., 2021).

Nesta perspetiva, o tema desta revisão torna-se pertinente e atual, uma vez que, o tratamento endodôntico regenerativo permite a reposição da homeostase nos tecidos pulpares e a recuperação das células do sistema imunitário, permitindo ao dente reintegrar as suas defesas (He et al., 2017). Por outro lado, a taxa de sucesso deste tratamento quando aplicada em dentes maduros, ou seja, com a raiz totalmente formada e o ápex encerrado, ainda é pouco conhecida (Scelza et al., 2021).

1.1.Regeneração pulpar e tratamento endodôntico regenerativo

1.1.1. Aspetos fisiológicos

A polpa é parte integrante do complexo pulpo-dentinário. Este complexo é composto, além da polpa, pela dentina que a rodeia; também o esmalte, o cemento e o ligamento periodontal são componentes estruturais do dente. Os tecidos envolventes, como o osso

alveolar, são igualmente importantes na manutenção da saúde oral e dentária (Goldberg, 2014; Gardin et al., 2016).

Composto essencialmente por material inorgânico, nomeadamente cristais de hidroxiapatite (entre 96% a 97%), o esmalte é o tecido mais mineralizado do organismo humano (Bhaskar & Kumar, 2015; Lacruz et al. 2017). As células responsáveis pela formação do esmalte são os ameloblastos. Durante a erupção e desenvolvimento do órgão dentário, estes são reabsorvidos, deixando na zona coronal do dente uma espessa e complexa camada de matriz inorgânica – o esmalte, que protege os tecidos adjacentes – a dentina e a polpa. O esmalte desempenha, ainda, importantes funções na mastigação (Nanci, 2018).

O cemento é um tecido mineralizado, não vascularizado, que circunda a raiz do dente. Juntamente com o ligamento periodontal e o osso alveolar, permite a fixação do dente à maxila ou à mandíbula. É composto por cristais de apatite e uma matriz de colagénio. A sua porção acelular está localizada na região mais cervical da raiz do dente. À medida que se torna mais apical, o cemento torna-se celular. As células que o compõem tomam o nome de cementócitos (Bhaskar & Kumar, 2015; Nanci, 2018).

O osso alveolar comunica com a polpa através do forâmen apical. Na presença de uma infeção pulpar que leve a necrose, é possível que esta atinja o osso alveolar através da sua progressão no sistema de canais, dada a ausência de resposta imunológica na polpa (García et al., 2007).

A polpa e a dentina fazem parte de um complexo dinâmico, formando uma unidade estrutural e funcional (Galler et al., 2021).

A dentina é constituída por material orgânico e água (35%) e material inorgânico (65%). A porção inorgânica é composta essencialmente por cristais de hidroxiapatite e a porção orgânica integra diversos componentes, entre eles, o colagénio tipo I e algumas proteínas não colagénias como os proteoglicanos, glicoproteínas, a sialoproteína e fosfoproteína da dentina (Simon et al., 2012; Bhaskar & Kumar, 2015; Nanci et al., 2018). Além destes, a matriz orgânica conta também com a presença de alguns fatores de crescimento como, por exemplo, o fator de crescimento transformador (TGF), fator de crescimento

fibroblástico (FGF), fator de crescimento semelhante à insulina (IGF), proteínas morfogénicas ósseas (BMP), fator de crescimento epidérmico (EGF), fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), fator de crescimento da placenta (PIGF), fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e o fator de crescimento angiogénico (AGF) (Bhaskar & Kumar, 2015). A estrutura dentinária está organizada em túbulos, o que confere à dentina alguma permeabilidade (Nanci, 2018).

A polpa é constituída por tecido conjuntivo mesenquimatoso (Galler et al., 2021). Além dos vasos sanguíneos, é formada também por uma rede neuronal, linfática e fibroblastos impregnados numa matriz extracelular composta essencialmente por colagénio (Hargreaves et al., 2011).

Os odontoblastos, células localizadas na zona mais periférica da polpa, são responsáveis pela secreção de uma matriz de colagénio, que se altera, transformando-se no tecido conjuntivo mineralizado que compõe a dentina (Gardin et al., 2016). Os prolongamentos odontoblásticos estendem-se ao longo da pré-dentina e penetram os túbulos dentinários (Bhaskar & Kumar, 2015; Nanci, 2018)

O processo de secreção dentinária acontece de forma direcionada e ao longo de toda a vida, resultando na deposição de dentina secundária e terciária junto da câmara pulpar. Consequentemente, ao longo do tempo, existe uma diminuição do volume da câmara pulpar e aumento da espessura de dentina (Porto et al., 2015).

Na presença de lesões de cárie profundas ou trauma dentário, os odontoblastos são a primeira linha celular a entrar em contacto com as toxinas ou microorganismos, tendo um papel central na resposta inflamatória (Farges et al., 2013).

1.1.2. Aspetos histológicos - odontogénese

A odontogénese, processo de formação do órgão dentário, inicia-se muito cedo nos processos de desenvolvimento craniofacial. Este processo de desenvolvimento pressupõe interações ectodérmicas e ectomesenquimais (Bhaskar & Kumar, 2015).

Provenientes das células da crista neural, as células mesenquimatosas dão origem aos odontoblastos. Por outro lado, a ectoderme é responsável pela formação do epitélio oral e, por consequência, dos ameloblastos, levando à formação do órgão de esmalte (Soukup et al., 2008; Goldberg, 2014). Assim, o processo de odontogênese pressupõe interações constantes entre as células ectodérmicas e mesenquimais durante a embriogênese, uma vez que as células da crista neural são indiferenciadas e apenas desenvolvem a sua capacidade odontogênica na presença do epitélio oral (Tucker & Sharpe, 2014). Este processo de diferenciação celular encontra-se representado na **Figura 1**.

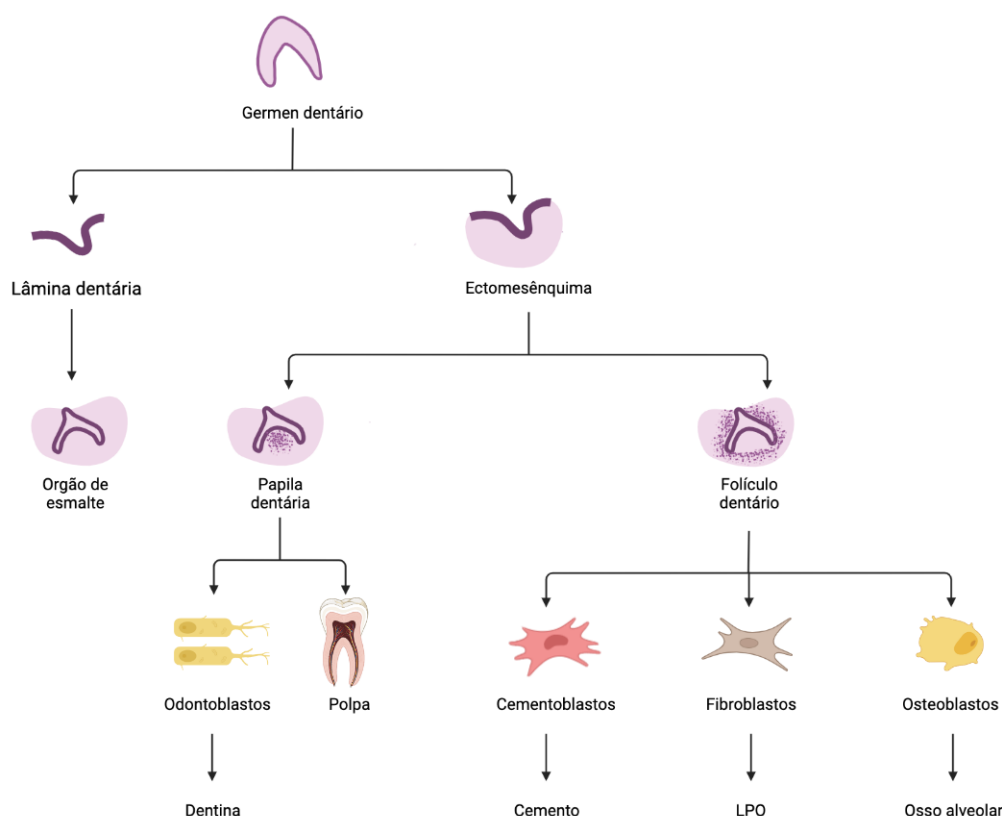


Figura 1 - Esquema representativo da odontogênese (esquema original).

A odontogênese compreende quatro fases distintas: a fase de iniciação, a fase de botão, a fase de capuz e a fase de sino. Durante este processo forma-se essencialmente a coroa do dente e posteriormente ocorre a formação da raiz (Tucker & Sharpe, 2014; Suchánek et al., 2016)

Durante a fase de iniciação ocorre um espessamento do epitélio oral, consequente da migração das células deste. Este espessamento provoca uma invaginação do epitélio oral para o ectomesênquima, formando a lâmina basal dentária. As células mesenquimatosas subjacentes formam uma camada de matriz extracelular. Constituindo a primeira fase de

formação do gérmen dentário, a fase de botão compreende uma proliferação e condensação das células ectomesenquimais ao redor do epitélio invaginado, resultando na formação daquilo a que chamamos “botão”, representado na **Figura 2**. (Tucker & Sharpe, 2014; Suchánek et al., 2016).

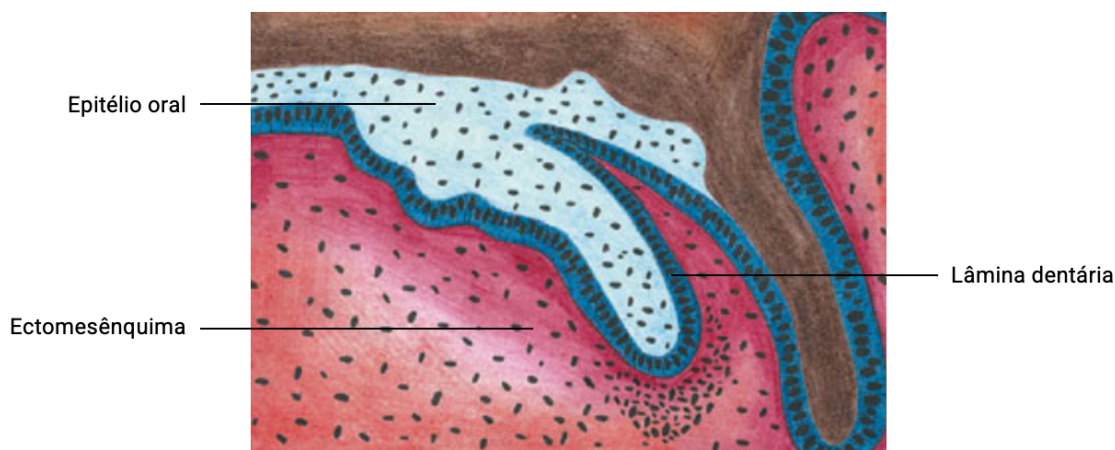


Figura 2 - Odontogênese: Fase de botão. Adaptado de “*Dental Stem Cells: Regenerative Potential, Stem Cell Biology and Regenerative Medicine*” por Zavan, B. & Bressan, E. (Eds.) 2016.

É durante as fases de capuz e de sino que se desenvolvem algumas das estruturas básicas essenciais: o órgão de esmalte, percussor do esmalte; a papila dentária, responsável pela formação da polpa e da dentina; e o folículo dentário, que atua como saco protetor das estruturas que envolve e dá origem ao cimento, ligamento periodontal e osso alveolar (Hargreaves et al., 2011; Suchánek et al., 2016). As células do ectomesênquima concentram-se na zona central do “botão”, provocando uma migração lateral das células do epitélio oral, formando o “capuz”. Nesta fase é possível observar a diferenciação entre o epitélio interno, externo e o retículo estrelado. Surge uma condensação do ectomesênquima que forma uma concavidade no órgão de esmalte, a papila dentária (Goldberg, 2014; Nanci, 2018). A fase de capuz encontra-se ilustrada na **Figura 3**.

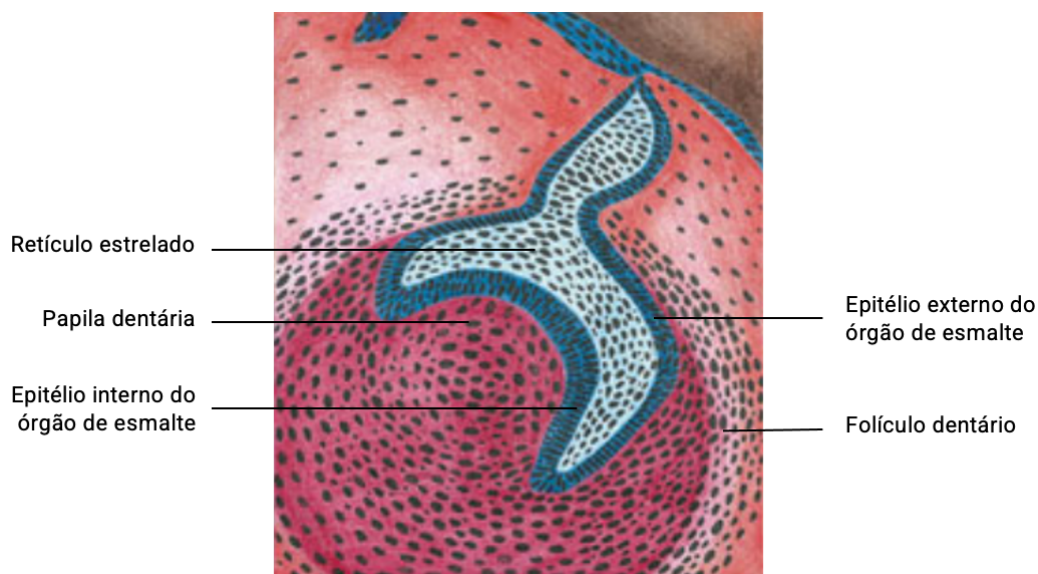


Figura 3 - Odontogênese: Fase de capuz. Adaptado de “*Dental Stem Cells: Regenerative Potential, Stem Cell Biology and Regenerative Medicine*” por Zavan, B. & Bressan, E. (Eds.) 2016.

A fase de sino, apresentada na **Figura 4**, compreende a fase final de desenvolvimento do gérmen dentário, constituindo uma fase de morfo e histodiferenciação. O epitélio interno e externo convergem numa zona denominada de “alça cervical” que forma a bainha epitelial de Hertwig. É nesta zona que acontece o controlo do crescimento radicular, na direção apical (Goldberg, 2014; Nanci, 2018).

Nesta fase, existe um aumento da atividade do folículo dentário, que provoca o isolamento do gérmen dentário do epitélio oral. É também nesta fase que ocorre a ativação do órgão de esmalte e diferenciação da camada interna deste em pré-ameloblastos, por alongamento celular, induzindo também a diferenciação da papila dentária em odontoblastos. Posteriormente, ocorre secreção de pré-dentina por parte dos odontoblastos, provocando a maturação dos pré-ameloblastos em ameloblastos (Tucker & Sharpe, 2014; Nanci, 2018).

Os ameloblastos irão secretar o esmalte para a formação da coroa, e os odontoblastos prosseguem com a secreção da matriz de dentina. Ao terminar a amelogénese, os ameloblastos sofrem degeneração (Suchánek et al., 2016).

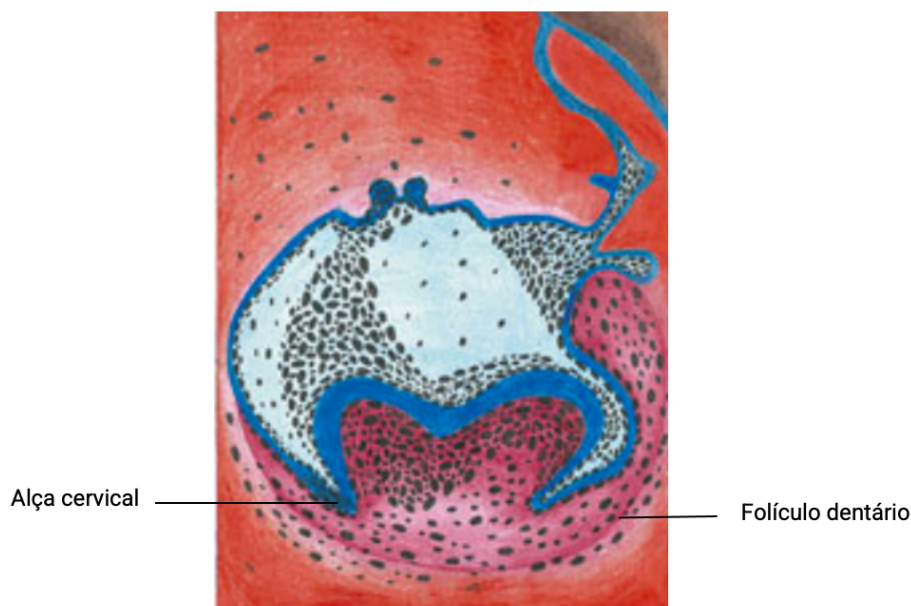


Figura 4 - Odontogênese: Fase de sino. Adaptado de “*Dental Stem Cells: Regenerative Potential, Stem Cell Biology and Regenerative Medicine*” por Zavan, B. & Bressan, E. (Eds.) 2016.

Como referido anteriormente, os odontoblastos exercem a função de secreção da matriz de dentina durante o desenvolvimento dentário, dando origem, inicialmente à coroa do dente e, mais tarde, à raiz (Hargreaves et al., 2011; Goldberg, 2014).

Durante a fase final de formação do gérmen dentário, os pré-odontoblastos migram para apical, junto à bainha de Hertwig, diferenciando-se em odontoblastos radiculares. É também neste momento que, entre outros fatores, as células mesenquimais do folículo dentário infiltram os espaços criados na bainha de Hertwig, denominados de epitélio de Malassez, e formam o ligamento periodontal. As células epiteliais presentes diferenciam-se em cementoblastos e, mais tarde, em cementócitos. Algumas células do epitélio de Malassez permanecem dentro do ligamento periodontal, passando a denominar-se de restos de células epiteliais de Malassez (Hargreaves et al., 2011; Goldberg, 2014).

Ocorre, por último, a formação da raiz e alongamento da polpa. Após a formação da camada mais externa de dentina – camada granular de Tomes ou camadas amorfas de Hopewell-Smith, a dentina circumpulpar inicia a sua organização em dentina tubular (Goldberg, 2014).

A **Figura 5** ilustra o desenvolvimento e evolução do processo de odontogênese.

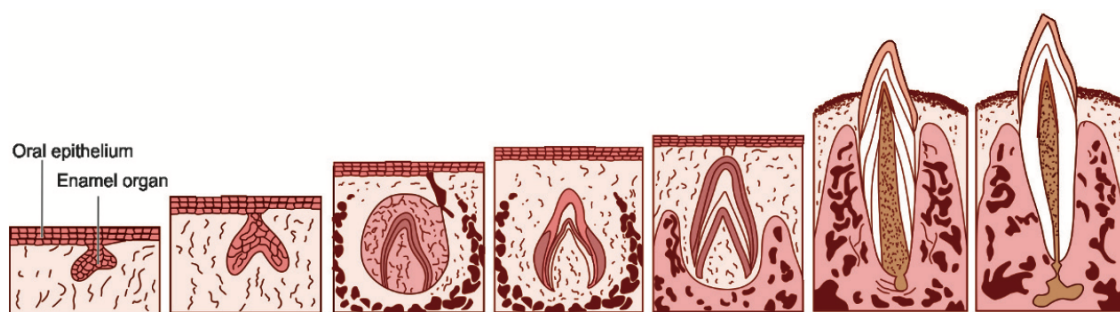


Figura 5 - Diferentes fases do desenvolvimento dentário. Adaptado de “*Orban’s oral histology and embryology*” por Bhaskar, S. N., Kumar, G. S. (Eds), 2015.

Histologicamente, é possível diferenciar algumas zonas da polpa: zona ou camada odontoblástica, zona acelular ou de Weil, zona celular e zona central. É possível identificar diferentes tipos de células, como fibroblastos, células estaminais, neuronais, vasculares e ainda do sistema imunitário. Além destas, estão também presentes algumas células oriundas de estruturas anexas ao dente, que acabam por migrar para este, como, por exemplo, células provenientes do osso alveolar (Nanci, 2018).

Na **Figura 6** é possível observar as diferentes zonas histológicas presentes na polpa.

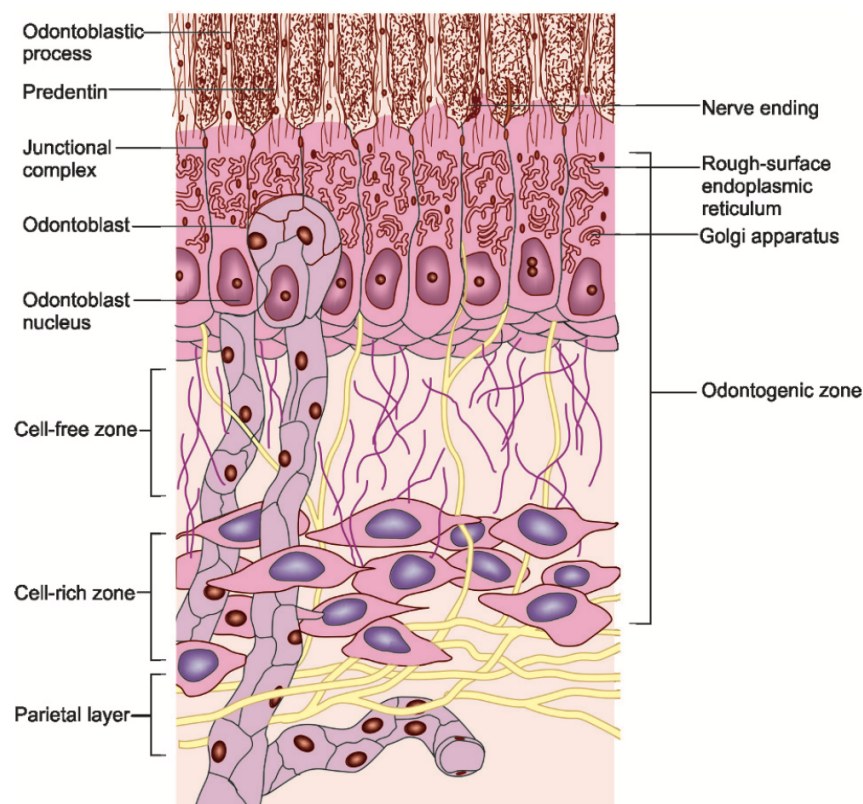


Figura 6 - Diagrama ilustrativo da histologia da polpa. Retirado de “*Orban’s oral histology and embryology*” por Bhaskar, S. N., Kumar, G. S. (Eds), 2015.

A camada mais periférica da polpa, responsável pela secreção da matriz dentinária e pré-dentinária, é composta por odontoblastos e células de Hoehl's. Os odontoblastos são compostos pelo corpo celular e por uma extensão deste – o prolongamento odontoblástico. Estes prolongamentos têm a capacidade de atravessar a pré-dentina e penetrar os túbulos de dentina podendo estender-se até à junção amelodentinária (Goldberg, 2014; Nanci, 2018).

A dimensão destas células é variável ao longo do dente, observando-se odontoblastos de maiores proporções na zona coronal. É também microscopicamente possível detetar diferenças nas dimensões dos odontoblastos de acordo com o seu estado de atividade, apresentando-se mais alongados quando ativos (Nanci, 2018).

A atividade odontoblástica diminui com o tempo e a dentinogénese primária termina quando o dente se torna funcional, através do contacto oclusal. No entanto, os odontoblastos continuam implicados na manutenção da dentina e formação de dentina secundária (Goldberg, 2014).

As células de Hoehl estão também presentes na camada mais periférica, ainda que subjacentes às camadas de odontoblastos. Estas células são consideradas subodontoblastos, responsáveis pela substituição dos odontoblastos quando estes sofrem apoptose. Estas células são também denominadas de odontoblastos de segunda geração, contribuindo para a formação de dentina reacionária (Goldberg, 2014).

Uma camada acelular, ou camada de Weil, encontra-se inferiormente à camada odontoblástica e das células de Hoehl (Goldberg, 2014). Esta camada permite a movimentação dos odontoblastos durante o processo de dentinogénese (Bhaskar & Kumar, 2015).

A zona celular da polpa encontra-se fundamentalmente na porção coronal desta e é essencialmente constituída por fibroblastos. Tal como os odontoblastos, a morfologia dos fibroblastos varia de acordo com o seu estado funcional (Nanci, 2018). Durante os estágios de desenvolvimento embrionário, o número de fibroblastos está reduzido em comparação a outros componentes. No entanto, no estado maduro da polpa, os fibroblastos são as células presentes em maior número. A sua função passa pela formação

de fibras de colagénio e manutenção da matriz pulpar, estando implicados na degradação e secreção desta (Bhaskar & Kumar, 2015; Nanci, 2018).

As células ectomesenquimatosas indiferenciadas estão maioritariamente presentes na zona celular, mas também dispersas na zona central da polpa. Estas células, consideradas totipotentes, são responsáveis pela formação de tecido conjuntivo pulpar e, de acordo com o estímulo que recebem, são capazes de se diferenciar tanto em fibroblastos como em odontoblastos ou mesmo em macrófagos. O número de células ectomesenquimatosas indiferenciadas diminui significativamente após a formação da raiz estar completa e com o avançar da idade, diminuindo, consequentemente, o potencial regenerador da polpa (Bhaskar & Kumar, 2015; Nanci, 2018).

Além dos fibroblastos, odontoblastos e células ectomesenquimatosas indiferenciadas, a polpa é ainda constituída por células do sistema imunitário, responsáveis pela resposta inflamatória. São estas os macrófagos, presentes na zona central da polpa normalmente associados a vasos sanguíneos, os leucócitos, linfócitos T e células dendríticas (Bhaskar & Kumar, 2015; Nanci, 2018).

Por último, estão presentes as células estaminais – células estaminais da polpa (DPSCs) e células estaminais de dentes decíduos exfoliados (SHEDs). Estas células estão presentes em maior número na zona coronal da polpa e apresentam potencial para se diferenciarem em odontoblastos ou dentina reparadora (Bhaskar & Kumar, 2015). As células estaminais presentes na polpa podem ainda diferenciar-se em osteoblastos, permitindo regeneração óssea (Nanci, 2018).

A porção extracelular da polpa é constituída pelo substrato e por fibras de colagénio tipo I e tipo III, que aumentam com a idade e se encontram em maior concentração na porção mais apical da polpa. O substrato é composto por glicosaminoglicanos, glicoproteínas, proteoglicanos e água, responsáveis por nutrir e manter a sobrevivência celular (Bhaskar & Kumar, 2015; Nanci, 2018).

A rede vascular presente na polpa tem a sua origem nas artérias alveolar superior e inferior. É uma rede relativamente extensa, que através do forâmen apical e dos canais acessórios mantém a sua comunicação com o periodonto. Os vasos sanguíneos

provenientes do periodonto entram pelo forâmen apical, adquirindo um aumento do calibre do lúmen e uma redução da espessura da parede do vaso e seguem pelo canal em direção à porção coronal do dente. Ao longo do percurso formam-se inúmeros ramos que continuam o seu trajeto em direção às camadas odontogénicas, localizadas na periferia, formando plexos vasculares. Foram identificadas células contrácteis na periferia dos capilares - pericitos, capazes de provocar uma redução no lúmen dos vasos. Além disto, foram também observadas na polpa anastomoses arteriovenosas. As veias e vénulas possuem lúmenes com um diâmetro ligeiramente superior ao das arteríolas, no entanto, possuem paredes mais finas (Bhaskar & Kumar, 2015; Nanci, 2018).

O sistema linfático presente na polpa exerce um papel fundamental como barreira imunológica. Os vasos linfáticos apresentam paredes finas e encontram-se em maior número na porção central da polpa, acompanhando os vasos sanguíneos no seu trajeto (Bhaskar & Kumar, 2015)

Relativamente à inervação pulpar, esta acompanha os vasos sanguíneos no seu percurso. A inervação da polpa é constituída por neurónios aferentes, que conduzem impulsos sensoriais e neurónios eferentes, responsáveis pela resposta inflamatória e modulação neurogénica. A inervação simpática provém do gânglio cervical superior. A partir daí, os nervos seguem o trajeto da carótida interna, unindo-se ao nervo trigémeo. Posteriormente, entram na polpa através do forâmen apical, junto às arteríolas e vénulas. Na polpa, é possível observar dois tipos de fibras nervosas sensoriais: fibras mielinizadas (fibras A) e não mielinizadas (fibras C) (Hargreaves et al., 2011; Goldberg, 2014; Bhaskar & Kumar, 2015).

Uma vez alcançada a porção coronária da polpa, os axónios periféricos formam uma rede nervosa, junto à zona celular, a qual se denomina de camada nervosa parietal ou plexo de Raschkow. Alguns axónios provenientes da zona parietal passam pela zona celular e pela zona de Weil e terminam. Outros, continuam o seu trajeto entre os odontoblastos para terminar junto ao processo odontoblástico na zona de transição polpa-dentina ou mesmo nos túbulos dentinários. Os terminais nervosos junto dos odontoblastos são recetores sensoriais (Hargreaves et al., 2011; Goldberg, 2014; Bhaskar & Kumar, 2015).

1.1.3. Variáveis que influenciam a regeneração pulpar

A regeneração pulpar pressupõe a resolução de infecção no canal pulpar e a recuperação dos tecidos (Althumairy et al., 2014).

Uma das principais variáveis a ter em consideração para o sucesso da regeneração pulpar é a desinfecção do canal. A preparação do canal passa pela remoção química e mecânica do tecido pulpar infetado. Tal como acontece no tratamento endodôntico convencional, na ausência de uma desinfecção eficaz, o tratamento não poderá atingir o sucesso. No tratamento endodôntico regenerativo (TER), a remoção do tecido deve ser realizada da forma menos traumática possível, uma vez que, para a regeneração pulpar é necessária a presença de células estaminais provenientes dos tecidos apicais e fatores de crescimento que serão libertados pela dentina (Ruparel et al., 2019).

Além da instrumentação e irrigação do canal, uma outra etapa é crucial para a eliminação de microorganismos do canal – a medicação intracanal. A medicação intracanal é colocada no canal radicular após realizado o desbridamento, com o objetivo de eliminar os microorganismos que possam subsistir (Ruparel et al., 2019). São recorrentemente usadas as pastas tri-antibióticas, compostas por metronidazol, ciprofloxacina, minociclina, di-antibióticas, compostas por metronidazol e ciprofloxacina, e materiais compostos por hidróxido de cálcio (Althumairy et al., 2014).

Três condições são fundamentais para que seja possível atingir a regeneração tecidual: presença de células estaminais, *scaffolds* e fatores de crescimento (Althumairy et al., 2014; Ruparel et al., 2019).

Relativamente à presença de células estaminais, uma das maiores limitações do tratamento endodôntico regenerativo em dentes maduros prende-se com o facto de o número de células estaminais da papila apical (SCAPs) presentes ser muito reduzido ou mesmo inexistente. Em dentes maduros, com o ápex totalmente encerrado, as SCAPs tomam o nome de DPSCs – células estaminais da polpa dentária (Paryani et al., 2013).

As DPSCs apresentam uma reduzida capacidade de diferenciação em odontoblastos, uma vez que se apresentam maioritariamente como fibroblastos da polpa em diferentes estados

de maturação (Mao et al. 2012). Assim, para a realização do tratamento endodôntico regenerativo utilizando DPSCs, estas teriam de ser extraídas através de pulpectomia de outro dente e introduzidas no dente submetido a tratamento, uma vez que, após a preparação mecânica do canal radicular, resta apenas uma quantidade muito reduzida de DPSCs no canal (Angelopoulos et al., 2022). Deste modo, as células responsáveis pela regeneração pulpar nestes casos são principalmente as células provenientes de outras estruturas peri-radulares como o ligamento periodontal, o osso alveolar ou outros nichos periapicais (He et al., 2017).

O TER em dentes maduros pode ser levado a cabo de duas formas distintas: (1) através de transplante celular, em que as células são isoladas e cultivadas *ex vivo* – fora do organismo, para serem posteriormente transplantadas para o hospedeiro ou (2) através de um processo de *cell homing*, em que as células presentes no organismo, neste caso as células estaminais residentes nas estruturas periapicais, são recrutadas por moléculas de sinalização e migram para um compartimento anatómico, neste caso a polpa dentária (He et al., 2017; Eramo et al., 2018).

O processo de transplante celular pode ser realizado utilizando células estaminais autólogas ou alogénicas. Este procedimento permite um maior controlo do número celular (Brizuela et al., 2020). No entanto, o conceito de *cell homing* parece apresentar outras vantagens, uma vez que dispensa o isolamento e manipulação celular *ex vivo*, diminuindo a probabilidade de contaminação e rejeição pelo hospedeiro (Mao et al., 2012, Eramo et al., 2018).

Para que o processo de *cell homing* possa ocorrer, é essencial que haja estimulação da migração celular. De modo a que as células estaminais presentes junto ao ápex possam migrar para o canal radicular e exercer o seu potencial regenerativo, é necessário que seja provocado sangramento no forâmen apical. A sobre instrumentação com limas endodônticas manuais tem sido o método utilizado para indução do sangramento apical e migração celular na direção do sistema canalar (Paryani et al., 2013), consequente de uma interação entre fatores de crescimento presentes no sangue e células estaminais provenientes da papila apical e outras estruturas periapicais, como referido anteriormente (He et al., 2017; Eramo et al., 2018).

Parece evidente que esta interação entre fatores de crescimento, citocinas e células estaminais é essencial para a migração, proliferação e diferenciação celular (Narang et al., 2015).

O coágulo sanguíneo que se forma após indução do sangramento desempenha a função de *scaffold* - uma estrutura que serve de base às células estaminais, composta por moléculas de sinalização e fatores de crescimento que permitem a adesão, proliferação, diferenciação e desenvolvimento celular (Narang et al., 2015), como apresentado na **Figura 7**. Tem sido sugerido que a presença de um *scaffold* adequado é também um passo crucial para o sucesso da regeneração tecidual. Estes devem apresentar biocompatibilidade e ser biodegradáveis (Galler, 2014).

Diversos tipos de *scaffolds* têm vindo a ser desenvolvidos na área da engenharia tecidual. Podem ser constituídos por biomateriais naturais, como colagénio, fibrina, ácido hialurónico, entre outros, podem também ser feitos a partir de biomateriais sintéticos, como ácido poliláctico (PLA) ou mesmo materiais inorgânicos como por exemplo a hidroxiapatite (Hilkens et al., 2019).

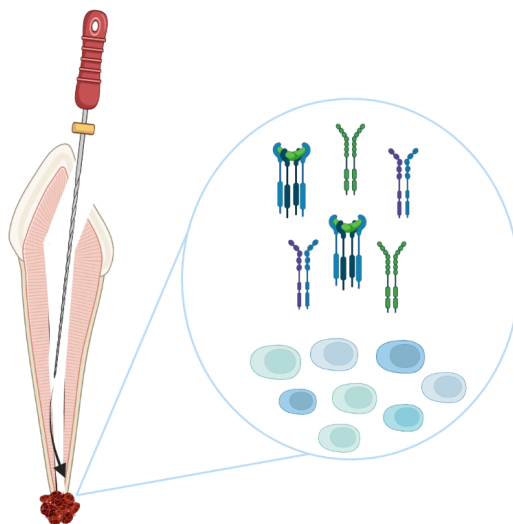


Figura 7 - Esquema representativo das células estaminais, fatores de crescimento e moléculas de sinalização presentes no coágulo de sangue (esquema original).

Uma das técnicas que tem vindo a ser desenvolvida para obtenção de um *scaffold* rico em fatores de crescimento é a introdução de um concentrado de *platelet rich fibrin* (PRF) no canal radicular. Para a obtenção deste concentrado é necessária uma amostra de sangue do paciente, habitualmente extraído do antebraço do mesmo. Posteriormente, é colocado num tubo experimental, sem a adição de anticoagulantes, e transferido para a

centrifugadora. Após centrifugado, o tubo apresenta três camadas distintas: uma camada superficial acelular (*platelet poor plasma* - PPP), uma camada intermédia de PRF e uma camada inferior composta maioritariamente por glóbulos vermelhos (Donah et al., 2010). O PRF é extraído do tubo, formando uma membrana. Após ser induzido o sangramento apical no dente, a membrana é fragmentada e colocada no canal por incrementos, como representado (Nageh et al., 2018). A **Figura 8** ilustra este processo.

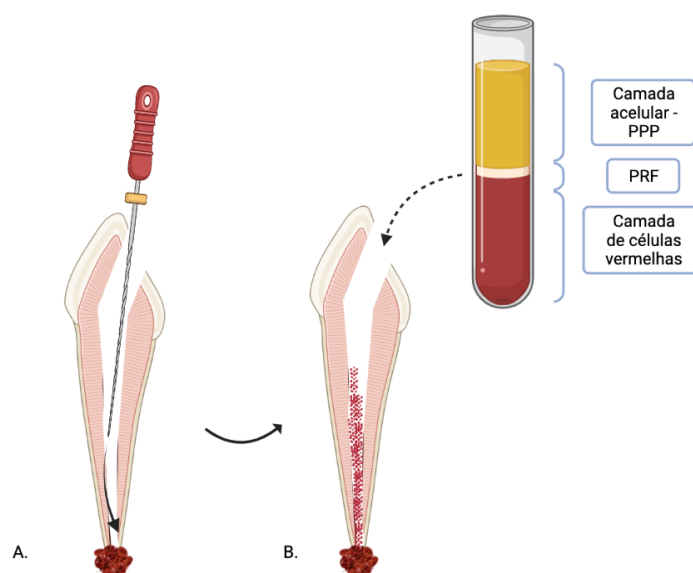


Figura 8 - Esquema representativo do protocolo para o TER utilizando PRF (esquema original).

Além de ser um material autólogo, apresentando assim reduzida probabilidade de reações imunológicas por parte do hospedeiro (Narang et al., 2015), a membrana de PRF possui elevada elasticidade e resistência, permitindo que esta não se dissolva de imediato e possibilitando a libertação de fatores de crescimento e citoquinas a longo prazo (He et al., 2009), direcionando a migração, proliferação e diferenciação celular e promovendo o processo de angiogénese (Roy et al., 2011).

Assim, entre outras variáveis que poderão ter influência no sucesso do tratamento, destacam-se a desinfecção do canal, a maturidade do dente, a presença de células estaminais e o *scaffold* utilizado (Galler, 2014; Galler et al., 2015). Deve ser também considerado um eficiente selamento coronal, de modo a prevenir a reinfeção (Peralta et al., 2014).

1.2. Protocolo tratamento endodôntico regenerativo

Segundo dados publicados pela Organização Mundial de Saúde (OMS) em 2017, a cárie dentária representa uma das doenças com maior prevalência na população adulta.

A cárie dentária é consequência do complexo processo de desmineralização provocado pela placa bacteriana presente, a atividade metabólica e as oscilações de pH (Cuenca & Baca, 2013; Ionescu et al., 2022). Apesar de ser um processo reversível, na presença de iões de cálcio, fosfato e aumento do pH, este poderá alterar irreversivelmente o esmalte (Ionescu et al., 2022). O processo de desmineralização poderá então progredir pela dentina e, por meio de difusão bacteriana, afetar a polpa. Ao aproximar-se da polpa, origina uma resposta inflamatória por parte desta, mediada por citocinas pró-inflamatórias (Cooper et al., 2014).

A pulpíte caracteriza-se por uma inflamação da polpa que poderá ser reversível em estados iniciais, ou, se não tratada, haverá uma elevada probabilidade de se tornar irreversível. Num estado mais avançado, a resposta inflamatória não reversível poderá conduzir a necrose pulpar. Na realização dos testes pulpares, são normalmente utilizados o teste ao frio complementado com o teste elétrico, no entanto, também o teste ao calor pode ser realizado (Hargreaves, 2011). A pulpíte irreversível caracteriza-se, geralmente, pelo prolongamento ou intensificação da dor quando aplicado o estímulo; ocasionalmente, esta pode ser assintomática. Na presença de necrose pulpar, haverá ausência de resposta ao estímulo (Peters, 1994).

Em último caso, por consequência da disseminação bacteriana por todo o canal radicular, a infecção poderá propagar-se até ao espaço periapical. Clinicamente, caracteriza-se por dor à palpação e/ou à percussão, compatível com inflamação do ligamento periodontal. Por vezes, poderá ser assintomática. Radiograficamente, traduz-se numa radiotransparência associada ao ápex do dente a ser avaliado e espessamento do ligamento periodontal (Hargreaves, 2011).

A presença de infecção no canal radicular constitui um dos maiores desafios no tratamento endodôntico regenerativo (Fouad et al., 2020), uma vez que o canal radicular possui uma anatomia algo complexa, capaz de alojar microorganismos nos seus istmos, canais

acessórios e túbulos dentinários (Chen et al., 2021). Dado que o principal objetivo do tratamento endodôntico regenerativo é o preenchimento do canal com tecido vital, desprovido de microrganismos, o protocolo de desinfecção deve ser suficientemente eficaz para que todo o tecido infetado seja removido e, deste modo, a permanência de microrganismos seja impedida (Law, 2013).

Apenas têm indicação para tratamento canal - endodôntico convencional ou regenerativo, os dentes com níveis de infecção avançados e irreversíveis (Hargreaves, 2011).

A *American Association of Endodontics* (AAE) sugere um protocolo, revisto em 2021, para o tratamento endodôntico regenerativo em dentes imaturos. Assim, não existe ainda um protocolo para este tratamento em dentes maduros.

Apesar de pequenas variações que poderão ocorrer entre tratamentos, a maioria dos clínicos segue o protocolo sugerido por Murray et al., em 2007, que passa, assim como o protocolo sugerido pela AAE, pela mínima ou nenhuma instrumentação do canal e irrigação com hipoclorito de sódio (NaClO) a uma concentração de 1,5%-3% (20mL/canal, 5 min) e uma solução salina ou ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) (20mL/canal, 5 min) a 1 mm do ápex, diminuindo assim a citotoxicidade e promovendo a sobrevivência celular.

O protocolo da AAE propõe a posterior aplicação de medicação intracanal, que poderá ser hidróxido de cálcio, pasta tri-antibiótica a baixas concentrações, composta por ciprofloxacina, metronidazol e minociclina ou pasta di-antibiótica que dispensa a minociclina. Ambas devem ser colocadas abaixo da junção amelocimentária (JAC) para prevenir a descoloração dentária.

O selamento deve ser realizado com recurso a um material provisório como o Cavit®, IRM®, ou um outro cimento de ionómero de vidro.

A segunda consulta deve ser realizada uma a quatro semanas após a primeira. Nesta consulta, o fármaco anestésico a ser utilizado deverá ser a mepivacaína a 3% sem vasoconstritor, permitindo assim, o sangramento apical. É realizada a remoção da

medicação intracanal e irrigação com EDTA a 17%, com posterior indução do sangramento apical e, em alguns casos, introdução de *scaffolds* ou mesmo de células estaminais provenientes de outras fontes. Após controle do sangramento abaixo da JAC, deverá ser colocado MTA ou outro material biocerâmico, como por exemplo o Biodentine®. Posteriormente deve ser colocado um cimento de ionômero de vidro e uma restauração definitiva.

A **Figura 9** ilustra o procedimento para o TER sugerido pela AAE.

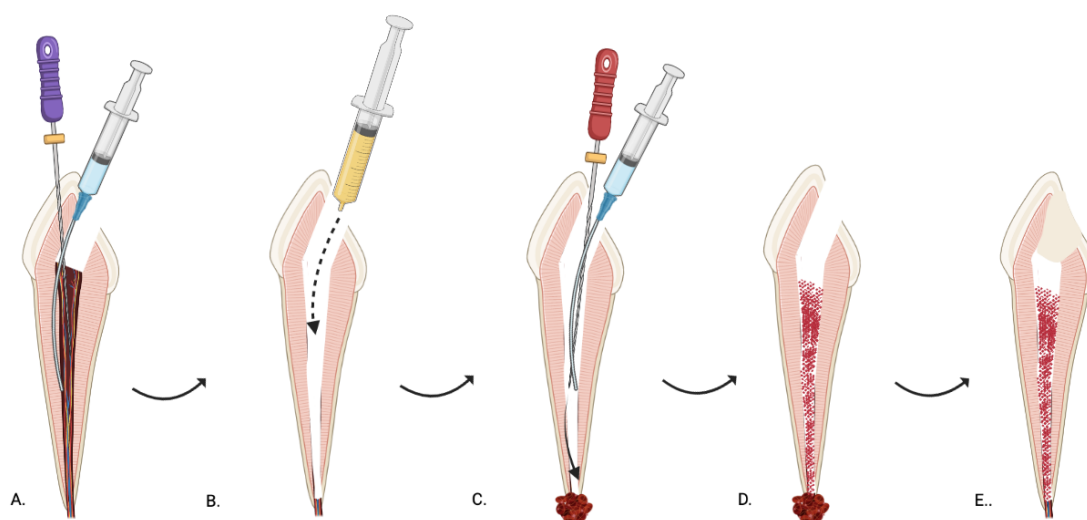


Figura 9 - Esquema representativo do protocolo do TER sugerido pela AAE. (A) Mínima instrumentação e irrigação com NaClO e EDTA. (B) Aplicação de medicação intracanal: pasta tri ou di-antibiótica ou hidróxido de cálcio. (C) Irrigação com EDTA 17% e indução do sangramento apical. (D) Controle do sangramento até à JAC. (E) Selamento com MTA ou outro material biocerâmico e restauração definitiva (esquema original).

1.3.Avaliação e sucesso clínico

Múltiplos fatores têm influência nos mecanismos de regeneração nervosa, entre eles a presença de *scaffolds* como o PRF, que libertam diversos fatores de crescimento envolvidos na neurogênese; a irrigação com EDTA a 17%, que também promove a libertação de fatores de crescimento das paredes dentinárias; a presença de DPSCs e de células estaminais do osso alveolar capazes de se diferenciar em células nervosas; a presença de células estaminais do ligamento periodontal, que apresentam marcadores de células da crista neural indiferenciadas, também capazes de se diferenciar em células nervosas; entre outros fatores (Arthur et al., 2009; Huang et al., 2009; Nageh et al., 2018).

A resposta positiva aos testes de sensibilidade sugere a presença de tecido vital (Nageh et al., 2018); no entanto, não indica necessariamente que o novo tecido formado seja semelhante ao tecido pulpar normal (Nakashima & Iohara, 2014). Estudos realizados em animais reportaram que, histologicamente, este novo tecido apresenta características de cimento, ligamento periodontal e osso alveolar (Zhou et al., 2017).

Apenas uma avaliação histológica permitiria confirmar a regeneração do tecido pulpar, permitindo a observação microscópica de um novo tecido com a mesma estrutura e função da polpa. No entanto, esta avaliação não é clinicamente possível (Altafi et al., 2017).

Segundo as considerações da AAE, o *follow-up* deve ser realizado aos 6, 12 e 24 meses. Em todas as consultas de *follow-up* devem ser avaliados os seguintes parâmetros: avaliação dos sintomas de dor à palpação e percussão, edema, avaliação radiográfica para análise da evolução da radiotransparência apical e da espessura das paredes dentinárias e testes de sensibilidade pulpar.

Diversos estudos consideram entre dois a três parâmetros de sucesso, sendo que o primeiro se refere à eliminação de sinais e sintomas, ou seja, ausência de dor à palpação e percussão, ausência de sinais inflamatórios e ausência ou redução da radiotransparência apical. O segundo parâmetro poderá ser referente ao aumento da espessura das paredes dentinárias e, por último, o terceiro diz respeito a uma resposta positiva aos testes de sensibilidade – teste elétrico e teste ao frio (Arslan et al., 2019; Jha et al., 2019; Brizuela et al., 2020; El-Kateb et al., 2020; American Association of Endodontics, 2021; Abielhassan et al., 2021; Mittal et al., 2021; Youssef et al., 2022).

Neste sentido, esta revisão sistemática pretende avaliar o sucesso clínico do tratamento endodôntico regenerativo em dentes maduros monorradiculares. Por outras palavras, dentes com apenas uma raiz, totalmente formada e com o ápex encerrado.

II. Materiais e Métodos

O protocolo desta revisão sistemática foi reportado segundo a *guideline* da *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analyses* – PRISMA (Page et al., 2021) e a *guideline Synthesis Without Meta-analysis* – SWiM (Campbell et al., 2020).

2.1. Definição da pergunta de investigação

Para elaboração da pergunta de investigação do presente trabalho, foi utilizada a metodologia PICO(T):

P (população): Dentes permanentes maduros monorradiculares com diagnóstico pulpar de pulpite irreversível ou necrose;

I (intervenção): Tratamento endodôntico regenerativo;

C (comparação): Não aplicável;

O (*outcomes*): Sucesso primário e/ou secundário ou insucesso da intervenção;

T (time): *Follow-up* de, pelo menos, um ano.

2.2. Critérios de seleção de estudos

Foram considerados critérios de inclusão e exclusão de estudos, de forma a responder à pergunta de investigação proposta.

Critérios de inclusão

- i. Dentes permanentes maduros monorradiculares;
- ii. Diagnóstico pulpar de pulpite irreversível ou necrose;
- iii. Estudos com *follow-up* de, pelo menos, um ano;
- iv. *Randomized controlled trials*.

Critérios de exclusão

- i. Dentes multirradiculares;
- ii. Dentes permanentes imaturos;

- iii. Dentes decíduos;
- iv. Estudos realizados em animais ou *in vitro*;
- v. *Case reports*.

2.3. Estratégia de pesquisa sistemática

O levantamento bibliográfico foi realizado até março de 2022, com recurso a três bases de dados eletrônicas: *B-on*, *PubMed* e *Scopus*.

Foram utilizadas as palavras-chave: “mature teeth”, “regenerative endodontics” e “case report” combinadas entre elas, permitindo abranger todos os estudos possivelmente relevantes para o trabalho.

Os operadores booleanos *AND* e *NOT* foram aplicados nas bases de dados utilizadas, de modo a obter resultados de pesquisa pertinentes e de acordo com os objetivos.

Os seguintes algoritmos de pesquisa foram aplicados:

PubMed: “mature teeth” AND “regenerative endodontics” NOT “case report”

B-on: “mature teeth” AND “regenerative endodontics” NOT “case report”

Scopus: “mature teeth” AND “regenerative endodontics” NOT “case report”

Posteriormente à pesquisa realizada nas bases de dados eletrônicas, foi efetuada uma pesquisa manual de referências bibliográficas dos artigos selecionados, de modo a abranger artigos com possível interesse para a investigação e que não tenham sido incluídos na estratégia de pesquisa previamente utilizada.

2.4. Seleção dos estudos

Após realizada a pesquisa sistemática nas bases de dados eletrônicas, foram removidos todos os duplicados, com recurso à plataforma *Mendeley Desktop* 1.19.8. de modo a evitar repetições na análise de artigos.

Posteriormente, foi efetuada uma triagem criteriosa de todos os artigos possivelmente elegíveis, tendo em conta os títulos e *abstracts*. Foram excluídos quaisquer artigos que não cumpriam os critérios de inclusão previamente enunciados.

Os artigos que respeitavam os critérios de inclusão foram revistos e foram retirados todos aqueles que compreendiam algum dos critérios de exclusão anteriormente mencionados. Os restantes artigos foram lidos integralmente e analisados de acordo com os critérios e variáveis da tabela da revisão sistemática.

2.5.Recolha e processamento de dados

Nos artigos que integram esta revisão foram manualmente recolhidas e analisadas diversas variáveis por dois investigadores independentes. As variáveis avaliadas foram: tipo de estudo, grupo controlo, tipo de dentição, número de raízes, diagnóstico pulpar e periodontal pré-operatório, irrigação primária, irrigação final, medicação intracanal, material regenerativo, calibre apical, *follow-up*, teste sensibilidade ao frio, teste elétrico, avaliação radiográfica, sucesso clínico.

2.6.Avaliação do risco de viés

O estudo do risco de viés dos artigos incluídos na revisão sistemática permite uma correta análise dos mesmos.

A avaliação do risco de viés foi realizada e discutida por dois investigadores independentes, com recurso à escala *Revised Cochrane risk-of-bias tool for randomized trials (RoB 2)* (Sterne et al., 2019).

A ferramenta utilizada é constituída por cinco domínios (D1, D2, D3, D4, D5). Cada um dos domínios contempla uma série de perguntas que podem ser respondidas com “Sim” (*Yes*), “Provavelmente sim” (*Probably yes*), “Não” (*No*), “Provavelmente não” (*Probably not*) ou “Não há informação” (*No information*). Estas perguntas devem ser respondidas de forma independente, para que cada domínio seja direcionado para o risco de viés adequado – “Alto” (*High*), “Baixo” (*Low*) ou “Incerto” (*Some concerns*).

Obtém-se um risco de enviesamento alto na coluna *overall* quando existe, pelo menos, um domínio com elevado risco de viés. Sempre que existe um estudo com um dos domínios classificado como “Incerto” na coluna do *overall* o resultado será “Incerto”. Assim, um estudo com baixo risco de viés na coluna *overall* terá de ter todos os domínios classificados como “Baixo”.

Os resultados obtidos a partir desta ferramenta foram seguidamente colocados sobre forma de gráfico de barras empilhadas (*Summary plot*) e tabela de dupla entrada (*Traffic light plot*), realizados nos programas Microsoft Excel e Robvis (McGuinness & Higgins, 2020).

2.7. Justificação da *guideline* utilizada – SWiM

Devido à variabilidade metodológica utilizada nos diferentes estudos incluídos nesta revisão sistemática, não foi possível a realização de uma análise estatística, optando-se por um método de síntese de resultados alternativo – *Synthesis Without Meta-analysis* (SWiM) (Campbell et al., 2020). Esta *guideline* complementa a *guideline* PRISMA, segundo a qual este trabalho foi reportado.

A síntese dos estudos foi realizada considerando os grupos controlo e as intervenções realizadas em cada um, de forma a que fosse possível agrupá-los e obter resultados possíveis de comparação.

A heterogeneidade metodológica entre os estudos encontra-se presente tanto nas intervenções como nos protocolos utilizados em cada uma delas. Também nos resultados esta dissemelhança está presente, uma vez que, nem todos os estudos avaliaram os mesmos parâmetros.

Deste modo, utilizando a *guideline* SWiM, foi possível sintetizar os resultados dos estudos incluídos neste trabalho, comparando as variáveis idênticas avaliadas, em cada estudo. Estes resultados foram apresentados recorrendo a tabelas de dupla entrada e gráficos de barras.

III. Resultados

3.1. Seleção de estudos

Foram identificados 1226 artigos nas bases de dados eletrônicas universais previamente referidas. Os seguintes resultados foram obtidos: *PubMed* n=76, *B-on* n=595 e *Scopus* n=555. Os resultados obtidos, foram posteriormente exportados para o programa *Mendeley Desktop* 1.19.8. Os artigos duplicados foram identificados (n=599) e removidos, restando um total de 636 estudos por analisar. Após leitura do título e/ou *abstract*, 596 estudos foram excluídos por não abrangerem os critérios de inclusão ou por possuírem algum dos critérios de exclusão anteriormente citados.

Para preparação da triagem do texto integral, 40 referências foram selecionadas e, destas, 4 foram descartadas por não se encontrarem disponíveis. Apenas 36 artigos foram considerados elegíveis para leitura integral. Tendo em conta os critérios de inclusão e exclusão, 30 estudos foram excluídos e apenas 6 foram incluídos nesta revisão.

Posteriormente, foi realizada uma pesquisa bibliográfica manual dos artigos incluídos, resultando em 12 artigos, dos quais 7 foram excluídos após leitura do título e/ou *abstract* e 5 foram lidos integralmente. Destes, 4 artigos foram retirados e apenas 1 cumpria os critérios de seleção, fazendo um total de 7 artigos incluídos nesta revisão sistemática.

3.2. Resultados da seleção de pesquisa: fluxograma PRISMA

Na **Figura 10** está representado o fluxograma de seleção de estudos, de acordo com a *guideline* PRISMA (Page et al., 2021).

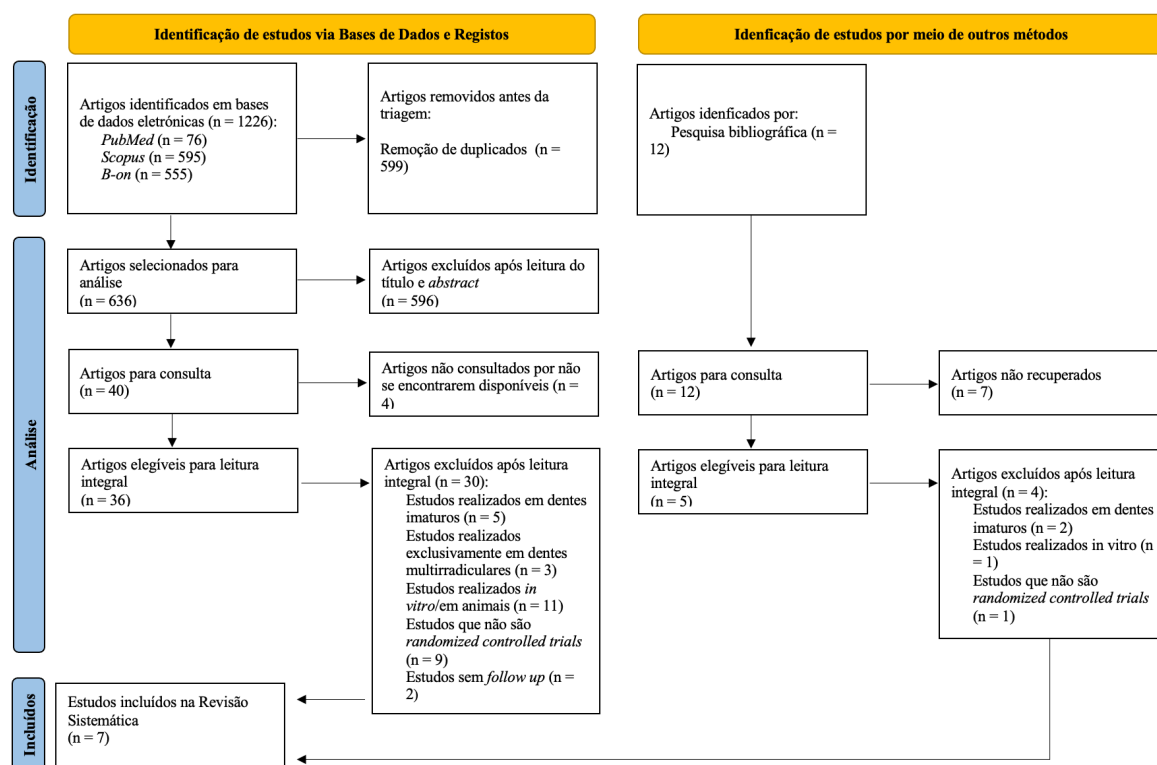


Figura 10 - Fluxograma de acordo com a guideline PRISMA.

3.3. Características dos estudos

O número total de participantes dos estudos que integram esta revisão sistemática foi n=241.

Apenas cinco dos sete estudos incluem um grupo controlo uma vez que os restantes dois estudos comparam diferentes intervenções. Três destes cinco estudos apresentam um grupo controlo comum – tratamento endodôntico convencional, no entanto, realizam três intervenções diferentes. O material regenerador utilizado nos sete estudos incluídos é variável. Por outro lado, o diagnóstico pulpar e periapical pré-operatório é semelhante em todos os estudos. Relativamente às variáveis irrigação, medicação intracanal utilizada e calibre apical, são semelhantes em alguns estudos e distintas noutros.

O *follow-up* foi realizado até, pelo menos, 12 meses em todos os estudos. Em apenas três dos estudos foi realizado o teste de sensibilidade ao frio. O teste elétrico e a avaliação radiográfica foram levados a cabo em seis dos sete estudos incluídos neste trabalho.

A seguinte tabela, **Tabela 1**, reúne as características dos estudos incluídos nesta revisão sistemática.

Tabela 1 - Tabela de evidência dos artigos incluídos na revisão sistemática.

Autor/Ano	Tipo de estudo	n	Grupo controle	Intervenção	Material regenerativo	Diagnóstico pré operatório	Nº raízes	Irrigação primária	Irrigação Final	Medicação intracanal	Calibre apical	Follow-up	Teste ao frio	Teste elétrico	Avaliação radiográfica
Abielhassan, M et al., 2021	<i>Randomized clinical trial</i>	45	Grupo C TER com 1,25% NaClO e 17% EDTA	Grupo A TER com Low Power Diode LASER Grupo B TER com 0,2% Nano Chitosan	PRF	Necrose pulpar; lesão periapical	1	1,25% NaClO e 17% EDTA	Grupo A Low Power Diode LASER Grupo B 0,2% Nano Chitosan Grupo C 1,25% NaClO e 17% EDTA	N/A	N/A	6 e 12 meses	N/A	Resposta positiva Grupo A 66,7% Grupo B 73,3% Grupo C 46,7%	Não refere
Arslan, H et al., 2019	<i>Randomized clinical trial</i>	56	Tratamento endodôntico convencional	Tratamento endodôntico regenerativo	Coágulo sanguíneo	Necrose pulpar; lesão periapical	1	1% NaClO	5% EDTA e água destilada	Pasta tri-antibiótica	Lima #25 K	1 ano	N/A	Resposta positiva Intervenção 50%; Controle 0%	Lesão periapical: Intervenção Redução: 46,2% Ausência: 46,2% Controle Redução: 25% Ausência: 60%
Brizuela, C et al., 2020	<i>Randomized clinical trial</i>	36	Tratamento endodôntico convencional	Tratamento endodôntico regenerativo	Células estaminais mesenquimais encapsuladas do cordão umbilical humano (PPP-UC-MSCs)	Necrose pulpar; lesão periapical	1	2,5% NaClO	17% EDTA	Hidróxido de cálcio	Lima #8 K	6 e 12 meses	Resposta positiva Intervenção 56% Controle 6%	Resposta positiva Intervenção 50% Controle 17%	Redução da lesão periapical em ambos os grupos

El-Kateb, N et al., 2020	<i>Randomized clinical trial</i>	18	TER com instrumentação até à lima X5	TER com instrumentação até à lima X3	Coágulo sanguíneo	Necrose pulpar; lesão periapical	1	1,5% NaClO	17% EDTA	Hidróxido de cálcio	Lima #25 k	1, 3, 6, 9, e 12 meses	Resposta positiva Intervenção 77,8% Controle 88,9%	Resposta positiva Intervenção 66,7% Controle 88,9%	Redução da lesão periapical em ambos os grupos
Jha, P et al., 2019	<i>Randomized clinical trial</i>	30	Tratamento endodôntico convencional	Tratamento endodôntico regenerativo	SealBio	Necrose pulpar; lesão periapical	1	2,5% NaClO	17% EDTA	Pasta tri-antibiótica	Lima #20 K	6, 12, e 18 meses	Não refere	N/A	Lesão periapical: Intervenção Redução: 13% Ausência: 87% Controle Redução: 20% Ausência: 80%
Mittal, N et al., 2021	<i>Randomized clinical trial</i>	36	N/A	Tratamento endodôntico regenerativo	Grupo I coágulo sanguíneo Grupo II PRF Grupo III colagénio Grupo IV hidroxiapatite -colagénio	Necrose pulpar; com presença ou ausência lesão periapical	Não específica	1,5% NaClO e solução salina	17% EDTA	Pasta di-antibiótica	Lima #15-25 K	3, 6, 9 e 12 meses	Resposta positiva Grupo 1 11,1% Grupo 2 66,6% Grupo 3 44,4% Grupo 4 33,3%	Resposta negativa em todos os grupos	Redução da lesão periapical em todos os grupos
Youssef, A et al., 2022	<i>Randomized clinical trial</i>	20	N/A	Tratamento endodôntico regenerativo	Grupo I coágulo sanguíneo Grupo II PRF	Necrose pulpar; lesão periapical	1	1,5% NaClO e 17% EDTA	Solução salina e 17% EDTA	Hidróxido de cálcio	Lima #25-#35 K	6 e 12 meses	N/A	Resposta positiva Grupo I 20% Grupo II 50%	Resolução ou redução da lesão periapical em ambos os grupos

A seguinte tabela, **Tabela 2**, reúne as características das diferentes intervenções realizadas nos estudos incluídos nesta revisão sistemática.

Tabela 2 - Tabela referente a cada intervenção realizada nos estudos incluídos na revisão sistemática

Autor/Ano	n	controle	n_controle	interv1	n_interv1	interv2	n_interv 2	interv3	n_interv3	interv4	n_interv4
Abielhassan, M et al., 2021	45	TER com PRF + 1,25% hipoclorito de sódio e 17% EDTA	15	TER com PRF + Low Power Diode LASER	15	TER com PRF + 0,2% Nano Chitosan	15	-	N/A	-	N/A
Arslan, H et al., 2019	56	TEC	28	TER com coágulo sanguíneo	28	-	N/A	-	N/A	-	N/A
Brizuela, C et al., 2020	36	TEC	18	TER com células estaminais mesenquimais encapsuladas do cordão umbilical humano (PPP-UC-MSCs)	18	-	N/A	-	N/A	-	N/A
El-Kateb, N et al., 2020	18	TER com instrumentação até à lima X5 + coágulo sanguíneo	9	TER com instrumentação até à lima X5 + coágulo sanguíneo		-	N/A	-	N/A	-	N/A
Jha, P et al., 2019	30	TEC	15	TER com SealBio	15	-	N/A	-	N/A	-	N/A
Mittal, N et al., 2021	36	N/A	N/A	TER com coágulo sanguíneo	9	TER com PRF	9	TER com colagénio	9	TER com hidroxiapatite-colagénio	9
Youssef, A et al., 2022	20	N/A	N/A	TER com coágulo sanguíneo	10	TER com PRF	10	-	N/A	-	N/A

3.4. Síntese qualitativa de evidência - SWiM

Devido à heterogeneidade metodológica dos estudos incluídos neste trabalho, não é aconselhada a realização de uma análise estatística. Assim, não foi possível a realização de uma meta-análise de incidência. Embora a todos os estudos tenham como foco o tratamento endodôntico regenerativo em dentes maduros, este é abordado de diferentes formas: apenas três dos estudos possuem um grupo controle comum, sendo que as intervenções são distintas entre eles; os grupos que não têm grupo controle realizaram intervenções com diferentes materiais regeneradores ou utilizaram outros métodos de comparação, como diferentes tipo de irrigação e instrumentação.

Deste modo, foi utilizada a *guideline* SWiM – *Synthesis Without Meta-analysis* (2020). Esta *guideline* foi desenvolvida para que, quando existe carência de dados passíveis de meta-análise, seja, ainda assim, possível obter uma análise dos métodos e resultados alcançados nas intervenções realizadas (Campbell et al., 2020).

Apesar da heterogeneidade metodológica presente entre os estudos que integram este trabalho, é possível agrupá-los para que seja feita uma síntese clara e transparente dos mesmos. A **Figura 11** esquematiza as diferentes variáveis avaliadas nos estudos que integram este trabalho.

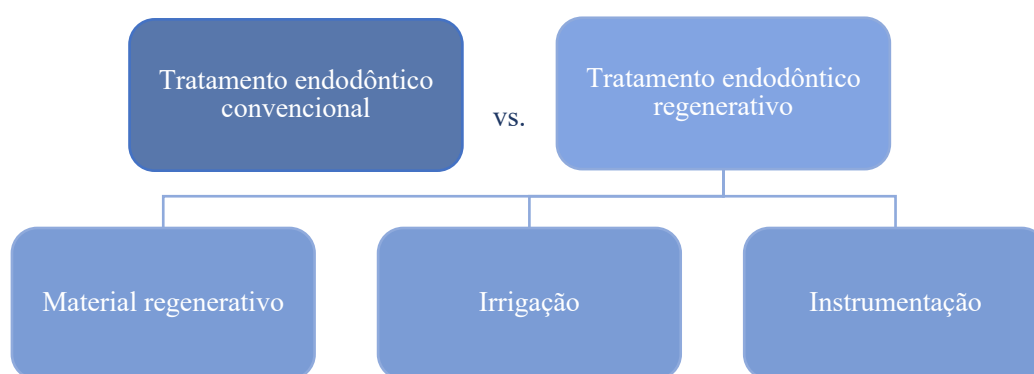


Figura 11 - Esquema referente aos grupos de heterogeneidade metodológica dos artigos incluídos neste trabalho (esquema original).

3.4.1. Tratamento endodôntico convencional vs. tratamento endodôntico regenerativo

Os *randomized clinical trials* realizados por Arslan et al. (2019), Brizuela et al. (2020) e Jha et al. (2019) tiveram como grupo controle o tratamento endodôntico convencional e, como intervenção, o tratamento endodôntico regenerativo. No entanto, cada um dos estudos utilizou diferentes protocolos.

O estudo realizado por Arslan et al. (2019) contou com 49 participantes, num total de 56 dentes maduros monorradiculares distribuídos em dois grupos: n=28 no grupo controle e n=28 no grupo destinado à intervenção.

O tratamento endodôntico convencional foi realizado utilizando o sistema de limas reciprocantes de níquel-titânio e a irrigação foi feita com hipoclorito de sódio (NaClO) a 1% entre limas, e como irrigante final foi utilizado o NaClO a 1% e o EDTA a 5%. No tratamento endodôntico regenerativo, o protocolo de instrumentação foi semelhante ao TEC e a irrigação inicial foi realizada com NaClO a 1% e como irrigante final, o EDTA a 5% e água destilada. Como medicação intracanal foi utilizada uma pasta tri-antibiótica composta por doxiciclina, metronidazol e ciprofloxacina. Foi induzido o sangramento utilizando uma lima #25 K até formar um coágulo sanguíneo. Posteriormente foi colocado MTA para selamento interno e um material restaurador provisório – Cavit G®. No dia seguinte, este foi substituído por um material definitivo – resina composta.

O *follow-up* foi realizado durante um ano. Neste estudo foram avaliados dois *outcomes*: avaliação clínica – dor à palpação e percussão, edema, trajeto sinusal ou desconforto devido à descoloração dentária, e avaliação radiográfica – utilizando o *software Image J* (Version 1.41; National Institutes of Health, Bethesda, MD), foram comparadas as radiografias pré e pós-operatórias.

Combinados, estes dois parâmetros podem resultar em:

- (1) Objetivo primário – redução ou ausência da radiotransparência radiográfica e clinicamente assintomático;
- (2) Objetivo secundário – resposta positiva ao teste elétrico (EPT).

A análise estatística foi realizada utilizando o *software SPSS Version 20*, utilizando um intervalo de confiança de 95% ($P = .05$). Para as variáveis nível de dor, dor à percussão e idade foi utilizado o *Student t test* para grupos independentes. Para as variáveis dor à palpação, edema ou trajeto sinusal, desconforto devido à descoloração, qualidade da restauração, sexo e número do dente foi utilizado o teste *chi-square*. Foi realizada uma análise de regressão para estudar as variáveis de confusão – idade, sexo, número do dente, lima apical principal (LAP), protocolo de irrigação, tipo de medicamento, tempo de intervalo do medicamento no canal, agrupamento inter-pacientes.

Apenas 36 pacientes compareceram no *follow-up*, resultando num total de 46 dentes, $n=20$ no grupo TEC e $n=26$ no grupo TER.

Segundo os resultados reportados, apresentados na **Tabela 3**, o objetivo primário foi atingido em 80% dos dentes no grupo TEC e em 92,3% no grupo submetido ao TER, não havendo diferença estatisticamente significativa ($P > .05$). No que diz respeito ao nível de dor, dor à palpação e à percussão, também não houve diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos ($P > .05$). Relativamente à avaliação radiográfica, redução ou ausência de lesão periapical foi registrada em 85% dos dentes tratados com TEC e em 92,4% dos dentes submetidos ao TER, não se observando, mais uma vez, diferença estatisticamente significativa ($P > .05$).

No grupo tratado com TER, 38,5% dos pacientes reportaram estar insatisfeitos com a estética representando uma diferença estatística ($P < .05$) relativamente ao grupo controlo. Por outro lado, 50% destes responderam positivamente ao teste elétrico, refletindo-se novamente numa diferença estatisticamente significativa ($P < .05$).

No grupo tratado com TEC, quatro dentes (20%) foram considerados sem sucesso, enquanto que no grupo TER apenas dois dentes (7,7%) não apresentaram sucesso ($P > .05$).

Relativamente às variáveis de confusão, não se observou um efeito significativo na influência destas no tamanho da lesão, do ponto de vista radiográfico ($P > .05$).

Tabela 3 - Resultados do estudo Arslan et al. (2019) aos 12 meses de *follow-up*.

Arslan et al. (2019)	Objetivo primário - radiograficamente e cl clinicamente	Objetivo secundário - EPT	Dor	Avaliação radiográfica
TEC	80%	0%	Não refere	85%
TER	92,30%	50%	Não refere	92,40%
P	>.05	<.05	>.05	>.05

Um outro estudo que compara o tratamento endodôntico convencional com o tratamento endodôntico regenerativo é o estudo conduzido por Brizuela et al. (2020).

Este estudo contou com a participação de 36 participantes, distribuídos em dois grupos: n=18 no grupo controlo e n=18 no grupo a ser tratado com TER. Neste estudo, o TER foi realizado através da introdução de células estaminais mesenquimatosas do cordão umbilical (UC-MSCs), previamente isoladas e analisadas, num *scaffold* pobre em plaquetas (PPP), em dentes monorradiculares com a raiz totalmente formada. A primeira consulta foi semelhante nos dois grupos, utilizando o sistema de limas reciprocantes e hipoclorito de sódio (NaClO) a 2,5%. Como medicação intracanal foi utilizado hidróxido de cálcio. Na segunda consulta, a irrigação foi feita com EDTA a 17%. No grupo TEC, a obturação foi realizada utilizando cones de gutta-percha. No grupo TER, foi induzido o sangramento utilizando uma lima #8 K e foi inserido o preparado de PPP-UC-MSCs. Posteriormente foi colocado Biodentine® com uma esponja hemostática para selamento interno. Posteriormente, foi realizada uma restauração em resina composta.

As consultas de *follow-up* foram realizadas aos 6 e 12 meses. Neste estudo foram avaliados dois *outcomes*:

- (1) Segurança – ausência de fratura radicular, dor severa ou moderada e inflamação extra ou intraoral;
- (2) Eficácia – o parâmetro primário consiste na sobrevivência do dente na boca durante, pelo menos, 12 meses, sem dor à percussão e lesão periapical com

dimensões semelhantes nas 3 dimensões do espaço; ou diminuição de, pelo menos, uma das dimensões da lesão; ou ainda, um aumento igual ou inferior a 0,1mm numa destas. O parâmetro secundário consiste em alterações no osso cortical e resposta pulpar aos testes de vitalidade (*Laser Doppler flowmetry* e percentagem unidade de perfusão do dente) e sensibilidade (teste ao frio, teste ao quente e teste elétrico).

A análise estatística foi realizada utilizando o *software* STATA SE versão 15.1, com um intervalo de confiança de 95% ($P=.05$). Para comparar variáveis categóricas – sucesso/insucesso, sensibilidade pulpar e compromisso cortical, foi utilizado o teste exato de Fisher. Para as variáveis contínuas – dimensão da lesão, alteração da dimensão da lesão e unidades de perfusão, foi utilizado o teste de Mann-Whitney.

Segundo os resultados descritos, apresentados na **Tabela 4**, não ocorreram efeitos adversos em nenhum dos participantes durante os 12 meses, traduzindo-se em 100% de segurança no tratamento em ambos os grupos (TEC e TER). Relativamente à eficácia, no que diz respeito ao parâmetro primário, anteriormente descrito e considerado como sucesso do tratamento, aos 6 meses apenas um dente submetido ao TER não tinha alcançado o objetivo (5,6%), não havendo diferença estatística ($P >.05$). Aos 12 meses, 100% dos participantes dos dois grupos atingiram o sucesso.

Relativamente ao parâmetro secundário - eficácia do tratamento, tanto no teste ao frio como no teste ao quente foram obtidas diferenças estatísticas significativas, entre os dois grupos, aos 12 meses. No teste ao frio foi observada uma resposta positiva de 6% dos participantes no grupo TEC e de 56% no grupo TER ($P <.05$). No teste ao quente não foram obtidas respostas positivas no grupo TEC e 28% dos participantes responderam positivamente no grupo TER ($P <.05$). Por outro lado, nem a resposta positiva ao teste elétrico (TEC: 17%; TER: 50%) nem o envolvimento cortical (TEC: 17%; TER: 11%) reportaram diferenças estatisticamente significativas ($P >.05$) entre os dois grupos. No entanto, a média dos valores de redução da dimensão ântero-posterior da lesão periapical entre os 6 e os 12 meses foi de 0,35mm no grupo TEC e 0,94mm no grupo TER, refletindo-se numa diferença estatisticamente significativa ($P <.05$).

Tabela 4 - Resultados do estudo Brizuela et al. (2020) aos 12 meses de *follow-up*.

Brizuela et al. (2020)	Segurança	Eficácia - Parâmetro primário	Eficácia - Parâmetro secundário			
			Teste ao frio	Teste ao quente	Teste elétrico	Envolvimento cortical
TEC	100%	100%	6%	0%	17%	17%
TER	100%	100%	56%	28%	50%	11%
P	>.05	>.05	<.05	<.05	>.05	>.05

O protocolo utilizado pelo estudo realizado por Jha et al. (2019) foi semelhante ao anteriormente descrito.

Este contou com um total de 30 dentes distribuídos em dois grupos: n=15 no grupo controle (TEC) e n=15 no grupo destinado à intervenção (TER). A instrumentação foi semelhante nos dois grupos, utilizando o sistema *Dentsply Protaper Universal* e, como irrigante, o NaClO a 2,5%. No TEC a obturação foi realizada utilizando a técnica de condensação lateral a frio. No TER, foi realizado o alargamento do forâmen apical utilizando limas manuais de maior calibre. Como medicação intracanal foi utilizada uma pasta tri-antibiótica composta por doxiciclina, metronidazol e ciprofloxacina. Na consulta seguinte, foi utilizado EDTA a 17% para remoção da pasta e foi induzido o sangramento por sobre instrumentação utilizando uma lima #20 K. A lima utilizada sofreu duas a três rotações no sentido horário e foi removida com uma rotação no sentido anti-horário. Posteriormente foi colocado Cavit G® e realizada a restauração definitiva.

O *follow-up* foi realizado durante 6, 12 e 18 meses. Neste estudo foram avaliados dois parâmetros:

- (1) Objetivo primário – alteração na densidade óssea durante as consultas de *follow-up*, avaliado utilizando o índice periapical (PAI);
- (2) Objetivo secundário – presença ou ausência de sinais e sintomas: dor espontânea, presença de trajeto sinusal, edema, mobilidade, profundidades de

sondagem mais elevadas que inicialmente, sensibilidade à percussão ou palpação.

Combinados, estes parâmetros podem sugerir três possíveis *outcomes*:

Recuperado – radiográfica e clinicamente normal;

Em processo de recuperação – redução da radiotransparência e clinicamente normal;

Afetado – se a radiotransparência não sofreu alterações ou existe presença de sinais e sintomas clínicos.

A análise estatística foi realizada utilizando o *software* SPSS versão 16, utilizando um intervalo de confiança de 95% ($P = .05$). Para comparar os tempos de tratamento dos dois grupos foi utilizado o *Student t test*. Para avaliar a concordância inter e intra examinadores na medição dos valores do PAI, foi utilizado um coeficiente de correlação intraclass. Para avaliar os valores do PAI pré e pós-operatório, durante as consultas de *follow-up*, foi utilizado o teste *chi-square*.

Como demonstrado na **Tabela 5**, segundo os resultados descritos, foi observada uma diferença estatisticamente significativa entre os tempos de tratamento do TEC e do TER ($P < .05$), uma vez que o primeiro demorou, em média, 36,59 min e o segundo 16,02 min. Relativamente aos valores do PAI, registados pré-operatoriamente e aos 6, 12 e 18 meses, a diferença entre os valores a cada intervalo não foi estatisticamente significativa ($P > .05$), uma vez que o valor inicial no grupo TEC era 3,4 e no grupo TER 3,6; aos 6 meses diminuiu para 1,73 e 1,6, respetivamente; aos 12 meses era 1,4 em ambos os grupos e aos 18 meses era 1,2 no grupo TEC e 1,1 no grupo TER.

Aos 18 meses, no grupo submetido ao TEC, 12 dos 15 dentes (80%) foram considerados recuperados e 3 em recuperação (20%). No grupo tratado com TER, 13 dos 15 dentes (86,67%) foram considerados recuperados e 2 em recuperação (13,37%). Deste modo, não se verificou uma diferença estatisticamente significativa entre os resultados dos dois grupos ($P > .05$).

Uma das limitações do estudo anteriormente descrito em relação a este trabalho é o facto de não precisar o número de dentes monorradiculares presentes em cada grupo (TEC e TER), apenas referindo que houve uma tentativa de igualar o número de dentes

monorradiculares e multirradiculares nos dois grupos, para que não houvesse enviesamento do tempo despendido na realização dos tratamentos. Uma outra limitação que o estudo apresenta para este trabalho é o facto de os resultados finais serem descritos aos 18 meses de *follow-up*, ao contrário dos estudos realizados por Arslan et al. (2019) e Brizuela et al. (2020), que descrevem os resultados aos 12 meses. Isto apresenta-se como uma limitação, uma vez que, o tempo tem influência no estado de recuperação do dente e, deste modo, não é possível comparar os resultados dos três estudos no mesmo intervalo de tempo.

Tabela 5 - Resultados do estudo Jha et al. (2019) aos 18 meses de *follow-up*.

Jha et al. (2019)	PAI	Recuperados	Em recuperação	Afetado
TEC	1,2	80%	20%	0%
TER	1,1	86,67%	13,37%	0%
P	>.05	>.05	>.05	>.05

De forma a ser possível comparar os resultados obtidos no TER e no TEC nos diferentes estudos, os parâmetros comuns avaliados: resolução de sinais e sintomas nos estudos conduzidos por Arslan et al. (2019), Brizuela et al. (2020) e Jha et al. (2019) e resposta ao teste de elétrico nos estudos realizados por Arslan et al. (2019) e Brizuela et al. (2020), foram agrupados em dois gráficos distintos, representados nas **Figuras 12 e 13**.

Apesar de não haver uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos TEC e TER nos estudos conduzidos por Arslan et al. (2019), Brizuela et al. (2020) e Jha et al. (2019), é possível observar valores superiores de sucesso clínico no grupo TER, em relação ao grupo TEC, nos três estudos.

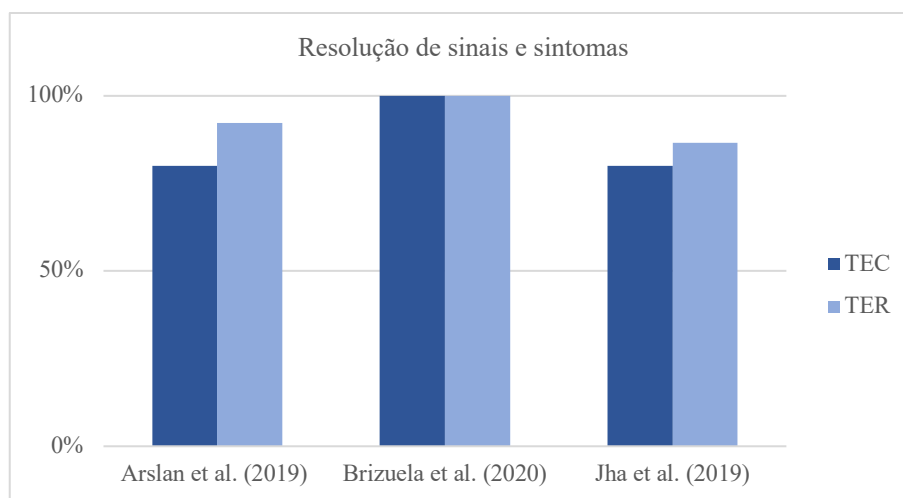


Figura 12 - Gráfico representativo dos resultados obtidos no parâmetro "Resolução de sinais e sintomas", no TEC e no TER, nos estudos conduzidos por Arslan et al. (2019), Brizuela et al. (2020) e Jha et al. (2019).

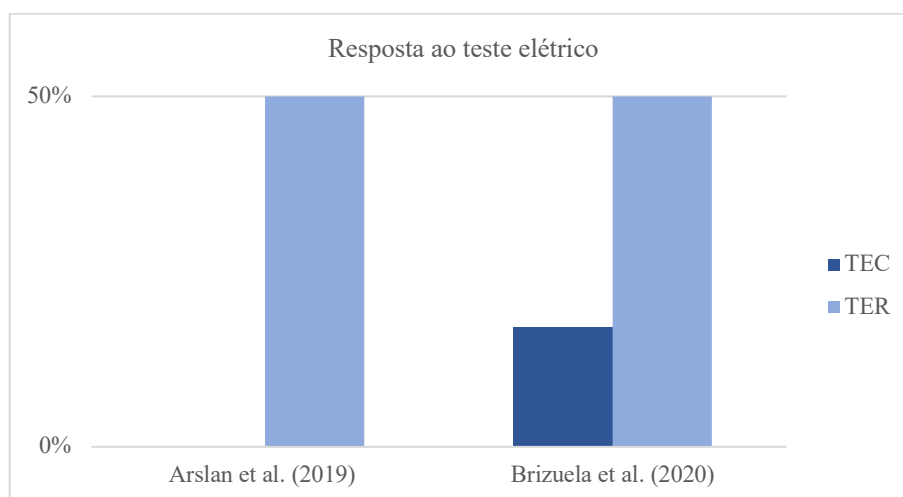


Figura 13 - Gráfico representativo dos resultados obtidos no parâmetro "Resposta ao teste elétrico", no TEC e no TER, nos estudos conduzidos por Arslan et al. (2019) e Brizuela et al. (2020).

3.4.2. Abordagens do tratamento endodôntico regenerativo

a) Material regenerativo

Os estudos realizados por Mittal et al. (2021) e Youssef et al. (2022) comparam a utilização de diferentes materiais regeneradores no tratamento endodôntico regenerativo.

O primeiro estudo, por Mittal et al. (2021), contou com um total de 36 dentes, divididos em quatro grupos de intervenção (n=9). O Grupo I foi submetido ao TER utilizando um coágulo sanguíneo, o grupo II utilizou PRF (*platelet-rich fibrin*), no grupo III foi introduzido colagénio no canal e o grupo IV usou hidroxiapatite e colagénio.

Todos os grupos foram submetidos a instrumentação convencional e irrigação com NaClO a 1,5% e uma solução salina. A medicação intracanal utilizada foi uma pasta antibiótica composta por metronidazol e ciprofloxacina. Na consulta seguinte, após remoção da pasta com NaClO a 1,5%, a irrigação final foi realizada utilizando EDTA a 17%. Foi induzido o sangramento por sobre instrumentação em todos os grupos.

No grupo I, após induzido e controlado o sangramento, foi colocado Biodentine® no canal e selado com ionômero de vidro e uma restauração a resina composta. No grupo II, o PRF foi preparado previamente. Após ser retirada uma amostra de sangue ao paciente, o mesmo foi centrifugado formando três camadas distintas (plasma, PRF e eritrócitos). A camada de PRF foi então retirada e colocada no canal radicular. No grupo III, após a indução do sangramento, foi colocado um grânulo estéril de colagénio sintético no canal e no grupo IV, este grânulo foi previamente misturado com cristais de hidroxiapatite, para o mesmo fim. Posteriormente foi colocado Biodentine®, ionômero de vidro e realizada a restauração definitiva.

O *follow-up* foi realizado aos 3, 6, 9 e 12 meses. Neste estudo foram avaliados os seguintes parâmetros:

- (1) Clinicamente – dor à palpação e à percussão, edema e presença de trajeto sinusai;
- (2) Radiograficamente – cicatrização periapical e resolução da periodontite apical;
- (3) Testes de sensibilidade pulpar – teste ao frio, teste ao quente e teste elétrico.

A análise estatística para avaliar a sensibilidade pulpar foi realizada utilizando um intervalo de confiança de 95% ($P = .05$) e o *Kruskal-Wallis test*, comparando os resultados de cada grupo a cada intervalo de tempo de *follow-up*.

Segundo os resultados reportados, expostos na **Tabela 6**, clinicamente, todos os pacientes se encontravam assintomáticos e sem edema aos 12 meses. Também radiograficamente houve melhoria na cicatrização e resolução da lesão periapical em todos os dentes. No que diz respeito ao teste ao frio, aos 12 meses, o grupo I apresentou 11,1% de respostas positivas, o grupo II obteve 66,6%, o grupo III apresentou 44,4% e o grupo IV, 33,3%. Estes resultados não representam uma diferença estatisticamente significativa ($P = .116$).

No que diz respeito ao teste ao quente e ao teste elétrico, não foram obtidas respostas positivas em nenhum grupo.

Uma das limitações do estudo anteriormente descrito em relação a este trabalho é o facto de não especificar o número de raízes dos dentes submetidos às diferentes intervenções. No entanto, é referido que houve a inclusão de dentes anteriores, garantindo a presença de dentes monorradiculares no estudo.

Tabela 6 - Resultados do estudo Mittal et al. (2021) aos 12 meses de *follow-up*.

Mittal et al. (2021)	Clinicamente	Melhoria radiográfica da lesão apical	Teste ao frio	Teste ao quente	Teste elétrico
Grupo I – Coágulo sanguíneo	100%	100%	11,10%	0%	0%
Grupo II - PRF	100%	100%	66,60%	0%	0%
Grupo III - Colagénio	100%	100%	44,40%	0%	0%
Grupo IV - Hidroxiapatite- colagénio	100%	100%	33,30%	0%	0%
P	>.05	>.05	>.05	>.05	>.05

Um outro estudo, conduzido por Youssef et al. (2022), também compara o tratamento endodôntico regenerativo utilizando diferentes tipos de materiais. Este estudo contou com a participação de 20 dentes maduros, com uma única raíz, distribuídos em dois grupos: n=10 no grupo I, tratado com indução do sangramento apical e n=10 no grupo II a ser tratado com PRF. O protocolo foi semelhante ao descrito no estudo anterior. Na primeira consulta foi realizada a instrumentação dos canais e a irrigação foi feita com NaClO a 1,5% entre limas e a irrigação final foi levada a cabo utilizando EDTA a 17%. Como medicação intracanal foi utilizado hidróxido de cálcio. Na segunda consulta, a irrigação foi feita com EDTA a 17% e uma solução salina. No grupo I, foi induzido o sangramento utilizando uma lima #25 a 35 K. Após formação do coágulo sanguíneo, foi colocado MTA e ionómero de vidro, que foi posteriormente substituído por resina composta. No grupo II, o procedimento para obtenção do concentrado de PRF foi semelhante ao descrito no

estudo anterior. Após obtenção do mesmo, foi induzido o sangramento apical e colocada a membrana de PRF. Posteriormente, foi introduzido MTA e os dentes foram restaurados definitivamente.

As consultas de *follow-up* foram realizadas aos 6 e 12 meses. Neste estudo foram avaliados dois *outcomes*:

- (1) Radiograficamente – o *status* periapical foi avaliado utilizando o PAI;
- (2) Sensibilidade pulpar – valores numéricos de sensibilidade foram registados para o teste elétrico.

A análise estatística foi realizada utilizando o *software* SPSS versão 23, com um intervalo de confiança de 95% ($P = .05$). Foram utilizados os testes de Wilcoxon e de Dunn-Bonferroni para comparar os períodos de *follow-up* nos diferentes grupos. Para avaliar o PAI, foi utilizado o teste de Mann-Whitney. Para a sensibilidade pulpar, recorreu-se ao ANOVA. Os resultados são apresentados na **Tabela 7**.

Relativamente à avaliação radiográfica, houve uma melhoria das dimensões da lesão periapical nos dois grupos, em 100% dos participantes, quando comparada às dimensões iniciais, refletindo-se numa diferença estatisticamente significativa ($P < .001$). No entanto, a mesma diferença não aconteceu entre os dois grupos, aos 12 meses, segundo os valores do PAI ($P > .05$). No que diz respeito à sensibilidade pulpar, não foi registada uma diferença estatisticamente significativa ($P > .05$) entre os dois grupos aos 12 meses, uma vez que, no grupo I, 20% dos pacientes responderam positivamente ao teste elétrico e no grupo II, 50% dos participantes tiveram resposta positiva. Quando comparados à resposta pré-operatória, os resultados refletem uma diferença estatisticamente significativa ($P < .001$).

Tabela 7 - Resultados do estudo Youssef et al. (2022) aos 12 meses de *follow-up*.

Youssef et al. (2022)	PAI	Teste elétrico
Grupo I - Coágulo sanguíneo	2	20%
Grupo II - PRF	1	50%
P	>.05	>.05

Assim como no grupo anterior, os resultados obtidos nos diferentes estudos foram agrupados, como é possível observar nas **Figuras 14 e 15**. Foram comparados os parâmetros comuns avaliados nos estudos realizados por Mittal et al. (2021) e Youssef et al. (2022): melhoria radiográfica da lesão apical e resposta ao teste de elétrico, nos grupos TER com recurso ao coágulo sanguíneo e ao PRF.

Relativamente à melhoria radiográfica da lesão apical, não houve diferença entre os dois grupos (TER com coágulo sanguíneo e com PRF), como é possível observar na **Figura 14**. Na resposta ao teste elétrico, embora não haja uma diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos, o grupo tratado com PRF demonstrou maior sucesso que o grupo tratado apenas com o coágulo sanguíneo, como representado na **Figura 15**.

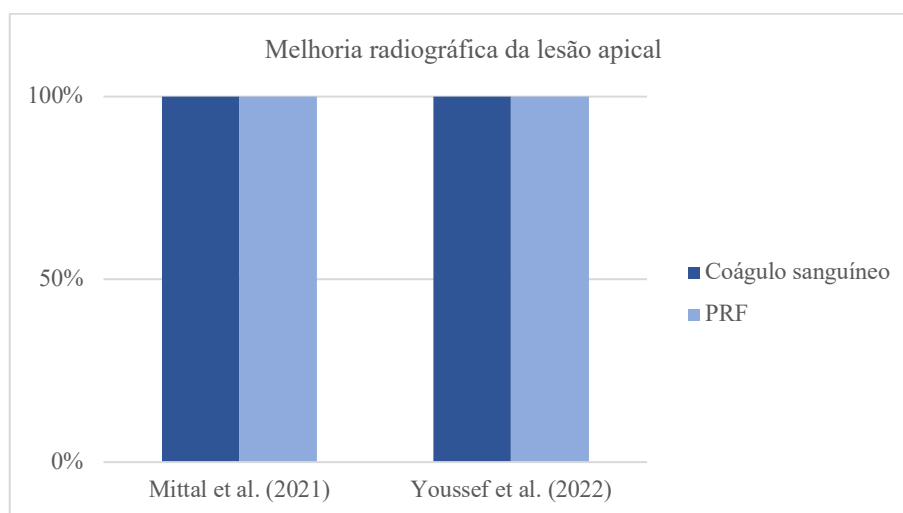


Figura 14 - Gráfico representativo dos resultados obtidos no parâmetro "Melhoria radiográfica da lesão apical", no TER com recurso ao coágulo sanguíneo e ao PRF, nos estudos conduzidos por Mittal et al. (2021) e Youssef et al. (2022).

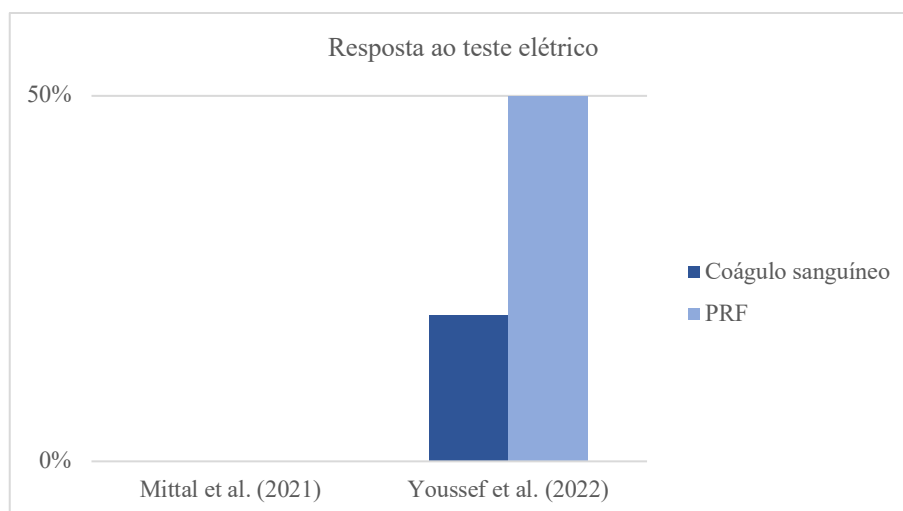


Figura 15 - Gráfico representativo dos resultados obtidos no parâmetro "Resposta ao teste elétrico", no TER com recurso ao coágulo sanguíneo e ao PRF, nos estudos conduzidos por Mittal et al. (2021) e Youssef et al. (2022).

b) Método de irrigação

O estudo conduzido por Abielhassan et al. (2021) tem como objetivo comparar os resultados de diferentes protocolos de irrigação no tratamento endodôntico regenerativo em dentes anteriores, maduros, com lesão periapical. O estudo contou com um total de 45 dentes, divididos em três grupos: grupo A (n=15), em que o protocolo de irrigação final foi realizado com Low PowerDiode Laser, grupo B (n=15) que utilizou Nano Chitosan a 0,2% e o grupo C (n=15), grupo controlo, que utilizou NaClO a 1,25% e EDTA a 17%. Todos os grupos foram tratados com PRF como material regenerador.

O procedimento foi realizado numa só consulta. Todos os participantes foram submetidos a instrumentação mecânica convencional e irrigação com NaClO a 1,25% e EDTA a 17%. No grupo A, a irrigação final foi realizada com o dispositivo SiroLaser Blue com laser diódo 940nm, previamente à introdução do concentrado PRF. A fibra de laser foi inserida 1mm acima do comprimento de trabalho criando um feixe circunferencial ao longo do canal durante 2 segundos. Foram realizados 10 ciclos de desinfeção com intervalos de 5 segundos, resultando num total de 20 segundos de contacto do laser com o canal. O grupo B utilizou 20ml de Nano Chitosan a 0,2%, em quatro injeções intercaladas com pausas de 3 minutos. No último grupo, grupo C, o protocolo de irrigação final foi realizado aplicando NaClO a 1,25% e EDTA a 17%. De seguida, em todos os grupos, foi introduzida a membrana de PRF, obtida de forma semelhante à anteriormente descrita.

Sobre esta foi colocado um *plug* de colagénio e Biodentine®. Prosseguiu-se com a restauração definitiva recorrendo a resina composta ou resina modificada com ionómero de vidro.

O *follow-up* foi realizado aos 6 e 12 meses. Neste estudo foram avaliados os seguintes parâmetros:

- (1) Objetivo primário – sobrevivência do dente íntegro na boca, ausência de fratura, dor espontânea, à mastigação e edema;
- (2) Objetivo secundário – resposta positiva ao teste elétrico.

Foi utilizado o teste *chi-square* para avaliar tanto a sobrevivência dos dentes entre grupos como a recuperação da sensibilidade dos mesmos.

Segundo os resultados descritos, como apresentados na **Tabela 8**, no grupo A foi possível observar uma sobrevivência de 100% dos dentes, no grupo B a sobrevivência foi de 93,3% assim como no grupo C. Estes resultados não representam uma diferença estatisticamente significativa ($P = .434$). No que diz respeito ao teste elétrico, no grupo A, 66,7% dos pacientes responderam positivamente, no grupo B a resposta foi de 73,3% e no grupo C foi de 46,7%, não demonstrando, mais uma vez uma diferença estatisticamente significativa ($P = .293$).

Tabela 8 - Resultados do estudo Abielhassan et al. (2021) aos 12 meses de *follow-up*.

Abielhassan et al. (2021)	Objetivo primário - Sobrevivência	Objetivo secundário - Teste elétrico
Grupo A - Low PowerDiode Laser	100%	66,70%
Grupo B - Nano Chitosan a 0,2%	93,90%	73,30%
Grupo C - NaClO a 1,25%. e EDTA a 17%.	93,90%	46,70%
P	>.05	>.05

c) Método de instrumentação

O estudo conduzido por El-Kateb et al. (2020) tem como objetivo comparar os resultados de dois protocolos de instrumentação distintos, no tratamento endodôntico regenerativo em dentes maduros. Neste estudo foram incluídos 18 participantes, divididos em dois grupos: grupo da intervenção (n=9), onde o protocolo de instrumentação foi realizado até à lima X3 e grupo controlo (n=9) onde a instrumentação foi realizada até à lima X5. Ambos os grupos foram tratados com coágulo sanguíneo como material regenerador.

Na primeira consulta a irrigação foi realizada com NaClO a 1,5% e a instrumentação foi executada de acordo com o grupo designado: no grupo da intervenção, esta foi realizada com limas rotatórias ProTaperNEXT até à lima X3 e no grupo controlo, até à lima X5. Como medicação intracanal foi utilizado hidróxido de cálcio. Na segunda consulta, foi aplicado como irrigante o NaClO a 1,5% para remoção do hidróxido de cálcio e posteriormente, EDTA a 17%. Foi induzido o sangramento por sobre instrumentação, utilizando uma lima #25 K. Após formação do coágulo sanguíneo, foi colocado Biodentine®, posteriormente, uma resina modificada por ionómero de vidro como base para a restauração e, por último, resina composta.

As consultas de *follow-up* foram realizadas aos 1, 3, 6, 9 e 12 meses. Neste estudo foram avaliados três parâmetros:

- (1) Clinicamente – ausência de dor, sensibilidade à percussão e novos sinais/sintomas;
- (2) Sensibilidade pulpar – resposta positiva ao teste ao frio e teste elétrico;
- (3) Radiograficamente – avaliação de tecido pulpar regenerado através de ressonância magnética (MRI).

A análise estatística foi realizada utilizando o *software* IBM SPSS versão 20, utilizando um intervalo de confiança de 95% ($P = .05$). Para comparar os dois grupos foi utilizado o *Student t test*. Para avaliar a significância entre os diferentes períodos foi utilizado o *Cochrane test*.

Segundo os resultados descritos, apresentados na **Tabela 9**, a intensidade do sinal (SI) obtida na imagem da ressonância magnética do dente hígido contralateral ao dente em questão, e o dente tratado, após 12 meses, não demonstrou uma diferença estatisticamente

significativa em nenhum dos grupos ($P > .05$), tanto no terço médio como no terço apical. Clinicamente, nenhum dente apresentou dor, edema ou sensibilidade à percussão. No que diz respeito aos testes de sensibilidade, o grupo submetido à intervenção demonstrou resposta positiva em 77,8% dos participantes ao teste no frio e 66,7% no teste elétrico. No grupo controle, 88,9% responderam positivamente ao teste ao frio e ao teste elétrico.

Tabela 9 - Resultados do estudo El-Kateb et al. (2020) aos 12 meses de *follow-up*.

El-Kateb et al. (2020)	MRI SI em relação ao dente hígido	Teste ao frio	Teste elétrico	Clinicamente
Grupo intervenção - X3	-	77,80%	66,70%	100%
Grupo controle - X5	-	88,90%	88,90%	100%
P	>.05	>.05	>.05	>.05

3.5. Resultados da avaliação do risco de viés

A ferramenta utilizada para a avaliação do risco de enviesamento, *Revised Cochrane risk-of-bias tool for randomized trials (RoB 2)* (Sterne et al., 2019), permitiu a utilização de uma escala precisa possibilitando uma correta análise do possível enviesamento nos estudos incluídos nesta revisão sistemática.

Como referido anteriormente, os resultados estão apresentados de duas formas distintas: através de uma tabela de dupla entrada no formato *Traffic light plot* (**Figura 16**) e de um gráfico *Summary plot* (**Figura 17**).

Relativamente à análise da *Traffic light plot*, é de notar que dois dos sete artigos, Jha et al. (2019) e Mittal et al. (2021) apresentam risco de viés incerto devido à ausência de informação sobre o processo de randomização utilizado. Em nenhum dos estudos é claro o método utilizado para distribuição dos participantes, assim como, a metodologia de ocultação de informação, tanto por parte dos participantes como de quem executou o tratamento e ainda dos investigadores responsáveis pela análise dos resultados obtidos.

O estudo conduzido por Abielhassan et al. (2021) também apresenta risco de viés incerto, uma vez que, não é claro se os resultados foram seletivamente apresentados no tempo, dado que, estes são apenas apresentados aos 12 meses e, deste modo, o estudo poderá estar enviesado.

Por outro lado, nenhum dos estudos foi enviesado por possíveis desvios da intervenção prevista nem por falta de informação. Ainda que um dos estudos tenha tido uma elevada percentagem de *drop out*, a análise do mesmo permitiu concluir que a falta de informação sobre estes participantes não resulta num enviesamento do estudo. Em todos os estudos o risco de viés induzido pelo método de medição dos resultados foi baixo, o que significa que este foi realizada corretamente.

É então de realçar que, como apresentado na **Figura 17**, o domínio referente ao processo de randomização é o que apresenta risco de viés menos claro, perto dos 75%. Deste modo, a coluna *overall* apresenta um risco de enviesamento superior a 50%.

	Risk of bias domains					Overall
	D1	D2	D3	D4	D5	
Abielhassan et al., 2021						
Arslan et al., 2019						
Brizuela et al., 2020						
El-Kateb et al., 2020						
Jha, et al., 2019						
Mittal et al., 2021						
Youssef et al., 2022						

Domains:
D1: Bias arising from the randomization process.
D2: Bias due to deviations from intended intervention.
D3: Bias due to missing outcome data.
D4: Bias in measurement of the outcome.
D5: Bias in selection of the reported result.

Judgement
 Some concerns
 Low

Figura 16 - Gráfico *Traffic light plot* (RobVis tool) para análise do risco de enviesamento dos ensaios clínicos randomizados.

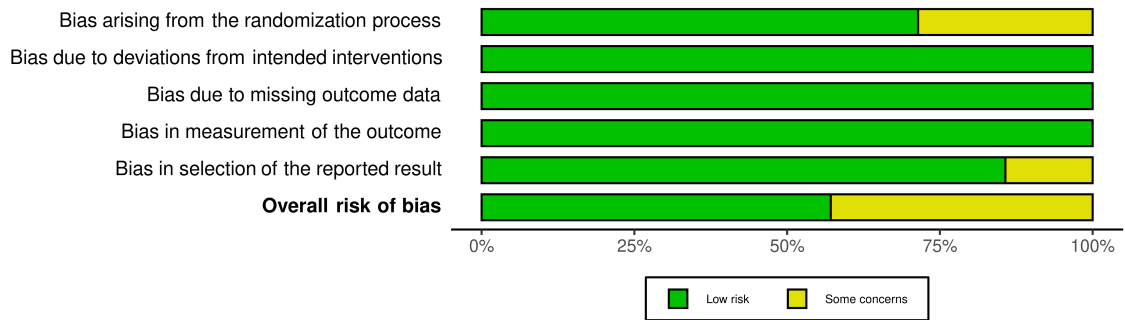


Figura 17 - Gráfico summary plot (RobVis tool) para análise enviesamento de ensaios clínicos randomizados.

IV. Discussão

4.1. Irrigação

Como é possível evidenciar na **Tabela 1**, a desinfecção canalar inicial foi realizada utilizando o hipoclorito de sódio (NaClO) na totalidade dos estudos incluídos nesta revisão.

O hipoclorito de sódio é frequentemente utilizado no protocolo de desinfecção dos canais radiculares. Este irrigante revela a capacidade de dissolução do tecido necrótico da polpa e do colagénio dentinário, auxiliando na permeabilidade do canal (Dioguardi et al., 2018; Bosaid et al., 2020).

Nos estudos que integram este trabalho, na primeira consulta, quando realizada a abertura coronária e limpeza dos canais, o NaClO foi aplicado em concentrações variáveis, entre 1% e 2,5%. Segundo Galler et al. (2016), quando utilizado em elevadas concentrações, o NaClO pode apresentar propriedades citotóxicas. Assim, de modo a manter a sua elevada capacidade de eliminação do biofilme sem comprometer a viabilidade das células estaminais, este deve ser utilizado a baixas concentrações (Baca et al., 2011; Martin et al., 2014).

Um estudo conduzido por Martin et al. (2014) obteve resultados de sobrevivência e proliferação celular significativamente superiores quando utilizou o NaClO a uma concentração de 1,5%, contrastando com o uso de NaClO a uma concentração de 3% e 6% onde não foi possível obter resultados satisfatórios de sobrevivência celular, impedindo a sua proliferação e diferenciação. Outro estudo, realizado por Tagelsir et al. (2016), verificou a eliminação completa do biofilme de *Enterococcus faecalis* sem comprometer a viabilidade das células estaminais, quando aplicado o NaClO a uma concentração de 1,5% durante 5 minutos.

É também evidente o recorrente uso de EDTA como irrigante final, uma vez que este permite a dissolução e remoção de tecido inorgânico e a eliminação da smear layer (Prada et al., 2019).

O EDTA atua como quelante, ligando-se aos íons de cálcio e quebrando a rede de cristais de hidroxiapatite, conduzindo assim à desmineralização do tecido dentinário (Galler et al., 2015). Um estudo realizado por Galler et al. (2016), demonstrou que o EDTA detém ainda a capacidade de libertar fatores de crescimento incorporados na dentina – fator de crescimento $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$), fator de crescimento fibroblástico 2 (FGF-2), proteínas ósseas morfogênicas 2 (BMP-2), fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), fator de crescimento da placenta (PIGF), fator de crescimento epidérmico (EGF) e fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) (Roberts-Clark et al., 2000), de estimular a migração das células estaminais a partir da papila apical para o canal radicular e de promover diferenciação das células facilitando a formação de tecido dentinário (Galler et al., 2016).

Martin et al. (2014) verificou que o EDTA a uma concentração de 17% promove a sobrevivência celular e a sua diferenciação em células semelhantes a odontoblastos. Além disto, Galler et al. (2015), demonstrou que não só a concentração de EDTA utilizada como também o tempo de atuação é um fator crucial para o sucesso do tratamento, uma vez que a libertação de fatores de crescimento é dependente do tempo de exposição ao irrigante. Assim, para que haja libertação de fatores de crescimento, é necessário o uso prolongado de EDTA (Galler et al., 2015). Na maioria dos estudos apresentados na **Tabela 1**, o EDTA foi utilizado a uma concentração de 17% como irrigante final, previamente à indução do sangramento apical.

Apenas num dos estudos incluídos nesta revisão sistemática, Mittal et al. (2021), em que o EDTA foi utilizado como irrigante final, a resposta ao teste elétrico foi negativa. Nos estudos em que foi realizado o teste ao frio, Brizuela et al. (2020), El-Kateb et al. (2020) e Mittal et al. (2021), ocorreu uma percentagem satisfatória de respostas positivas. Este resultado está em concordância com a evidência anteriormente apresentada, uma vez que o EDTA tem a capacidade de libertar fatores de crescimento e estimular a migração e diferenciação das células estaminais da papila apical (Galler et al., 2016).

Alguns investigadores têm vindo a desenvolver novas técnicas de desinfecção canalar, como por exemplo, a técnica de desinfecção foto-ativada (Lee et al., 2004). Esta técnica acarreta algumas vantagens, entre elas a elevada sensibilidade para erradicar microorganismos, sem afetar as células presentes no canal (Samei et al., 2016). Um

estudo realizado por Garcez (2010), demonstrou que a aplicação do protocolo de desinfecção fotodinâmico tem a capacidade de eliminar microorganismos multirresistentes.

Outra alternativa que tem vindo a ser estudada como potencial protocolo de desinfecção intracanal é o Chitosan. Este composto é um bio polímero catiónico, proveniente da quitina (Hassan et al., 2018). Não possui propriedades tóxicas, constituindo uma vantagem para o protocolo de regeneração pulpar. Devido à sua capacidade de reação com a parede celular bacteriana, tem um elevado potencial antimicrobiano (Ambore et al., 2013).

No estudo conduzido por Abielhassan et al. (2021), foram comparados vários protocolos de irrigação final. O grupo controlo (C), utilizou 1,25% NaClO e 17% EDTA, enquanto que o grupo A utilizou o Laser díodo de baixa potência e o grupo B utilizou 0,2% Nano Chitosan. Um estudo realizado *in vitro*, por Samiei et al. (2016), obteve maior taxa de sobrevivência de *E. faecalis* quando aplicado o Laser díodo de baixa potência, comparando aos resultados obtidos quando utilizado o NaClO a 2,5%.

No estudo realizado por Abielhassan et al. (2021), foram alcançados melhores resultados na resposta ao teste elétrico quando utilizado o Laser díodo de baixa potência do que quando utilizado o NaClO a 1,25% e o EDTA a 17%. Isto poderá ser consequência de uma maior sobrevivência celular quando utilizado o protocolo de desinfecção foto-ativada (Samiei et al., 2016).

Abielhassan et al. (2021) observou que também os dentes tratados com 0,2% de Nano Chitosan obtiveram melhores resultados à resposta ao teste elétrico que os dentes tratados no grupo controlo (C). No entanto, a taxa de respostas positivas a este teste foi superior no grupo tratado com o Laser díodo de baixa potencia do que no grupo tratado com Nano Chitosan. No que diz respeito à sobrevivência, o grupo A, que utilizou o Laser díodo de baixa potência apresentou novamente melhores resultados.

O protocolo atualmente sugerido pela *American Association of Endodontics* (2018) defende que os diferentes irrigantes devem ser associados para que seja possível obter

melhores resultados - eficácia de remoção do tecido infetado, eliminação do biofilme e manutenção da viabilidade celular.

4.2. Medicação intracanal

Como referido anteriormente, a eliminação do biofilme é um dos passos cruciais para o sucesso do tratamento endodôntico regenerativo (Diogenes et al., 2013).

Segundo o protocolo sugerido pela *American Association of Endodontics* (2018), a medicação intracanal deve ser aplicada na primeira consulta e retirada após 1 a 4 semanas, no momento em que se procede à indução do sangramento e/ou introdução de células estaminais provenientes de fontes externas. Os estudos que integraram esta revisão sistemática usaram um dos seguintes três fármacos como medicação intracanal: hidróxido de cálcio, pasta tri-antibiótica ou pasta di-antibiótica.

Um estudo *in vitro* realizado por Alfadda et al., em 2021, comprovou a elevada eficácia do hipoclorito de cálcio, $\text{Ca}(\text{OCl})_2$, na eliminação do biofilme. Este estudo testou também a eficácia do hidróxido de cálcio e da pasta tri-antibiótica na redução do biofilme, não encontrando diferenças significativas entre os dois. Numa segunda fase, foi testada a viabilidade celular destes três fármacos, não se obtendo uma diferença significativa entre o hidróxido de cálcio e da pasta tri-antibiótica, e resultando numa viabilidade celular inferior quando utilizado o hipoclorito de cálcio.

Tanto a pasta tri-antibiótica como a pasta di-antibiótica, devem ser utilizadas a baixas concentrações, de modo a evitar alguma citotoxicidade nas células estaminais da papila apical, afetando as suas capacidades de proliferação, migração e diferenciação (Diogenes et al., 2013; Tagelsir et al., 2016). Além disto, elevadas concentrações de antibiótico poderão por em causa a libertação de fatores de crescimento por parte da dentina radicular (Althumairy et al., 2014; Galler et al., 2015).

O protocolo sugerido pela AAE, revisto em 2021 para o tratamento em dentes imaturos, recomenda a utilização de uma pasta tri-antibiótica composta por minociclina, ciprofloxacina e metronidazol numa proporção de 1:1:1, em que a concentração final deve variar entre 0,1-1,0 mg/mL.

Como é possível verificar na **Tabela 1**, apenas os estudos conduzidos por Arslan et al. (2019) e Jha et al. (2019) se aproximaram do protocolo sugerido e utilizaram uma pasta tri-antibiótica composta por ciprofloxacina, metronidazol e uma tetraciclina que variou entre a minociclina e a doxiciclina.

Por outro lado, alguns dos estudos incluídos neste trabalho testaram o uso de uma pasta di-antibiótica composta por metronidazol e ciprofloxacina, obtendo resultados satisfatórios de sobrevivência e avaliação radiográfica, concordantes com outro estudo previamente conduzido por Nevins & Cymerman em 2015, em dentes imaturos com o ápex aberto. Um outro estudo realizado *in vitro*, orientado por Tagelsir et al., em 2016, concluiu que uma concentração de 0,1 mg/mL de uma pasta di-antibiótica não é suficiente para eliminar o biofilme de *E. faecalis* na sua totalidade. No entanto, neste mesmo estudo foi testada o uso de uma concentração de 1mg/mL de pasta di-antibiótica, resultando numa eliminação de biofilme acima de 99,9%. Esta concentração pode ser utilizada sem provocar efeitos citotóxicos nas células estaminais (Althumairy et al., 2014).

O estudo realizado por Althumairy et al. (2014), concluiu que, por outro lado, o hidróxido de cálcio tem uma elevada taxa de sobrevivência e promove proliferação celular, não apresentando efeitos letais ao nível das células estaminais da papila apical. Este fármaco tem sido utilizado para diversas funções desde proteção pulpar direta, apexificação e medicação intracanal (Cvek, 1972).

Um estudo realizado por Ferreira et al. (2020) comparou a libertação de fatores de crescimento em dois grupos, num deles foi aplicado hidróxido de cálcio e no outro, pasta tri-antibiótica. Concluiu-se que houve uma taxa de libertação do fator de crescimento TGF- β 1 superior no grupo tratado com hidróxido de cálcio, comparando com o grupo tratado com pasta tri-antibiótica.

É possível uma remoção quase total do hidróxido de cálcio após irrigação, contrariamente às pastas antibióticas, em que mais de 80% do fármaco fica retido nas paredes do canal, constituindo assim uma vantagem para o NaClO, uma vez que, a permanência de medicação intracanal durante um elevado período de tempo pode não só ser prejudicial

à sobrevivência celular como também impedir a libertação de fatores de crescimento para o canal radicular (Berkhoff et al., 2014).

4.3. Diâmetro apical

O investigador Parris et al. (1994), descreveu que a técnica de alargamento e desinfecção do canal permite um correto desbridamento, facilitando a desinfecção do mesmo. Também Benatti, em 1985, descreveu que o alargamento do forâmen apical permite uma maior migração celular no sentido do canal e auxilia na remoção de cimento que poderá ter influência na sobre instrumentação.

O estudo conduzido por El-Kateb et al. (2020) comparou dois tipos de instrumentação obtendo resultados semelhantes, no entanto, aparentemente mais satisfatórios no grupo controle, que realizou a instrumentação até à lima com maior diâmetro apical (X5) – 0,5mm. No entanto, foi comprovado por Laureys et al. (2013) que para a revascularização do canal radicular, um alargamento do diâmetro do forâmen apical de, pelo menos, 0,3mm é suficiente, uma vez que as células estaminais humanas presentes no sangue medem, em média, entre 10–100 μ m (Saoud et al., 2014). Deste modo, um alargamento do diâmetro do forâmen apical de 0,3mm permitirá a sua migração na direção coronal (Laureys et al. 2013; Saoud et al., 2014).

4.4. Material regenerativo

Procedimentos de regeneração pulpar realizados em dentes imaturos têm vindo a demonstrar elevadas taxas de sucesso clínico, traduzindo-se, segundo a *American Association of Endodontists*, pela eliminação de sintomas, contínua formação da raiz com encerramento do ápex e aumento da espessura da parede dentinária. A hipótese considerada para justificar este fenómeno é a presença de células estaminais da papila apical (SCAPs) junto ao ápex ainda imaturo, uma vez que exibem elevado potencial de diferenciação e regeneração (Huang et al., 2009; Paryani et al., 2013).

O tratamento endodôntico regenerativo em dentes maduros com o ápex encerrado apresenta algumas limitações, uma vez que as SCAPs são praticamente inexistentes,

passando a denominar-se DPSCs, células com um potencial de diferenciação em odontoblastos reduzido (Mao et al., 2012; Paryani et al., 2013).

O investigador Nygaard Ostby, (1961), foi o primeiro a realizar a técnica de indução de sangramento em dentes imaturos obtendo resultados histológicos de revascularização pulpar. Desde então, a utilização deste método tem sido recorrente. Também alguns estudos realizados em dentes maduros utilizam a técnica de sangramento apical. Arslan et al. (2019) e El-Kateb et al. (2020) utilizaram esta mesma técnica, obtendo resolução da lesão apical em 92,3% e 100% dos casos, respectivamente. Arslan et al. (2019) obteve resposta positiva de 50% dos participantes ao teste elétrico enquanto que El-Kateb et al. (2020) alcançou 66,7% e 88,9% de resposta positiva ao mesmo teste, nos dois grupos examinados. Estes resultados estão em concordância com um estudo realizado por Saoud et al. (2014), em que ocorreu regeneração periapical quase total, após tratamento de um abscesso apical agudo associado a necrose pulpar, com tratamento endodôntico regenerativo. No entanto, não foi possível obter resposta positiva aos testes de sensibilidade. Um outro, estudo realizado por Paryani, et al. (2013), utilizou a técnica de indução de sangramento em dois casos, obtendo redução e resolução da lesão apical em ambos e resposta positiva ao teste ao frio e ao teste elétrico em apenas um dos casos.

A técnica *SealBio*, usada no estudo conduzido por Jha et al. (2019), é também uma técnica que utiliza a indução de sangramento apical por sobre instrumentação. Esta técnica reconhece uma elevada importância no alargamento e desinfecção do forâmen apical. Após indução do sangramento, é colocado um cimento de sulfato de cálcio à entrada do canal e condensado no terço cervical do mesmo (Shah et al., 2016).

Diferentes tipos de *scaffolds* têm vindo a ser desenvolvidos na área de medicina regenerativa. Para o tratamento endodôntico regenerativo, alguns estudos utilizaram concentrados plaquetários como *scaffolds*, comprovando bastante eficácia pela elevada concentração de fatores de crescimento e posterior proliferação celular (Narang et al., 2015; Nageh et al., 2018; Youssef et al., 2022).

Nesta revisão sistemática foram incluídos alguns estudos que utilizaram PRF.

Um estudo realizado por Narang et al. (2015), em dentes imaturos, concluiu que o PRF apresenta uma capacidade significativamente superior de cicatrização periapical assim como contínua formação das raízes e espessamento da parede dentinária quando comparado ao coágulo sanguíneo provocado por sobre instrumentação. Outro estudo realizado por Nageh et al. (2018), com um protocolo semelhante, obteve resultados satisfatórios de resolução de sintomas em todos os participantes e recuperação da sensibilidade ao teste ao frio em 60% dos participantes.

Os resultados destes estudos estão em concordância com alguns dos estudos incluídos nesta revisão sistemática, como o estudo conduzido por Abielhassan et al. (2021), que utilizou o PRF como *scaffold* nos três grupos experimentais e obteve taxas de sobrevivência superiores a 90% e resposta positiva aos testes de sensibilidade entre os 46,7% e os 73,3%. Também o estudo conduzido por Mittal et al. (2021) alcançou o resultado mais satisfatório no grupo PRF relativamente aos restantes grupos, 66,6% de resposta ao teste ao frio e resolução dos sinais e sintomas. Por último, o estudo de Youssef et al. (2022) também obteve melhores resultados no teste elétrico quando utilizou o PRF do que quando utilizou o coágulo sanguíneo, ainda que sem diferenças estatisticamente significativas.

Um outro estudo incluído nesta revisão sistemática, conduzido por Brizuela et al. (2020), utilizou como material regenerativo células estaminais mesenquimatosas do cordão umbilical (UC-MSC) num *scaffold* pobre em plaquetas (PPP). As UC-MSC apresentam algumas características vantajosas para a medicina regenerativa e, consequentemente, para a regeneração pulpar; entre elas, o seu elevado potencial de diferenciação em células semelhantes a odontoblastos, demonstrado num estudo por Chen et al. (2015) e o seu elevado potencial angiogénico (Angelopoulos et al., 2022). No estudo realizado por Brizuela et al. (2020) foi induzido sangramento no terço apical, previamente à introdução do PPP UC-MSCs. Deste modo, foi possível obter alguma vascularização e oxigenação prévia, de modo a garantir a sobrevivência celular das MSCs (Brizuela et al., 2020).

Estudos recentes têm vindo a utilizar *scaffolds* sintéticos como suporte às células estaminais. Entre estes, é de elevada relevância mencionar o colagénio e a hidroxiapatite, ambos presentes na dentina. Um estudo realizado por Nosrat et al., em 2019, comparou clínica e radiograficamente dentes imaturos tratados com (1) um *scaffold* composto por

colagénio de bovino tipo III combinado com uma estrutura carbonatada de apatite e partículas minerais à base de fosfato de cálcio - *SynOss Putty*, com indução prévia do sangramento, (2) apenas a aplicação do *SynOss Putty* ou ainda (3) unicamente a indução de sangramento apical. Foi demonstrado que a aplicação do *SynOss Putty* simultaneamente ao sangramento apical permitiu a formação e mineralização de tecido junto do cimento presente nas paredes dentinárias, reforçando as mesmas. A possível calcificação do canal radicular ao longo do tempo poderá constituir uma vantagem, uma vez que auxilia na manutenção da função do dente evitando a fratura radicular (Nevins & Cymerman, 2015). No estudo conduzido por Mittal et al. (2021), todos os grupos foram submetidos à indução do sangramento apical previamente à deposição do material a ser utilizado como *scaffold*. Tanto o grupo tratado com o *scaffold* de colagénio como o grupo tratado com o *scaffold* de colagénio e hidroxiapatite obtiveram resolução da lesão periapical. Além disto, pelo menos 30% dos participantes em ambos os grupos tiveram resposta positiva ao teste ao frio.

4.5. *Follow-up* e sucesso clínico

Para uma correta avaliação do sucesso do tratamento endodôntico regenerativo é necessário ser realizado um *follow-up* que integre tanto uma avaliação clínica como radiográfica. Nos estudos que incorporam esta revisão sistemática, todos os pacientes foram seguidos durante, pelo menos, um ano, assim como em outros estudos anteriormente realizados (Meschi et al., 2022). No entanto, apenas uma avaliação histológica é capaz de comprovar a regeneração do tecido pulpar, vascular e nervoso (Iohara et al., 2018).

4.5.1. Sintomatologia apical e avaliação radiográfica

Métodos standardizados de obtenção e medição de imagens radiográficas são cruciais para a correta análise da evolução clínica dos tecidos periapicais. Além disto, é também de elevada importância avaliar clinicamente os sintomas que possam indicar lesão apical, como dor à palpação e/ou à percussão (Arslan et al., 2019).

Num estudo realizado por Paryani et al. (2013), ambos os casos tratados com TER demonstraram resolução da radiotransparência apical. O mesmo ocorreu no estudo

conduzido por Nageh et al. (2018), em que todos os participantes com lesão apical pré-operatória, demonstraram resolução da mesma ao fim de 12 meses. Estes resultados convergem com os resultados obtidos no estudo conduzido por Arslan et al. (2019), em que 92,4% dos participantes obteve uma imagem radiográfica compatível com redução e/ou resolução da lesão periapical, valor superior ao obtido no grupo tratado com TEC, ainda que sem uma diferença estatisticamente significativa. O estudo conduzido por Brizuela et al. (2020) obteve resultados semelhantes, uma vez que, o grupo tratado com TER obteve uma diminuição da dimensão da lesão apical superior ao grupo submetido ao TEC.

Nos restantes artigos incluídos nesta revisão sistemática, observou-se redução e/ou resolução da lesão apical em todos os participantes (Jha et al., 2019; El-Kateb et al., 2020; Abielhassan et al., 2021; Mittal et al., 2021; Youssef et al., 2022).

4.5.2. Testes de sensibilidade

A realização dos testes de sensibilidade – teste ao frio, teste ao calor e teste elétrico, constituem uma forma de avaliação clínica no que diz respeito ao sucesso do tratamento endodôntico regenerativo. Não obstante, é importante referir que uma resposta positiva a estes testes não implica necessariamente presença de tecido pulpar vital, do mesmo modo que uma resposta negativa não implica a ausência de vitalidade (Youssef et al., 2022). Por vezes, após o tratamento endodôntico regenerativo, o canal radicular pode apresentar calcificações ou formação de tecido semelhante ao cimento ou mesmo ao osso alveolar, uma vez que, células estaminais provenientes da zona apical são estimuladas a migrar quando é realizada a indução do sangramento (Chen et al., 2015).

Um estudo realizado em cães, por Iohara et al. (2014), comprovou histologicamente a regeneração de tecido pulpar, vascular e nervoso. No entanto, um sistema de inervação organizado e funcional pode apenas ser possível atingir alguns meses após o tratamento (Nakashima et al., 2017). Tanto no estudo conduzido por El-Kateb et al. (2020) como nos estudos realizados por Mittal et al. (2021) e por Youssef et al. (2022), aos 6 meses a percentagem de resposta positiva ao teste elétrico e/ou ao teste ao frio foi inferior à resposta aos mesmos testes aos 12 meses de *follow-up*. Esta hipótese converge com os resultados obtidos num estudo realizado por Nakashima et al. (2017), em que o TER foi

realizado com recurso ao transplante de MDPSCs em dentes maduros, e a resposta positiva ao teste elétrico apenas se deu após alguns dias da realização do tratamento.

O estudo realizado por Salgar et al. (2017) demonstrou que a probabilidade de uma resposta positiva se traduzir em vitalidade pulpar é superior no teste ao frio, seguido de o teste ao quente e por último o teste elétrico.

Os testes de sensibilidade são, no entanto, um indicador pouco objetivo da presença de tecido pulpar regenerado (Youssef et al., 2022).

4.6. Limitações

Uma das limitações presentes neste trabalho passa pelo estudo realizado por Jha et al. (2019) não explicitar o número de dentes monorradiculares incluídos em cada grupo (TEC e TER), apenas referindo que houve uma tentativa de igualar o número de dentes monorradiculares e multirradiculares nos dois grupos. Além disto, os resultados são apresentados aos 18 meses de *follow-up*, ao contrário de outros estudos que o fazem aos 12 meses. Este parâmetro tem alguma relevância uma vez que o tempo de *follow-up* poderá ter influência na resposta aos parâmetros avaliados.

Um outro estudo, Mittal et al. (2021), não especifica o número de raízes dos dentes submetidos às diferentes intervenções, constituindo assim uma limitação para este trabalho. No entanto, refere a inclusão de dentes anteriores, garantindo a presença de dentes monorradiculares no estudo.

Outra limitação deste trabalho é o facto de não ter sido possível realizar uma análise estatística - meta-análise de incidência, devido à heterogeneidade metodológica e ao escasso número de artigos de elevada evidencia científica (*randomized controlled trials*). A maioria dos artigos encontrados na pesquisa realizada corresponde a *case series* ou *case reports*, tipologia não aconselhada a incluir em revisões sistemáticas.

Deste modo, optou-se pela utilização da *guideline* SWiM, que ainda assim permite uma descrição e análise dos métodos e resultados dos estudos, uma vez que os artigos incluídos não comparam os mesmos protocolos.

Sugere-se que sejam realizados mais estudos de elevada evidência científica, com protocolos standardizados e com maior número de participantes.

V. Conclusões

Este trabalho reúne estudos de elevada evidência científica – *randomized controlled trials* referentes ao tratamento endodôntico regenerativo em dentes maduros monorradiculares.

Embora não seja possível extrapolar o sucesso a longo prazo deste tratamento, uma vez que apenas um estudo realizou o *follow-up* por um período superior a doze meses, parece haver propensão para o sucesso do mesmo, resultando na resolução de sinais e sintomas e, por vezes, recuperação da sensibilidade do dente.

Aparentemente, existe uma tendência para o sucesso clínico ser mais elevado no TER do que no TEC. No entanto, o sucesso depende de diversos fatores como o protocolo de irrigação utilizado, a medicação intracanal, o protocolo de instrumentação, o material regenerador, entre outros.

A heterogeneidade metodológica e o reduzido número de estudos realizados até à data são uma limitação para a produção de uma síntese robusta. Deste modo, como perspectivas futuras, recomenda-se a elaboração de novos ensaios clínicos padronizados com maior número de participantes.

VI. Bibliografia

Abielhassan, M. M., Sabet, N. E. & El Baz, A. A. (2021). Assessment of the Survival and Sensibility of Mature Anterior Teeth with Periapical Lesion after One Step Regenerative Approach Using Different Disinfection Maneuvers: A Randomized Clinical Trial. *Indian Journal of Public Health Research & Development*, 12(3), 416–425. <https://doi.org/10.37506/ijphrd.v12i3.16093>

Altaii, M., Richards, L., & Rossi-Fedele, G. (2017). Histological assessment of regenerative endodontic treatment in animal studies with different scaffolds: A systematic review. *Dental traumatology : official publication of International Association for Dental Traumatology*, 33(4), 235–244. <https://doi.org/10.1111/edt.12338>

Alfadda, S., Alquria, T., Karaismailoglu, E., Aksel, H., & Azim, A. A. (2021). Antibacterial Effect and Bioactivity of Innovative and Currently Used Intracanal Medicaments in Regenerative Endodontics. *Journal of endodontics*, 47(8), 1294–1300. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2021.05.005>

Althumairy, R. I., Teixeira, F. B., & Diogenes, A. (2014). Effect of dentin conditioning with intracanal medicaments on survival of stem cells of apical papilla. *Journal of endodontics*, 40(4), 521–525. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2013.11.008>

Ambore, S. M., Kanthale S., Mukesh, G., Chandrakant, R., & Avinash D. (2013). A brief overview on chitosan applications. *Indo American Journal of Pharm Research*. 3(12), 1563-76.

American Association of Endodontists. (2021) Clinical Considerations for a Regenerative Procedure. *American Association of Endodontists*. 1–6. <https://f3f142zs0k2w1kg84k5p9i1o-wpengine.netdna-ssl.com/specialty/wp-content/uploads/sites/2/2021/08/ClinicalConsiderationsApprovedByREC062921.pdf>

American Association of Endodontists. Regenerative Endodontics. Available at: <http://www.aae.org/regeneration/>. Consultado em Maio, 2022

- Angelopoulos, I., Trigo, C., Ortuzar, M. I., Cuenca, J., Brizuela, C., & Khoury, M. (2022). Delivery of affordable and scalable encapsulated allogenic/autologous mesenchymal stem cells in coagulated platelet poor plasma for dental pulp regeneration. *Scientific reports*, 12(1), 435. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-02118-0>
- Arslan, H., Ahmed, H., Şahin, Y., Doğanay Yıldız, E., Gündoğdu, E. C., Güven, Y., & Khalilov, R. (2019). Regenerative Endodontic Procedures in Necrotic Mature Teeth with Periapical Radiolucencies: A Preliminary Randomized Clinical Study. *Journal of endodontics*, 45(7), 863–872. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2019.04.005>
- Arthur, A., Shi, S., Zannettino, A. C., Fujii, N., Gronthos, S., & Koblar, S. A. (2009). Implanted adult human dental pulp stem cells induce endogenous axon guidance. *Stem cells (Dayton, Ohio)*, 27(9), 2229–2237. <https://doi.org/10.1002/stem.138>
- Baca, P., Junco, P., Arias-Moliz, M. T., González-Rodríguez, M. P., & Ferrer-Luque, C. M. (2011). Residual and antimicrobial activity of final irrigation protocols on *Enterococcus faecalis* biofilm in dentin. *Journal of endodontics*, 37(3), 363–366. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2010.11.036>
- Benatti, O., Valdrighi, L., Biral, R. R., & Pupo, J. (1985). A histological study of the effect of diameter enlargement of the apical portion of the root canal. *Journal of endodontics*, 11(10), 428–434. [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(85\)80080-7](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(85)80080-7)
- 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), 1172–1177. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2013.12.027>
- Bhaskar, S. N., Kumar, G. S. (Eds). (2015). *Orban's oral histology and embryology*. (14th ed.). Elsevier
- Bosaid, F., Aksel, H., Makowka, S., & Azim, A. A. (2020). Surface and structural changes in root dentine by various chelating solutions used in regenerative

endodontics. *International endodontic journal*, 53(10), 1438–1445.
<https://doi.org/10.1111/iej.13354>

Brizuela, C., Meza, G., Urrejola, D., Quezada, M. A., Concha, G., Ramírez, V., Angelopoulos, I., Cadiz, M. I., Tapia-Limonchi, R., & Khoury, M. (2020). Cell-Based Regenerative Endodontics for Treatment of Periapical Lesions: A Randomized, Controlled Phase I/II Clinical Trial. *Journal of dental research*, 99(5), 523–529.
<https://doi.org/10.1177/0022034520913242>

Campbell, M., McKenzie, J. E., Sowden, A., Katikireddi, S. V., Brennan, S. E., Ellis, S., Hartmann-Boyce, J., Ryan, R., Shepperd, S., Thomas, J., Welch, V., & Thomson, H. (2020). Synthesis without meta-analysis (SWiM) in systematic reviews: reporting guideline. *BMJ (Clinical research ed.)*, 368, 16890. <https://doi.org/10.1136/bmj.16890>

Chen, Y. P., Jovani-Sancho, M., & Sheth, C. C. (2015). Is revascularization of immature permanent teeth an effective and reproducible technique?. *Dental traumatology : official publication of International Association for Dental Traumatology*, 31(6), 429–436.
<https://doi.org/10.1111/edt.12214>

Chen, Y., Yu, Y., Chen, L., Ye, L., Cui, J., Sun, Q., Li, K., Li, Z., & Liu, L. (2015). Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells: A New Therapeutic Option for Tooth Regeneration. *Stem cells international*, 2015, 549432.
<https://doi.org/10.1155/2015/549432>

Chen, Y. T., Hsu, T. Y., Liu, H., & Chogle, S. (2021). Factors Related to the Outcomes of Cracked Teeth after Endodontic Treatment. *Journal of endodontics*, 47(2), 215–220.
<https://doi.org/10.1016/j.joen.2020.11.024>

Cooper, P. R., Holder, M. J., & Smith, A. J. (2014). Inflammation and regeneration in the dentin-pulp complex: a double-edged sword. *Journal of endodontics*, 40(4 Suppl), S46–S51. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2014.01.021>

Cuenca S. E., & Baca G. P. (2013). *Odontología preventiva y comunitaria, principios, métodos y aplicaciones*. (4ª ed.). Elsevier Masson.

Cvek M. (1972). Treatment of non-vital permanent incisors with calcium hydroxide. I. Follow-up of periapical repair and apical closure of immature roots. *Odontologisk revy*, 23(1), 27–44.

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>

Dioguardi, M., Gioia, G. D., Illuzzi, G., Laneve, E., Cocco, A., & Troiano, G. (2018). Endodontic irrigants: Different methods to improve efficacy and related problems. *European Journal of Dentistry*, 12(3), 459–466. https://doi.org/10.4103/ejd.ejd_56_18

El-Kateb, N. M., El-Backly, R. N., Amin, W. M., & Abdalla, A. M. (2020). Quantitative Assessment of Intracanal Regenerated Tissues after Regenerative Endodontic Procedures in Mature Teeth Using Magnetic Resonance Imaging: A Randomized Controlled Clinical Trial. *Journal of endodontics*, 46(5), 563–574. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2020.01.026>

Eramo, S., Natali, A., Pinna, R., & Milia, E. (2018). Dental pulp regeneration via cell homing. *International endodontic journal*, 51(4), 405–419. <https://doi.org/10.1111/iej.12868>

Farges, J. C., Alliot-Licht, B., Baudouin, C., Msika, P., Bleicher, F., & Carrouel, F. (2013). Odontoblast control of dental pulp inflammation triggered by cariogenic bacteria. *Frontiers in physiology*, 4, 326. <https://doi.org/10.3389/fphys.2013.00326>

Ferreira, L. N., Puppini-Rontani, R. M., & Pascon, F. M. (2020). Effect of Intracanal Medicaments and Irrigants on the Release of Transforming Growth Factor Beta 1 and Vascular Endothelial Growth Factor from Cervical Root Dentin. *Journal of endodontics*, 46(11), 1616–1622. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2020.07.034>

- Fouad A. F. (2020). Contemporary Microbial and Antimicrobial Considerations in Regenerative Endodontic Therapy. *Journal of endodontics*, 46(9S), S105–S114. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2020.06.030>
- Galler, K. M. (2014). Scaffolds for Pulp Repair and Regeneration. In M. Goldberg (Ed.), *The Dental Pulp Biology, Pathology, and Regenerative Therapies*. Springer.
- Galler, K. M., Buchalla, W., Hiller, K. A., Federlin, M., Eidt, A., Schiefersteiner, M., & Schmalz, G. (2015). Influence of root canal disinfectants on growth factor release from dentin. *Journal of endodontics*, 41(3), 363–368. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2014.11.021>
- Galler, K. M., Widbiller, M., Buchalla, W., Eidt, A., Hiller, K. A., Hoffer, P. C., & Schmalz, G. (2016). EDTA conditioning of dentine promotes adhesion, migration and differentiation of dental pulp stem cells. *International endodontic journal*, 49(6), 581–590. <https://doi.org/10.1111/iej.12492>
- Galler, K. M., Weber, M., Korkmaz, Y., Widbiller, M., & Feuerer, M. (2021). Inflammatory Response Mechanisms of the Dentine-Pulp Complex and the Periapical Tissues. *International journal of molecular sciences*, 22(3), 1480. <https://doi.org/10.3390/ijms22031480>
- Garcez, A. S., Nuñez, S. C., Hamblim, M. R., Suzuki, H., & Ribeiro, M. S. (2010). Photodynamic therapy associated with conventional endodontic treatment in patients with antibiotic-resistant microflora: a preliminary report. *Journal of endodontics*, 36(9), 1463–1466. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2010.06.001>
- García, C. C., Sempere, F. V., Diago, M. P., & Bowen, E. M. (2007). The post-endodontic periapical lesion: histologic and etiopathogenic aspects. *Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal*, 12(8), E585–E590.
- Gardin, C., Ricci, S., & Ferroni, L. (2016). Dental Stem Cells (DSCs): Classification and Properties. In B. Zavan & E. Bressan (Eds.), *Dental Stem Cells: Regenerative Potential, Stem Cell Biology and Regenerative Medicine*. Humana Press.

Goldberg, M. (Ed.). (2014). *The Dental Pulp: Biology, Pathology, and Regenerative Therapies*. Springer

Hassan, H., & Negm, A. (2018). A comparative study to evaluate the effect of different irrigating solutions on the smear layer. *Egyptian Dental Journal*, 64(Issue 1 - January (Fixed Prosthodontics, Dental Materials, Conservative Dentistry & Endodontics)), 457-465. doi: 10.21608/edj.2018.78048

Hargreaves, K. M., Cohen, S., & Berman, L. H. (Eds.). (2011). *Cohen Pathways of the Pulp* (10^a ed.). Elsevier.

He, L., Lin, Y., Hu, X., Zhang, Y., & Wu, H. (2009). A comparative study of platelet-rich fibrin (PRF) and platelet-rich plasma (PRP) on the effect of proliferation and differentiation of rat osteoblasts in vitro. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 108(5), 707–713. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2009.06.044>

He, L., Kim, S. G., Gong, Q., Zhong, J., Wang, S., Zhou, X., Ye, L., Ling, J., & Mao, J. J. (2017). Regenerative Endodontics for Adult Patients. *Journal of endodontics*, 43(9S), S57–S64. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2017.06.012>

Higgins, J. P. T., Sterne, J. A. C., Savović, J., Page, M. J., Hróbjartsson, A., Boutron, I., Reeves, B., & Eldridge, S. (2016). A revised tool for assessing risk of bias in randomized trials In: Chandler, J., McKenzie, J., Boutron, I., Welch, V. (editors). *Cochrane Methods. Cochrane Database of Systematic Reviews*. Issue 10 (Suppl 1). dx.doi.org/10.1002/14651858.CD201601.

Hilkens, P., Lambrichts, I., & Bronckers, A. (2019). Current and Future Views on Pulpal Angiogenesis. In H. F. Duncan & P. R. Cooper (Eds.), *Clinical Approaches in Endodontic Regeneration Current and Emerging Therapeutic Perspectives*. Springer.

Huang, G. T., 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.
<https://doi.org/10.1016/j.joen.2008.03.001>

Huang, G. T., Gronthos, S., & Shi, S. (2009). Mesenchymal stem cells derived from dental tissues vs. those from other sources: their biology and role in regenerative medicine. *Journal of dental research*, 88(9), 792–806.
<https://doi.org/10.1177/0022034509340867>

Huang, C. Y., Pelaez, D., Dominguez-Bendala, J., Garcia-Godoy, F., & Cheung, H. S. (2009). Plasticity of stem cells derived from adult periodontal ligament. *Regenerative medicine*, 4(6), 809–821. <https://doi.org/10.2217/rme.09.55>

Iohara, K., Utsunomiya, S., Kohara, S., & Nakashima, M. (2018). Allogeneic transplantation of mobilized dental pulp stem cells with the mismatched dog leukocyte antigen type is safe and efficacious for total pulp regeneration. *Stem cell research & therapy*, 9(1), 116. <https://doi.org/10.1186/s13287-018-0855-8>

Ionescu, A. C., Degli Esposti, L., Iafisco, M., & Brambilla, E. (2022). Dental tissue remineralization by bioactive calcium phosphate nanoparticles formulations. *Scientific reports*, 12(1), 5994. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-09787-5>

Jha, P., Viridi, M. S., & Nain, S. (2019). A Regenerative Approach for Root Canal Treatment of Mature Permanent Teeth: Comparative Evaluation with 18 Months Follow-up. *International journal of clinical pediatric dentistry*, 12(3), 182–188.
<https://doi.org/10.5005/jp-journals-10005-1616>

Lacruz, R. S., Habelitz, S., Wright, J. T., & Paine, M. L. (2017). DENTAL ENAMEL FORMATION AND IMPLICATIONS FOR ORAL HEALTH AND DISEASE. *Physiological reviews*, 97(3), 939–993.
<https://doi.org/10.1152/physrev.00030.2016>

Laureys, W. G., Cuvelier, C. A., Dermaut, L. R., & De Pauw, G. A. (2013). The critical apical diameter to obtain regeneration of the pulp tissue after tooth transplantation,

replantation, or regenerative endodontic treatment. *Journal of endodontics*, 39(6), 759–763. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2013.02.004>

Law, A. S. (2013). Considerations for regeneration procedures. *Journal of endodontics*, 39(3 Suppl), S44–S56. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2012.11.019>

Lee, M. T., Bird, P. S., & Walsh, L. J. (2004). Photo-activated disinfection of the root canal: a new role for lasers in endodontics. *Australian endodontic journal : the journal of the Australian Society of Endontology Inc*, 30(3), 93–98. <https://doi.org/10.1111/j.1747-4477.2004.tb00417.x>

Mao, J. J., & Prockop, D. J. (2012). Stem cells in the face: tooth regeneration and beyond. *Cell stem cell*, 11(3), 291–301. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2012.08.010>

Mao, J. J., Kim, S. G., Zhou, J., Ye, L., Cho, S., Suzuki, T., Fu, S. Y., Yang, R., & Zhou, X. (2012). Regenerative endodontics: barriers and strategies for clinical translation. *Dental clinics of North America*, 56(3), 639–649. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2012.05.005>

Martin, D. E., De Almeida, J. F., 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>

McGuinness, L. A., & Higgins, J. (2021). Risk-of-bias VISualization (robvis): An R package and Shiny web app for visualizing risk-of-bias assessments. *Research synthesis methods*, 12(1), 55–61. <https://doi.org/10.1002/jrsm.1411>

Meschi, N., Palma, P. J., & Cabanillas-Balsera, D. (2022). Effectiveness of revitalization in treating apical periodontitis: A systematic review and meta-analysis. *International endodontic journal*. 00, 1–23. <https://doi.org/10.1111/iej.13778>

Mittal, N., Baranwal, H. C., Kumar, P., & Gupta, S. (2021). Assessment of pulp sensibility in the mature necrotic teeth using regenerative endodontic therapy with various

scaffolds - Randomised clinical trial. *Indian journal of dental research : official publication of Indian Society for Dental Research*, 32(2), 216–220.
https://doi.org/10.4103/ijdr.ijdr_253_21

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>

Nageh, M., Ahmed, G. M., & El-Baz, A. A. (2018). Assessment of Regaining Pulp Sensibility in Mature Necrotic Teeth Using a Modified Revascularization Technique with Platelet-rich Fibrin: A Clinical Study. *Journal of endodontics*, 44(10), 1526–1533.
<https://doi.org/10.1016/j.joen.2018.06.014>

Nakashima, M. & Iohara, K. (2014). Experimental In Vivo Approaches of Pulp Regeneration. In M. Goldberg (Ed.), *The Dental Pulp Biology, Pathology, and Regenerative Therapies*. Springer.

Nakashima, M., Iohara, K., Murakami, M., Nakamura, H., Sato, Y., Ariji, Y., & Matsushita, K. (2017). Pulp regeneration by transplantation of dental pulp stem cells in pulpitis: a pilot clinical study. *Stem cell research & therapy*, 8(1), 61.
<https://doi.org/10.1186/s13287-017-0506-5>

Nanci, A. (2018). *Ten Cate's oral histology: development, structure, and function*. Elsevier.

Narang, I., Mittal, N., & Mishra, N. (2015). A comparative evaluation of the blood clot, platelet-rich plasma, and platelet-rich fibrin in regeneration of necrotic immature permanent teeth: A clinical study. *Contemporary clinical dentistry*, 6(1), 63–68.
<https://doi.org/10.4103/0976-237X.149294>

Nevins, A. J., & Cymerman, J. J. (2015). Revitalization of open apex teeth with apical periodontitis using a collagen-hydroxyapatite scaffold. *Journal of endodontics*, 41(6), 966–973. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2014.12.010>

Nosrat, A., Kolahdouzan, A., Khatibi, A. H., Verma, P., Jamshidi, D., Nevins, A. J., & Torabinejad, M. (2019). Clinical, Radiographic, and Histologic Outcome of Regenerative Endodontic Treatment in Human Teeth Using a Novel Collagen-hydroxyapatite Scaffold. *Journal of endodontics*, 45(2), 136–143. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2018.10.012>

Ostby B. N. (1961) The role of the blood clot in endodontic therapy. An experimental histologic study. *Acta Odontol Scandinavica*, 19, 324–53.

Page, M. J., McKenzie, J. E., Bossuyt, P. M., Boutron, I., Hoffmann, T. C., Mulrow, C. D., Shamseer, L., Tetzlaff, J. M., Akl, E. A., Brennan, S. E., Chou, R., Glanville, J., Grimshaw, J. M., Hróbjartsson, A., Lalu, M. M., Li, T., Loder, E. W., Mayo-Wilson, E., McDonald, S., McGuinness, L. A., ... Moher, D. (2021). The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ (Clinical research ed.)*, 372, n71. <https://doi.org/10.1136/bmj.n71>

Parris, J., Wilcox, L., & Walton, R. (1994). Effectiveness of apical clearing: histological and radiographical evaluation. *Journal of endodontics*, 20(5), 219–224. [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(06\)80281-5](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(06)80281-5)

Paryani, K., & Kim, S. G. (2013). Regenerative endodontic treatment of permanent teeth after completion of root development: a report of 2 cases. *Journal of endodontics*, 39(7), 929–934. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2013.04.029>

Peralta, T. L., & Nör, J. E. (2014). Regeneration of the Living Pulp. In M. Goldberg (Ed.), *The Dental Pulp Biology, Pathology, and Regenerative Therapies*. Springer.

Peters, D. D., Baumgartner, J. C., & Lorton, L. (1994). Adult pulpal diagnosis. I. Evaluation of the positive and negative responses to cold and electrical pulp tests. *Journal of endodontics*, 20(10), 506–511. [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(06\)80048-8](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(06)80048-8)

Pirani, C., Chersoni, S., Montebugnoli, L., & Prati, C. (2015). Long-term outcome of non-surgical root canal treatment: a retrospective analysis. *Odontology*, 103(2), 185–193. <https://doi.org/10.1007/s10266-014-0159-0>

Porto, L. V., Celestino da Silva Neto, J., Anjos Pontual, A. D., & Catunda, R. Q. (2015). Evaluation of volumetric changes of teeth in a Brazilian population by using cone beam computed tomography. *Journal of forensic and legal medicine*, 36, 4–9. <https://doi.org/10.1016/j.jflm.2015.07.007>

Prada, I., Micó-Muñoz, P., Giner-Lluesma, T., Micó-Martínez, P., Muwaquet-Rodríguez, S., & Alberio-Monteagudo, A. (2019). Update of the therapeutic planning of irrigation and intracanal medication in root canal treatment. A literature review. *Journal of clinical and experimental dentistry*, 11(2), e185–e193. <https://doi.org/10.4317/jced.55560>

Roberts-Clark, D. J., & Smith, A. J. (2000). Angiogenic growth factors in human dentine matrix. *Archives of oral biology*, 45(11), 1013–1016. [https://doi.org/10.1016/s0003-9969\(00\)00075-3](https://doi.org/10.1016/s0003-9969(00)00075-3)

Roy, S., Driggs, J., Elgharably, H., Biswas, S., Findley, M., Khanna, S., Gnyawali, U., Bergdall, V. K., & Sen, C. K. (2011). Platelet-rich fibrin matrix improves wound angiogenesis via inducing endothelial cell proliferation. *Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, 19(6), 753–766. <https://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2011.00740.x>

Ruparel, N. B., Austah, O. N., & Diogenes, A. (2019). Current and Future Views on Disinfection for Regenerative Strategies. In H. F. Duncan & P. R. Cooper (Eds.), *Clinical Approaches in Endodontic Regeneration Current and Emerging Therapeutic Perspectives*. Springer.

Samiei, M., Shahi, S., Abdollahi, A. A., Eskandarinezhad, M., Negahdari, R., & Pakseresht, Z. (2016). The Antibacterial Efficacy of Photo-Activated Disinfection, Chlorhexidine and Sodium Hypochlorite in Infected Root Canals: An in Vitro Study. *Iranian endodontic journal*, 11(3), 179–183. <https://doi.org/10.7508/iej.2016.03.006>

Salgar, A. R., Singh, S. H., Podar, R. S., Kulkarni, G. P., & Babel, S. N. (2017). Determining predictability and accuracy of thermal and electrical dental pulp tests: An in vivo study. *Journal of conservative dentistry: JCD*, 20(1), 46–49. <https://doi.org/10.4103/0972-0707.209067>

Saoud, T. M., Sigurdsson, A., Rosenberg, P. A., Lin, L. M., & Ricucci, D. (2014). Treatment of a large cystlike inflammatory periapical lesion associated with mature necrotic teeth using regenerative endodontic therapy. *Journal of endodontics*, 40(12), 2081–2086. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2014.07.027>

Scelza, P., Gonçalves, F., Caldas, I., Nunes, F., Lourenço, E. S., Tavares, S., Magno, M., Pintor, A., Montemezzi, P., Edoardo, E. D., Mourão C. F. d. A. B., Alves, G., & Scelza M. Z. (2021) Prognosis of Regenerative Endodontic Procedures in Mature Teeth: A Systematic Review and Meta-Analysis of Clinical and Radiographic Parameters. *Materials*, 14, 4418. <https://doi.org/10.3390/ma14164418>

Shah N. (2016). A regeneration-based, nonobturation root-canal treatment for fully-mature teeth: Six years' experience with "SealBio". *Contemporary clinical dentistry*, 7(3), 296–301. <https://doi.org/10.4103/0976-237X.188541>

Simon, S., Smith, A. J., Lumley, P. J., Cooper, P. R., & Berdal, A. (2012). The pulp healing process: from generation to regeneration. *Endodontic Topics*, 26, 41–56. <https://doi.org/10.1002/9781118704509.ch13>

Soukup, V., Epperlein, H. H., Horáček, I., & Cerny, R. (2008). Dual epithelial origin of vertebrate oral teeth. *Nature*, 455(7214), 795–798. <https://doi.org/10.1038/nature07304>

Sterne, J. A. C., Savović, J., Page, M. J., Elbers, R. G., Blencowe, N. S., Boutron, I., Cates, C. J., Cheng, H-Y., Corbett, M. S., Eldridge, S. M., Hernán, M. A., Hopewell, S., Hróbjartsson, A., Junqueira, D. R., Jüni, P., Kirkham, J. J., Lasserson, T., Li, T., McAleenan, A., Reeves, B. C., Shepperd, S., Shrier, I., Stewart, L. A., Tilling, K., White, I. R., Whiting, P. F., & Higgins, J. P. T. (2019) RoB 2: a revised tool for assessing risk of bias in randomised trials. *BMJ*. 366: l4898.

Suchánek, J., Browne, Z. K., Kleplová, T. S., & Mazurová, Y. (2016). Protocols for Dental-Related Stem Cells Isolation, Amplification and Differentiation. In Zavan, B. & Bressan, E. (Eds.), *Dental Stem Cells: Regenerative Potential, Stem Cell Biology and Regenerative Medicine* (Cap 2, pp. 27-57). Humana Press.

Tagelsir, A., Yassen, G. H., Gomez, G. F., & Gregory, R. L. (2016). Effect of Antimicrobials Used in Regenerative Endodontic Procedures on 3-week-old *Enterococcus faecalis* Biofilm. *Journal of endodontics*, 42(2), 258–262. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2015.09.023>

Tucker, A., & Sharpe, P. (2014). The cutting-edge of mammalian development; how the embryo makes teeth. *Nature reviews. Genetics*. 5(7), 499–508. <https://doi.org/10.1038/nrg1380>

Organização Mundial da Saúde. (2017). *Sugars and dental caries*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/sugars-and-dental-caries>

Youssef, A., Ali, M., ElBolak, A., & Hassan, R. (2022). Regenerative endodontic procedures for the treatment of necrotic mature teeth: A preliminary randomized clinical trial. *International endodontic journal*, 55(4), 334–346. <https://doi.org/10.1111/iej.13681>

Zavan, B. & Bressan, E. (Eds.). (2016). *Dental Stem Cells: Regenerative Potential, Stem Cell Biology and Regenerative Medicine*. Humana Press

Zhou, R., Wang, Y., Chen, Y., Chen, S., Lyu, H., Cai, Z., & Huang, X. (2017). Radiographic, Histologic, and Biomechanical Evaluation of Combined Application of Platelet-rich Fibrin with Blood Clot in Regenerative Endodontics. *Journal of endodontics*, 43(12), 2034–2040. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2017.07.021>

VII. Anexos

Anexo I. PRISMA 2020 Checklist

Section and Topic	Item #	Checklist item	Location where item is reported
TITLE			
Title	1	Identify the report as a systematic review.	1-3
ABSTRACT			
Abstract	2	See the PRISMA 2020 for Abstracts checklist.	1-3
INTRODUCTION			
Rationale	3	Describe the rationale for the review in the context of existing knowledge.	13-30
Objectives	4	Provide an explicit statement of the objective(s) or question(s) the review addresses.	13
METHODS			
Eligibility criteria	5	Specify the inclusion and exclusion criteria for the review and how studies were grouped for the syntheses.	33
Information sources	6	Specify all databases, registers, websites, organisations, reference lists and other sources searched or consulted to identify studies. Specify the date when each source was last searched or consulted.	34
Search strategy	7	Present the full search strategies for all databases, registers and websites, including any filters and limits used.	34
Selection process	8	Specify the methods used to decide whether a study met the inclusion criteria of the review, including how many reviewers screened each record and each report retrieved, whether they worked independently, and if applicable, details of automation tools used in the process.	34-35
Data collection process	9	Specify the methods used to collect data from reports, including how many reviewers collected data from each report, whether they worked independently, any processes for obtaining or confirming data from study investigators, and if applicable, details of automation tools used in the process.	35
Data items	10a	List and define all outcomes for which data were sought. Specify whether all results that were compatible with each outcome domain in each study were sought (e.g. for all measures, time points, analyses), and if not, the methods used to decide which results to collect.	35
	10b	List and define all other variables for which data were sought (e.g. participant and intervention characteristics, funding sources). Describe any assumptions made about any missing or unclear information.	35
Study risk of bias assessment	11	Specify the methods used to assess risk of bias in the included studies, including details of the tool(s) used, how many reviewers assessed each study and whether they worked independently, and if applicable, details of automation tools used in the process.	35
Effect measures	12	Specify for each outcome the effect measure(s) (e.g. risk ratio, mean difference) used in the synthesis or presentation of results.	NA

Section and Topic	Item #	Checklist item	Location where item is reported
Synthesis methods	13a	Describe the processes used to decide which studies were eligible for each synthesis (e.g. tabulating the study intervention characteristics and comparing against the planned groups for each synthesis (item #5)).	36
	13b	Describe any methods required to prepare the data for presentation or synthesis, such as handling of missing summary statistics, or data conversions.	36
	13c	Describe any methods used to tabulate or visually display results of individual studies and syntheses.	36
	13d	Describe any methods used to synthesize results and provide a rationale for the choice(s). If meta-analysis was performed, describe the model(s), method(s) to identify the presence and extent of statistical heterogeneity, and software package(s) used.	36
	13e	Describe any methods used to explore possible causes of heterogeneity among study results (e.g. subgroup analysis, meta-regression).	36
	13f	Describe any sensitivity analyses conducted to assess robustness of the synthesized results.	NA
Reporting bias assessment	14	Describe any methods used to assess risk of bias due to missing results in a synthesis (arising from reporting biases).	35
Certainty assessment	15	Describe any methods used to assess certainty (or confidence) in the body of evidence for an outcome.	NA
RESULTS			
Study selection	16a	Describe the results of the search and selection process, from the number of records identified in the search to the number of studies included in the review, ideally using a flow diagram.	37-38
	16b	Cite studies that might appear to meet the inclusion criteria, but which were excluded, and explain why they were excluded.	N/A
Study characteristics	17	Cite each included study and present its characteristics.	38-41
Risk of bias in studies	18	Present assessments of risk of bias for each included study.	58-60
Results of individual studies	19	For all outcomes, present, for each study: (a) summary statistics for each group (where appropriate) and (b) an effect estimate and its precision (e.g. confidence/credible interval), ideally using structured tables or plots.	42-58
Results of syntheses	20a	For each synthesis, briefly summarise the characteristics and risk of bias among contributing studies.	42-58
	20b	Present results of all statistical syntheses conducted. If meta-analysis was done, present for each the summary estimate and its precision (e.g. confidence/credible interval) and measures of statistical heterogeneity. If comparing groups, describe the direction of the effect.	42-58
	20c	Present results of all investigations of possible causes of heterogeneity among study results.	42-58
	20d	Present results of all sensitivity analyses conducted to assess the robustness of the synthesized results.	42-58
Reporting biases	21	Present assessments of risk of bias due to missing results (arising from reporting biases) for each synthesis assessed.	42-58

Section and Topic	Item #	Checklist item	Location where item is reported
Certainty of evidence	22	Present assessments of certainty (or confidence) in the body of evidence for each outcome assessed.	NA
DISCUSSION			
Discussion	23a	Provide a general interpretation of the results in the context of other evidence.	61-71
	23b	Discuss any limitations of the evidence included in the review.	71-72
	23c	Discuss any limitations of the review processes used.	71-72
	23d	Discuss implications of the results for practice, policy, and future research.	71-72
OTHER INFORMATION			
Registration and protocol	24a	Provide registration information for the review, including register name and registration number, or state that the review was not registered.	NA
	24b	Indicate where the review protocol can be accessed, or state that a protocol was not prepared.	NA
	24c	Describe and explain any amendments to information provided at registration or in the protocol.	NA
Support	25	Describe sources of financial or non-financial support for the review, and the role of the funders or sponsors in the review.	NA
Competing interests	26	Declare any competing interests of review authors.	NA
Availability of data, code and other materials	27	Report which of the following are publicly available and where they can be found: template data collection forms; data extracted from included studies; data used for all analyses; analytic code; any other materials used in the review.	NA

Anexo II. SWiM Checklist

SWiM reporting item	Item description	Page in manuscript where item is reported	Other*
Methods			
1 Grouping studies for synthesis	1a) Provide a description of, and rationale for, the groups used in the synthesis (eg, groupings of populations, interventions, outcomes, study design)	36	
	1b) Detail and provide rationale for any changes made subsequent to the protocol in the groups used in the synthesis	NA	
2 Describe the standardised metric and transformation methods used	Describe the standardised metric for each outcome. Explain why the metric(s) was chosen and describe any methods used to transform the intervention effects, as reported in the study, to the standardised metric, citing any methodological guidance consulted	NA	
3 Describe the synthesis methods	Describe and justify the methods used to synthesise the effects for each outcome when it was not possible to undertake a meta-analysis of effect estimates	36	
4 Criteria used to prioritise results for summary and synthesis	Where applicable, provide the criteria used, with supporting justification, to select the particular studies, or a particular study, for the main synthesis or to draw conclusions from the synthesis (eg, based on study design, risk of bias assessments, directness in relation to the review question)	36	
5 Investigation of heterogeneity in reported effects	State the method(s) used to examine heterogeneity in reported effects when it was not possible to undertake a meta-analysis of effect estimates and its extensions to investigate heterogeneity	36	
6 Certainty of evidence	Describe the methods used to assess the certainty of the synthesis findings	36	
7 Data presentation methods	Describe the graphical and tabular methods used to present the effects (eg, tables, forest plots, harvest plots)	36	
	Specify key study characteristics (eg, study design, risk of bias) used to order the studies, in the text and any tables or graphs, clearly referencing the studies included		
Results			
8 Reporting results	For each comparison and outcome, provide a description of the synthesised findings and the certainty of the findings. Describe the result in language that is consistent with the question the synthesis addresses, and indicate which studies contribute to the synthesis	43-58	
Discussion			
9 Limitations of the synthesis	Report the limitations of the synthesis methods used and/or the groupings used in the synthesis and how these affect the conclusions that can be drawn in relation to the original review question	71	
PRISMA=Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses. *If the information is not provided in the systematic review, give details of where this information is available (eg, protocol, other published papers (provide citation details), or website (provide the URL)).			

Anexo III. Autorização para uso das imagens referentes às **Figuras 1, 5 e 6.**

1. Orban's oral histology and embryology

Billing Status:
Open

[Print License](#)

Order License ID	1251347-1
Order detail status	Completed
ISBN-13	9780801602399
Type of use	Republish in a thesis/dissertation
Publisher	MOSBY YEAR BOOK,
Portion	Image/photo/illustration

Anexo IV. Autorização para uso das imagens referentes às **Figuras 2, 3 e 4.**

1. Dental Stem Cells: Regenerative Potential

Billing Status:
Open

[Print License](#)

Order License ID	1250308-1
Order detail status	Completed
ISBN-13	9783319332970
Type of use	Republish in a thesis/dissertation
Publisher	Springer International Publishing, Springer Inte...
Portion	Image/photo/illustration

*TAXA DE SUCESSO CLÍNICO DO TRATAMENTO ENDODÔNTICO REGENERATIVO EM DENTES MADUROS
MONORRADICULARES: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA*