



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE  
PIRACICABA**



BRUNA ALVES TAVEIRA UENO

# **REVASCULARIZAÇÃO PULPAR: INFLUÊNCIA DAS SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS AUXILIARES E MEDICAÇÕES.**

Monografia apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, como requisito para obtenção do Título de Especialista em Endodontia.

PIRACICABA

2014



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE  
PIRACICABA**



BRUNA ALVES TAVEIRA UENO

# **REVASCULARIZAÇÃO PULPAR: INFLUÊNCIA DAS SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS AUXILIARES E MEDICAÇÕES.**

Monografia apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, como requisito para obtenção do Título de Especialista em Endodontia.

Orientador: Prof. Dr. José Flávio Affonso de Almeida

PIRACICABA

2014

Ficha catalográfica  
Universidade Estadual de Campinas  
Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba  
Marilene Girello - CRB 8/6159

Ue5r Ueno, Bruna Alves Taveira, 1987-  
Revascularização pulpar: influência das substâncias  
químicas auxiliares e medicações / Bruna Alves  
Taveira Ueno. -- Piracicaba, SP: [s.n.], 2014.

Orientador: José Flávio Affonso de Almeida.  
Trabalho de Conclusão de Curso (especialização) –  
Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de  
Odontologia de Piracicaba.

1. Endodontia. 2. Ácido edético. 3. Hidróxido de  
cálcio. 4. Hipoclorito de sódio. 5. Clorexidina. 6.  
Protocolos. I. Almeida, José Flávio Affonso de, 1979-  
II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de  
Odontologia de Piracicaba. III. Título.

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus pais por serem minha motivação pessoal, sempre me incentivando e apoiando incondicionalmente.

Ao meu namorado Roberto por toda ajuda e atenção, sempre me ensinando a fazer o melhor.

Aos meus colegas de turma Carolina, Fernanda, Bianca, Helton, Vanessa, Gisele, Mariane, Manuela, Renata, Sylvia e Aline pela convivência e amizade. Em especial à Carolina por toda a ajuda durante as clínicas e sobretudo pelo carinho.

À todos os professores da Endodontia da FOP-UNICAMP pelos ensinamentos e enriquecimento profissional.

Ao meu orientador Prof. Dr. José Flávio Affonso de Almeida pelo ensinamentos e atenção dedicada.

Às funcionárias Maria Helídia e Dorinha Romano por todo carinho e atenção dedicados a mim durante o curso.

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, na pessoa do seu diretor, Prof. Dr. Jacks Jorge Junior.

## SUMÁRIO

RESUMO	5
ABSTRACT	6
1.INTRODUÇÃO	7
2.REVISÃO DE LITERATURA	
2.1 REVASCULARIZAÇÃO	10
2.2 ORIGEM E MECANISMO	10
2.3 SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS AUXILIARES E MEDICAÇÕES UTILIZADAS	11
3.DISSCUSSÃO	21
4.CONCLUSÃO	25
REFERÊNCIAS	26

## RESUMO

A odontologia regenerativa tem como objetivo induzir a reposição biológica dos tecidos dentários e suas estruturas de suporte, o potencial de desenvolvimento dessa área está na utilização de fatores de crescimento e diferenciação que induzem a regeneração biológica natural. O conceito de regeneração dos tecidos dentários surgiu há mais de 50 anos com a aplicação de hidróxido de cálcio no tratamento da polpa vital e quando o método de revascularização no reestabelecimento do complexo dentino-pulpar avaliado em dentes permanentes com necrose pulpar. No ano 2000, a revascularização passou a ser uma opção ao tratamento de apicificação e desde então esse procedimento vem sendo realizado com diferentes protocolos, no entanto a falta de padronização dos mesmos prejudica o desenvolvimento da técnica. O objetivo deste trabalho foi revisar na literatura os casos clínicos realizados, analisando como a escolha das substâncias químicas auxiliares e medicações podem influenciar o sucesso do procedimento. Assim, foi possível encontrar que a realização da técnica de revascularização em casos clínicos controlados, usando substâncias com atividade antimicrobiana e baixa toxicidade sobre as células tronco pode nos aproximar da regeneração pulpar.

**Palavras-chave:** EDTA, hidróxido de cálcio, protocolos, hipoclorito de sódio, clorexidina.

## ABSTRACT

The regenerative odontology aims to induce the biological replacement of the dental tissues and its supporting structures. The potential of development around this area relies in the use of growth and differentiation factors which lead to natural regeneration. The concept of dental tissue regeneration appeared over 50 years with the-use of calcium hydroxide in the vital pulp treatment and when the revascularization method in the dentin-pulp complex reestablishment was evaluated in permanent teeth with pulp necrosis. In 2000, the revascularization became an option to the apexification treatment. Since then, this procedure has been done using different protocols, however the lack of standardization impairs the development of this technique. The purpose of this study was to revise the literature on clinical cases, analyzing how the choice of auxiliary chemical substances and medication may influence the procedure success. Therefore, it was possible to notice that the performing of the revascularization technique in controlled clinical cases, using substances with antimicrobial activity and low toxicity on stem cells may approach pulp regeneration.

**Key words:** EDTA, calcium hydroxide, sodium hypochlorite, protocols, chlorhexidine.

## 1. INTRODUÇÃO

A endodontia regenerativa vem avançando rapidamente, baseada nos princípios da engenharia tecidual, conhecida pela disposição de células, arcabouços e fatores de crescimento. A revascularização tem como objetivo regenerar os tecidos biológicos dentro do espaço do canal radicular, sem necessariamente replicar o complexo dentino-pulpar. Embora não seja o tratamento regenerador ideal é importante notar que as técnicas de revascularização clínica necessitam de um arcabouço (fibrina), fatores de crescimento a partir de plaquetas ou acesso a proteínas imersas nas paredes dentinárias. O resultado clínico consiste na formação continuada, percebida radiograficamente, de desenvolvimento radicular em dentes imaturos com diagnóstico de necrose pulpar (Cohen & Hargreaves, 2011)

As pesquisas nessa área começaram em meados das décadas de 50 e 60, porém o enfoque era um pouco diferente da atualidade. Neste período, os estudos em sua grande maioria, abordavam revascularização pulpar de dentes reimplantados ou transplantados, observando a ocorrência ou não de revascularização da polpa após estes procedimentos e ainda os danos que a falta dessa revascularização poderia causar ao dente (Hale, 1954; Myers e Flanagan, 1958; Pafford, 1956). Em 1961, Östby, realizou estudo em dentes humanos e de cães onde avaliou o papel do coágulo sanguíneo no canal radicular. Neste estudo verificou que tanto o sangue quanto o coágulo sanguíneo pareceram ser essenciais para a formação de tecido conjuntivo fibroso no interior de canais radiculares vazios.

No final da década de 70 e início da década de 80, foram realizados estudos em cães (Johnson e Burich, 1979; Sheppard e Burich, 1980), sobre revascularização em dentes que sofreram avulsão e posteriormente foram reimplantados, mostrando que em alguns dentes houve revascularização da polpa e em outros isto não ocorreu levando ao processo de reabsorção do dente. Posteriormente, o mesmo grupo de autores (Johnson *et al.*, 1985) afirmaram que o reimplante realizado após período extra-alveolar curto parece proporcionar melhor prognóstico para a manutenção em longo prazo do dente avulsionado. Um ano depois, Kling *et al.* (1986), realizaram estudo em humanos e observaram que os dentes imaturos que permaneceram um tempo inferior a 45 minutos fora da cavidade oral apresentaram um maior índice de revascularização pulpar.

Na década de 90, pesquisas mais aprofundadas em macacos avaliaram alguns fatores que poderiam influenciar no processo de revascularização, dentre eles a administração de antibiótico por via sistêmica (Cvek *et al.*, 1990). Os resultados mostraram que esse procedimento não foi capaz de evitar a contaminação do tecido pulpar, levando ao insucesso os casos onde havia microrganismos no dente.

De maneira geral, esses estudos consideravam a importância da possibilidade de preservação do tecido pulpar em dentes reimplantados por meio da hipótese de revascularizar aquele tecido.

Segundo (Seale & Glickman 2008) a maioria, mas não todos os estudos desse período, sugeriram que é possível criar um ambiente que favoreça o crescimento de tecido conjuntivo fibroso no interior do sistema dos canais radiculares que seja capaz de depositar tecido mineralizado nas paredes do canal, o tecido mineralizado foi frequentemente descrito como cemento e os elementos inflamatórios e/ou a reabsorção também foram relatados, tais achados claramente não replicaram o complexo dentino - pulpar.

A partir do ano 2000, a revascularização passou a ser abordada como uma alternativa ao tratamento de apicificação. Os pesquisadores começaram a considerar que uma terapia endodôntica conservadora poderia apresentar grande probabilidade de sucesso devido ao aumento da espessura dentinária e fechamento do forame apical, em dentes com rizogênese incompleta (Nosrat *et al.*, 2011).

Os protocolos utilizados consistem primeiramente na desinfecção do sistema de canais radiculares, seguida da indução de sangramento da região periapical preenchendo o canal radicular com coágulo sanguíneo (afim de induzir a formação de um novo tecido) e, por último, realiza-se o selamento coronário (Shah *et al.*, 2008). Estes protocolos são derivados de observações obtidas a partir de estudos anteriores, onde foi observado que os dentes reimplantados ou auto transplantados se estiverem livres de contaminação e com a presença de uma matriz adequada podem retomar a vascularização pulpar substituindo lentamente o tecido necrosado (Skoglund *et al.*, 1978; Cvek *et al.*, 1990).

Embora as técnicas de revascularização clínica ainda não constituam um tratamento regenerador ideal, elas geram um arcabouço e fatores de crescimento, resultando num desenvolvimento radicular que pode ser visualizado radiograficamente. É portanto um procedimento valioso nos casos em que, de outra maneira, o prognóstico seria desfavorável.

A longo prazo, a endodontia regenerativa deve almejar o tratamento de dentes permanentes completamente formados, embora a situação em questão seja mais complexa que o dente imaturo com ápice aberto, pois nesse caso já existe uma fonte de células tronco pronta. Esses estudos abrem caminho para a possibilidade de restaurar a dentição natural reestabelecendo propriedades sensoriais, imunológicas e defensivas do complexo dentino- pulpar.

A proposta deste estudo é a realização da revisão de literatura dos casos clínicos realizados, análise dos protocolos utilizados com enfoque na escolha das substâncias químicas auxiliares e medicações e como isso pode influenciar no aprimoramento da técnica de revascularização.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Revascularização

A lógica da revascularização se baseia no fato de que se uma matriz tecidual estéril estiver presente onde células possam crescer, a vitalidade pulpar pode ser restabelecida (Shah *et al.*, 2008), sendo dessa forma definida como a invaginação de células indiferenciadas da região apical de dentes de pacientes jovens com ápice aberto (Garcia-Godoy e Murray, 2012).

A revascularização pulpar objetiva o reestabelecimento da vitalidade pulpar e a continuidade do desenvolvimento radicular. Esse procedimento clínico requer a formação de um arcabouço no interior do canal radicular, que servirá como uma matriz, células-tronco indiferenciadas possivelmente provindas da papila apical, e por último a presença de fatores de crescimento, provavelmente liberados de plaquetas e dentina que irão direcionar a diferenciação celular (Lovelace *et al.*, 2011). Sugere-se que o acúmulo destas células indiferenciadas no interior do canal radicular podem contribuir para regeneração do tecido pulpar de dentes imaturos portadores de necrose pulpar (Lovelace *et al.*, 2011).

Segundo Bansal & Bansal (2011) a revascularização ocorreria mais previsivelmente quando o ápice radiográfico mostrasse abertura maior que 1,1 a 1,5 mm, em dentes com rizogênese incompleta e necrose pulpar secundária a um trauma, quando a contaminação bacteriana fosse eliminada, pois o novo tecido cessa seu desenvolvimento no nível em que encontrar bactéria no espaço do canal; deve haver também a formação de um coágulo associado ao tecido pulpar necrosado funcionando como um arcabouço para o crescimento do novo tecido, onde células-tronco indiferenciadas possivelmente provindas da papila apical, e a presença de fatores de crescimento, provavelmente liberados de plaquetas e dentina irão direcionar a diferenciação celular (Lovelace *et al.* 2011).

### 2.2 Origem e mecanismo

A origem e o mecanismo pelos quais a revascularização acontece ainda não foram completamente esclarecidos, há na literatura algumas sugestões com relação ao mecanismo de ação da revascularização. Sugere-se que células pulpares vitais possam sobreviver na porção apical da raiz as quais podem proliferar sobre a

matriz formada dentro do canal radicular e se diferenciar em odontoblastos sob estímulo das células dos restos epiteliais de Mallassez (Banchs e Trope, 2004).

A segunda possibilidade sugere que células mesenquimais indiferenciadas podem ser abundantes em dentes com rizogênese incompleta, as quais podem se aderir às paredes radiculares internas e se diferenciar em odontoblastos que secretariam dentina nesta região (Gronthos *et al.*, 2002).

Outra possibilidade poderia ser atribuída à presença de células mesenquimais indiferenciadas no ligamento periodontal, as quais podem proliferar na porção apical e se diferenciar em cementoblastos e depositar tecido mineralizado nas paredes dentinárias (Lieberman e Trowbridge, 1983).

O quarto possível mecanismo poderia ser atribuído às células mesenquimais indiferenciadas da papila apical ou do osso medular, as quais quando estimuladas com um instrumento além da extensão do canal radicular por possuírem alta capacidade proliferativa, podem formar tecido mineralizado dentro do canal (Gronthos *et al.*, 2000).

### **2.3 Substâncias químicas auxiliares e medicações utilizadas**

Considerando a importância da eliminação bacteriana e da característica polimicrobiana presente no tecido pulpar infectado, há na literatura uma variedade de protocolos para a terapia por meio de revascularização pulpar. O procedimento padrão envolve a realização do tratamento em duas sessões com descontaminação passiva do canal radicular com hipoclorito de sódio na primeira sessão seguida pela colocação da pasta antibiótica que permanece no canal radicular no período entre sessões. Essa pasta foi descrita por Hoshino *et al.* (1996), combina ciprofloxacina, metronidazol e minociclina, e elimina bactérias presentes mesmo nas camadas mais profundas de dentina infectada demonstrando atuar melhor quando associada (Hoshino *et al.*, 1996; Sato *et al.*, 1996). Entretanto, apresenta desvantagens como o escurecimento coronário possivelmente decorrente da presença de minociclina.

Dessa forma, algumas variações da pasta tripla antibiótica original têm sido sugeridas por meio ou da não utilização da minociclina ou substituindo-a por cefaclor (Iwaya *et al.* 2001, Kim *et al.* 2012). A minociclina é um derivado semi-sintético da tetraciclina sendo efetiva contra bactérias gram-positivas e gram-negativas (Windley *et al.*, 2005). Ela reage com íons cálcio via quelação formando um complexo insolúvel, que incorporada à matriz dentinária causa o escurecimento (Tanase *et al.*, 1998).

Portanto, a minociclina só escurece a matriz dentinária se entrar em contato com a dentina coronária. Em concordância, Kim *et al.* (2010) compararam a efetividade da utilização de sistema adesivo previamente à inserção de pastas contendo cada um dos antibióticos que compõem a pasta tripla antibiótica. Observaram que entre as três drogas, a minociclina foi a única a causar escurecimento. Além disso, a aplicação de adesivo reduziu a alteração de cor, mas não a preveniu, e a redução do tempo de aplicação das pastas pode também prevenir esse escurecimento (Kim *et al.*, 2010).

Outro aspecto que poderia contribuir para evitar o escurecimento coronário seria a diminuição no tempo de permanência da pasta antibiótica considerando que estudos experimentais relatam que a aplicação desta pasta por 24 a 48 horas é suficiente para uma desinfecção efetiva da dentina radicular infectada (Hoshino *et al.*, 1996; Sato *et al.*, 1996). Entretanto, ainda não se sabe se a diminuição do período de aplicação é suficiente para prevenir o escurecimento uma vez que de acordo com Kim *et al.* (2010) já nas primeiras 24 horas após a aplicação, o escurecimento já pode ser notado.

Além do escurecimento coronário, pensa-se no desenvolvimento de resistência bacteriana considerando a utilização de pasta contendo antibióticos, porém até o momento nenhum estudo conclusivo avaliou essa possibilidade. Sabe-se apenas que a combinação de antibióticos e o seu uso local podem diminuir o desenvolvimento de amostras bacterianas resistentes (Mohammadi & Abbott, 2009).

Na tentativa de se contornar essa desvantagem, medicações intracanalais à base de hidróxido de cálcio também tem demonstrado efetividade em relatos de caso recentes (Chueh *et al.*, 2009; Iwaya *et al.*, 2011; Cehreli *et al.* 2011, Cehreli *et al.*, 2012). Essas medicações podem constituir alternativa promissora à pasta antibiótica considerando suas propriedades antimicrobianas, biocompatibilidade, disponibilidade na rotina de atendimento endodôntico e pouca possibilidade de escurecimento coronário. Além da variação ao protocolo referente à medicação, diferentes irrigantes podem igualmente contribuir para a descontaminação passiva desses canais. Nesse contexto, tem sido testada a clorexidina 2%, considerando sua ação residual (substantividade), suas propriedades antimicrobianas e a baixa toxicidade (Greenstein *et al.* 1986, Jeansonne & White 1994; Shin *et al.*, 2009; Reynolds *et al.*, 2009).

Em 2001 foi publicado (Iwaya *et al.*) um caso clínico de um dente com ápice aberto com diagnóstico de periodontite apical e fístula no qual a descontaminação foi realizada através da irrigação com hipoclorito de sódio 5% e peróxido de hidrogênio

3%, e a colocação de uma mistura de metronidazol e ciprofloxacina. Não houve instrumentação mecânica durante o tratamento, após 5 sessões foi visualizado cerca de 5mm de tecido vital, confirmada pela inserção de uma lima com resposta positiva, após isso uma fina camada de pasta de hidróxido de cálcio foi introduzida. O controle clínico e radiográfico mostrou fechamento do ápice, aumento da espessura das paredes do canal e resposta positiva aos testes de vitalidade.

Um relato de caso semelhante foi realizado por Banchs & Trope (2004), com o mesmo diagnóstico, na primeira sessão foi realizada a irrigação com hipoclorito de sódio 5,25% e Peridex® (clorexidina 0,12%), com posterior inserção pasta triplo antibiótica (metronidazol, ciprofloxacino e minociclina) e selamento provisório, na intervenção posterior foi gerado um coágulo e sobre ele foi colocado MTA, o dente foi selado provisoriamente e numa terceira sessão foi feito o selamento com material resinoso. Os controles pós-operatórios mostraram ausência de sinais e sintomas, fechamento do ápice e aumento da espessura das paredes radiculares, o teste de vitalidade foi inconclusivo.

Sha *et al.* (2008) realizaram um estudo clínico piloto com 14 dentes anteriores superiores com ápice aberto, todos com necrose pulpar com ou sem sintomas de patologia periapical. Após isolamento e acesso, os canais radiculares foram irrigados com peróxido de hidrogênio 3% e hipoclorito de sódio 2,5%, formocresol foi deixado entre as consultas por meio de uma bolinha de algodão, em alguns casos que apresentaram drenagem purulenta, o elemento dental foi deixado aberto por um período de 24-48 horas e fechado na próxima visita. O procedimento de revascularização só foi realizado no momento em que o dente se apresentava assintomático e seco, o coágulo sanguíneo foi estimulado com o auxílio de uma agulha posicionada 2 mm além do comprimento de trabalho, o selamento foi feito com ionômero de vidro na porção coronal. Os resultados mostraram-se favoráveis ao procedimento de revascularização, 13 dos 14 casos mostraram redução da radiolucência perirradicular classificadas de boa a excelente, 3 casos mostraram aumento do comprimento radicular e aumento da espessura das paredes de dentina simultaneamente, 11 casos mostraram resolução dos sinais e sintomas clínicos e cura da lesão periapical, 8 dos 14 casos mostraram aumento da espessura das paredes de dentina, 10 casos mostraram aumento do comprimento das raízes. Nenhum dos casos apresentou dor, reinfecção, ou sinal de aumento de lesão periapical já existente.

Reynolds *et al.*(2009) também realizaram um caso clínico com pasta triplo-antibiótica, mas visando prevenir a descoloração coronária atribuída à minociclina, utilizaram um sistema adesivo no selamento das paredes coronárias e um dispositivo especial, chamado Projetor de Canal Radicular, associada a uma lima tipo k#20 inserida dentro do projetor para manter a patência. O protocolo de irrigação foi realizado com 20ml de hipoclorito de sódio 6%, 5ml de solução salina e 10ml de clorexidina 2%. Os controles pós- operatórios foram satisfatórios, ausência de sinais e sintomas, desenvolvimento radicular e aumento da espessura das paredes de dentina. O escurecimento de um dos elementos realizados com esse protocolo foi atribuído pelo uso do MTA cinza no mesmo.

Com uma proposta mais conservadora Shin *et al.*(2009) sugeriram um protocolo em única sessão, com a descontaminação realizada apenas por irrigação com hipoclorito de sódio 6% seguido de solução salina e clorexidina 2% que foi deixada por 5 minutos, escolhida devido suas propriedades antimicrobianas residuais e baixa toxicidade. A exploração com auxílio de uma lima k#10 causou desconforto no paciente, revelando a possível presença de um tecido viável, foi feita então a colocação MTA e o selamento do dente. Os resultados obtidos foram satisfatórios com controles positivos, seu sucesso foi atribuído ao estágio de necrose pulpar(parcial) que o dente apresentava.

Também em 2009, Chueh *et al.* realizaram um estudo retrospectivo com 23 dentes com necrose pulpar e ápice aberto, o protocolo realizado em duas sessões foi feito através de irrigação com hipoclorito de sódio 2,5% e colocação de pasta feita com hidróxido de cálcio pó e solução salina na primeira intervenção. Na segunda sessão foi colocado o MTA, nenhum dos dentes passou por qualquer instrumentação e nenhum sangramento foi induzido. Para todos os dentes tratados houve remissão dos sinais e sintomas além da regressão das lesões, houve também continuidade do desenvolvimento radicular. Apesar dos resultados bastante satisfatórios, obliteração parcial dos canais foi observada em 21 dentes (91%) e total em 2 dentes (9%) e foram vistas como consequências inevitáveis do tratamento. No entanto estudos futuros são necessários para apurar as causas.

Petrino *et al.* (2010) relataram 3 casos clínicos todos apresentavam periodontite apical e ápice aberto, as dificuldades encontradas durante o procedimento foram mostradas, servindo de guia para realização de procedimentos futuros. Em todos os casos o protocolo de irrigação utilizado foi o mesmo, irrigação

com hipoclorito de sódio 5,25% seguido por solução salina e clorexidina 0,12%. Como medicação foi utilizada a pasta triplo antibiótica (metronidazol, minociclina e ciprofloxacina). A primeira dificuldade encontrada na realização do procedimento, foi a obtenção do sangramento, havendo então a necessidade de uma sessão adicional, para resolver o problema foi utilizado anestésico sem vasoconstritor. A inserção do MTA ficou numa posição mais apical do que o desejado no caso realizado primeiramente, o que nos casos posteriores, levou à utilização de CollaPlug® sobre o coágulo servindo como matriz para a condensação do MTA. Todos os dentes mostraram resolução das lesões periapicais, 3 deles mostraram contínuo desenvolvimento radicular e 2 apresentaram vitalidade pulpar.

O uso de um outro biomaterial endodôntico como alternativa ao MTA é proposto por Nosrat el al (2011), segundo o autor, o calcium enriched mixture (CEM) tem as mesmas aplicações clínicas do MTA, no entanto, apresenta uma composição química diferente. Seu diferencial está na sua semelhança com a dentina humana, ele é capaz de promover a formação de hidroxiapatita mesmo em solução salina e pode promover a diferenciação de células tronco e induzir a formação de tecido duro. Neste trabalho, foram relatados dois casos clínicos de dentes com necrose pulpar e ápice aberto, ambos apresentavam cáries extensas e não possuíam histórico de trauma. A desinfecção feita através da irrigação dos canais com hipoclorito de sódio 5,25% por 20 min, para facilitar a formação do coágulo os canais mesiais foram ampliados no terço coronal com Gates Glidden#3, uma pasta com porções iguais de metronidazol, ciprofloxacino e minociclina foi deixada por 3 semanas. Os dentes estavam assintomáticos após esse período, a pasta foi então removida com hipoclorito e o sangramento induzido com auxílio de limas tipo k, em um dos casos devido a falta de sangramento nos canais mesiais, sangue obtido no canal distal foi transferido para os canais mesio vestibular e mesio-lingual, o CEM foi colocado com auxílio de um porta-amálgama e o dente selado. Proserações de ambos os casos fora semelhantes, mostraram ausência de sinais e sintomas, regressão das lesões e desenvolvimento radicular.

Cehreli *et al.*(2011) realizaram um estudo com 6 molares com necrose pulpar e ápice aberto, foi aplicado um protocolo também em 2 sessões que consistia em irrigação com hipoclorito 2,5% e colocação de uma pasta à base de hidróxido de cálcio pó e água destilada no terço coronal por 3 semanas, e em uma segunda intervenção, indução do coágulo com a ajuda de uma lima K#15 seguida da colocação

de MTA e selamento dos dentes. Proserações mostraram ausência de sinais e sintomas, as tomadas radiográficas foram submetidas ao programa de análise TurboReg descrito por Bose *et al.* (2009) mostraram aumento da espessura das paredes radiculares, aumento do comprimento das raízes, além do fechamento total ou avançado dos ápices radiculares.

Iwaya *et al.* (2011) relataram um caso clínico de periodontite periapical aguda ocasionado por um tratamento periodontal, após o acesso da cavidade, o dente foi deixado aberto para possibilitar a drenagem do exsudato purulento que cessou na segunda visita, as sessões (5) foram realizadas semanalmente, e nelas a cavidade foi acessada e irrigada com hipoclorito de sódio 5% e peróxido de hidrogênio 3% e a parte superior do canal preenchida com Calcipex® (hidróxido de cálcio 24%, sulfato de bário 24%, água destilada e outros 52%). Após inspeção visual foi possível constatar a presença de tecido vital confirmada pela resposta dolorosa após inserção de uma lima, na sexta sessão Vitapex® (hidróxido de cálcio 30%, iodofórmio 40,4%, silicone oleoso 22,4%, elementos inertes 6,9%) foi colocado sobre o tecido e o selamento foi feito com ionômero de vidro e resina. Após 3 meses já era possível visualizar radiograficamente sinais de fechamento apical e formação de pontes de dentina, 30 meses depois o dente foi aberto e com auxílio de um explorador foi possível visualizar as pontes de dentina, houve resposta positiva aos testes elétricos e o dente foi selado coronalmente com guta percha e resina. Os controles mostraram fechamento apical, aumento da espessura das paredes e ausência de sinais e sintomas. Após 13 anos de acompanhamento o dente não demonstrou sinais de alteração de cor, fratura ou qualquer problema.

Torabinejad & Turman (2011) realizaram um caso clínico de revascularização utilizando plasma rico em plaquetas (PRP), o elemento dental em questão foi extraído por engano e reimplantado imediatamente e apresentou sinais e sintomas de necrose pulpar e periodontite apical. A descontaminação após o acesso foi feita com hipoclorito de sódio 5,25% e a medicação utilizado foi a pasta triplo antibiótica (minociclina, metronidazol, ciprofloxacina) que permaneceu por 22 dias. Após remoção da pasta com solução salina estéril, o PRP foi inserido até a junção cimento esmalte, MTA cinza foi colocado diretamente sobre o mesmo e o dente selado provisoriamente, após 3 dias o dente foi selado com material definitivo. Após 5 meses e meio as avaliações mostraram nenhuma sensibilidade à percussão e palpação, os exames radiográficos mostraram resolução da lesão periapical,

desenvolvimento radicular e contínuo fechamento apical, além disso, os testes de vitalidade foram positivos.

Jadhav *et al.* (2012) realizaram um estudo com o intuito de avaliar o desenvolvimento radicular induzido pela revascularização com ou sem o uso de plasma rico em plaquetas (PRP), para o mesmo utilizou 20 pacientes sem problemas sistêmicos, todos os dentes eram anteriores e apresentavam necrose pulpar e ápice aberto e foram divididos em 2 grupos (grupo 1 revascularização, grupo 2 revascularização+ PRP). Todos os dentes foram irrigados com hipoclorito 2,5%, após secos receberam pasta triplo-antibiótica (metronidazol, ciprofloxacina, minociclina) e foram selados provisoriamente. A indução do coágulo foi feita com uma agulha 23-G 2mm além do comprimento do canal, nos casos em que foi utilizado o PRP, o mesmo foi inserido após a obtenção do coágulo numa esponja colágena inserida na região apical dos dentes. Todos os dentes foram selados com ionômero de vidro Photac-Fill®. Clinicamente todos os dentes se mostraram assintomáticos com resolução total dos sinais e sintomas, radiograficamente houve uma diferença significativa no fechamento apical, remissão das lesões periapicais e aumento da espessura das paredes de dentina comparando grupo 2 (revascularização +PRP) com grupo 1. No entanto, o aumento no comprimento das raízes em ambos os grupos foi semelhante. Os resultados obtidos mostram que a suplementação com PRP pode melhorar os resultados nas técnicas de revascularização existentes.

Em 2012 Cehreli *et al.*, diante de um caso de luxação extrusiva, realizaram um protocolo de revascularização em 2 sessões, com irrigação utilizando hipoclorito de sódio 2,5% e inserção de uma pasta feita a partir de pó de hidróxido de cálcio e solução salina que permaneceu por 3 semanas, na segunda intervenção foi estimulado o coágulo, colocação de MTA e selamento dos dentes em questão. Os controles pós-operatórios foram satisfatórios, os exames radiográficos também foram submetidos ao programa de análise TurboReg segundo Bose *et al.*(2009) e mostrou aumento da espessura das paredes dentinárias e aumento do comprimento das raízes.

Kim *et al.* (2012) com o objetivo de avaliar o prognóstico a longo prazo da técnica de revascularização, realizaram 3 casos clínicos que avaliou durante 24, 42 e 48 meses respectivamente. Todos com diagnóstico de necrose pulpar e ápice aberto, foram descontaminados com hipoclorito de sódio 3%, e pasta triplo antibiótica (ciprofloxacina, metronidazol e cefaclor) por 2 semanas, em um dos casos a pasta

permaneceu por apenas uma semana. Após esse período a pasta foi removida com hipoclorito de sódio 3% e solução salina e o coágulo induzido com auxílio de uma lima k#10. O MTA foi colocado sobre o coágulo e o dente selado provisoriamente com Cavition® por 2 semanas. Então, o selamento provisório foi removido, o remanescente espaço radicular foi obturado com guta percha (sistema Obtura II®) e restaurado com resina composta. Todos os acompanhamentos foram favoráveis mostrando desenvolvimento radicular.

Um procedimento de revascularização realizado em um *dens invaginatus* foi descrito Narayama *et al.* (2012). Através de uma tomografia computadorizada cone beam foi possível perceber que o “tecido invaginado” estava quase solto da raiz, também revelou a presença de radiolucência no ápice, não perceptível no raio-x convencional, com o auxílio do microscópio operatório e pontas de ultrassom foi removido. Após a remoção, o canal radicular foi irrigado com hipoclorito de sódio 5,25% sob sistema de pressão negativa Endovac®, a medicação utilizada por 2 semanas foi a pasta triplo antibiótica (minociclina, metronidazol e ciprofloxacina). A remoção da pasta foi feita com hipoclorito de sódio 5,25% e limas manuais de aço inoxidável #20, após a indução do sangramento e formação do coágulo, MTA foi colocado diretamente sobre o mesmo, o dente foi selado com ionômero de vidro e resina composta. Apesar dos controles mostrarem ausência de sinais e sintomas, os testes de vitalidade foram negativos. Os achados radiográficos mostram resolução da lesão periapical, mas nenhuma evidência de aumento de espessura das paredes do canal foi encontrada.

Soares *et al.*(2013) utilizaram uma nova proposta de protocolo de revascularização pulpar realizada em dente imaturo com necrose pulpar posterior a trauma, na primeira sessão foi realizado o acesso e descontaminação dos terços médio e cervical do canal radicular com limas manuais tipo K e brocas do tipo Gates-Glidden na presença de clorexidina gel 2% associado a copiosa irrigação com soro fisiológico estéril. O terço apical não recebeu tratamento para preservar as células tronco que poderiam estar presentes, após a descontaminação uma medicação a base de clorexidina gel 2% e hidróxido de cálcio na proporção 1:1 foi inserida nos terços médio e cervical com lentulo. Posteriormente o dente foi selado com Coltosol® e resina, a medicação permaneceu por 21 dias. Na segunda sessão a medicação intracanal foi removida com soro fisiológico e limas tipo K, em seguida uma irrigação com 3 mL de EDTA 17% seguida de soro foi feita tendo em vista as propriedades

benéficas do mesmo no condicionamento da dentina e na diferenciação das células tronco. O sangramento foi estimulado, e sobre ele foi colocado o (MTA), em seguida Coltosol® então o selamento coronário foi realizado com resina composta. Os controles realizados mostraram desenvolvimento radicular, fechamento apical e boas condições dos tecidos periapicais, além da ausência de sinais e sintomas.

Keswani & Pandey (2013) usaram o PRF (plasma rico em fibrina) no protocolo de revascularização. Após a remoção do tecido necrótico, o canal foi irrigado com hipoclorito de sódio 5,25%, o dente permaneceu por 3 semanas com pasta triplo antibiótica (minociclina, metronidazol, ciprofloxacina), removida a pasta, o PRF recém preparado com 5mL de sangue venoso do paciente foi introduzido no canal até a junção cimento-esmalte, MTA colocado diretamente sobre ele e o dente restaurado definitivamente 3 dias depois. Os testes de vitalidade elétrico e térmico foram positivos nas proserações, radiograficamente, pode-se notar aumento da espessura das paredes radiculares, fechamento apical, e aumento no comprimento radicular.

A terapia de revascularização foi utilizada por Yang *et al.* (2013) em um caso de *den invaginatus* tipo II com ápice aberto, necrose pulpar e periodontite periapical. Após exploração, as posições dos canais principal e secundário (invaginação) foram determinadas. Sem qualquer instrumentação os canais foram irrigados com hipoclorito de sódio 5,25% seguido por solução fisiológica, e a medicação utilizada foi a pasta triplo antibiótica (minociclina, ciprofloxacina e metronidazol) que permaneceu por uma semana. O procedimento de irrigação e medicação foi realizado durante 4 semanas consecutivas até que o dente estivesse assintomático, então, o espaço deixado pela invaginação foi obturada com o auxílio do sistema GuttaFlow®, e o canal principal irrigado com hipoclorito de sódio 2,5% e solução fisiológica, limas tipo K #30 foram utilizadas para induzir sangramento, mas o mesmo não pode ser observado dentro do canal radicular, apenas na ponta do instrumento. O canal foi selado com ionômero de vidro e restaurado com resina composta. No controle realizado após 24 meses, o dente estava assintomático, as respostas aos testes de vitalidade foram negativas, e os exames de imagem realizados mostraram resolução completa da lesão periapical.

Becerra *et al.* (2014) utilizaram a técnica e revascularização em um dente imaturo com diagnóstico de necrose pulpar, com abscesso periapical e fístula. Após o acesso a irrigação foi feita com hipoclorito de sódio 6% e clorexidina 2%, como medicação intracanal foi utilizada a pasta triplo antibiótica (minociclina, metronidazol e ciprofloxacina). Na segunda sessão o dente estava assintomático, a medicação foi

removida com solução salina em seguida o dente foi novamente irrigado com hipoclorito de sódio 5,25%, o coágulo foi estimulado com auxílio de uma lima k#40, MTA foi condensado sobre o coágulo e o dente selado. Na preservação após um mês o dente estava assintomático, e a radiolucência havia diminuído consideravelmente, os controles posteriores mostraram sinais de aumento da espessura das paredes dentinárias e fechamento do ápice. Após 2 anos foi solicitada a extração do dente por motivos ortodônticos, e foi realizada a análise histológica do mesmo, a mesma mostrou as mesmas evidências de estudos já realizados em animais. Foi possível observar que o canal estava preenchido por um tecido conjuntivo fibroso com uma pequena mineralização próxima ao forame apical.

### 3.DISCUSSÃO

Diante dos relatos de caso apresentados na literatura, a revascularização pulpar tem se mostrado uma alternativa viável no tratamento de dentes imaturos com necrose pulpar. Tendo em vista que o procedimento de apicificação, tradicionalmente usado nesses casos, está associado a um elevado número de fraturas devido às propriedades higroscópicas e proteolíticas do hidróxido de cálcio. Segundo Andreasen *et al.* (2002) a permanência de hidróxido de cálcio dentro do canal radicular por longos períodos enfraquece a estrutura radicular. Além disso, a revascularização possui algumas vantagens em relação à apicificação como: a necessidade de um curto tempo de tratamento, sem necessidade de troca de medicações periódicas; se conseguido o controle da infecção ela pode ser realizada em sessão única não havendo necessidade de obturar o canal radicular e, a principal vantagem, refere-se ao desenvolvimento completo da raiz, havendo inclusive o aumento de espessura das paredes dentinárias por deposição de tecido duro (Shah *et al.*, 2008, Aggarwal *et al.* 2012).

No entanto alguns pontos devem ser cuidadosamente analisados, com relação aos exames radiográficos, por exemplo: é importante ressaltar que a aplicação não padronizada de radiografias para avaliar crescimento radicular e aumento da espessura das paredes dentinárias precisa ser avaliada com muita cautela, uma vez que qualquer pequena alteração no ângulo da radiografia pré e/ou pós operatória pode produzir imagens inconsistentes e conseqüentemente interpretações imprecisas (Bose *et al.* 2009). Flake *et al.* (2014) realizou um estudo mostrando que além da padronização dos exames radiográficos a mensuração do (RRA – radiographic root area) pode ser útil na análise dos resultados de futuros estudos clínicos de técnicas de revascularização.

Com relação às substâncias químicas utilizadas e suas concentrações as técnicas de revascularização variam muito, assim como as medicações. Analisando de uma maneira geral as mesmas não parecem ser o fator determinante para o sucesso da técnica, pois os casos clínicos documentados na literatura indicam sucesso com os diversos tipos de substâncias utilizadas. No entanto, para o sucesso de uma técnica de revascularização, o irrigante deve ser selecionado com base em suas propriedades bactericida/ bacteriostática, além de sua capacidade de manter e proliferar as células tronco (Trevino *et al.*, 2011). Nesse estudo os autores avaliaram

o efeito de diversas substâncias sobre as células tronco (EDTA 17%, hipoclorito de sódio 6%, clorexidina 2% e álcool isopropílico). Os protocolos de irrigação utilizados foram: somente EDTA 17%, hipoclorito de sódio 6% + EDTA 17%, EDTA 17% + clorexidina 2%, e hipoclorito 6%, EDTA 17%, álcool isopropílico e finalmente clorexina 2%. Os resultados obtidos mostraram maior sobrevivência de células com a irrigação somente com EDTA 17% seguido do protocolo de irrigação hipoclorito de sódio 6% + EDTA 17%. Não houve células sobreviventes nos dois protocolos de irrigação com clorexidina 2%.

Através desse estudo é possível perceber que o EDTA 17% promove a sobrevivência de células tronco, além de suas propriedades já conhecidas na remoção da smear layer, também é capaz de reverter parcialmente os efeitos negativos do hipoclorito de sódio 6%. Acredita-se que o EDTA, por possuir ação quelante, é capaz de fazer com que os vários fatores de crescimento presentes na matriz dentinária humana sejam liberados, estudos prévios tem demonstrado que o EDTA solubilizado nos componentes da matriz dentinária mostra atividade morfogênica e pode induzir dentinogênese reparativa in vivo (Graham et al. 2006)

Quanto a clorexidina, apesar de sua capacidade antimicrobiana, substantividade e baixa toxicidade, seu efeito sobre as células tronco foi nocivo segundo esse estudo, o que sugeriria que nessa concentração seu uso deveria ser descartado. Entretanto, o caso clínico de Soares *et al.* (2013) relata sucesso com aumento da espessura das paredes do canal radicular e fechamento apical após a utilização da clorexidina gel 2%. Assim mais estudos são necessários para avaliar a real influência da clorexidina sobre células mesenquimais e, conseqüentemente, no tratamento de revascularização pulpar.

O hipoclorito de sódio é a substância química auxiliar mais utilizada na grande maioria dos relatos de caso de revascularização pulpar. Os efeitos das diferentes concentrações de hipoclorito de sódio sobre as células tronco foram analisados por Martin *et al.* (2014). Baixas concentrações como 0,5%, 1,5% e 3% resultaram em redução da sobrevivência de células-tronco, semelhantes estatisticamente. Porém, a redução encontrada em baixas concentrações foi significativamente menor que na concentração 6%. Além disso, a irrigação com EDTA 17% reverteu completamente os efeitos negativos das baixas concentrações de hipoclorito e apenas parcialmente a concentração de 6%. Esses resultados sugerem que, em caso da utilização de NaOCl, a concentração de 1,5% seguida da aplicação

de EDTA 17% seria o mais indicado. Estudos prospectivos e outros relatos de caso devem ser apresentados para confirmar esses possíveis resultados.

Segundo um estudo realizado por Ruparel *et al.* (2012) hipoteticamente a medicação utilizada no processo de revascularização pode afetar as células tronco em dois momentos, primeiro no momento da difusão da medicação, e ainda devido a uma ação antimicrobiana residual ela pode afetar as células tronco quando as mesmas são trazidas para o espaço radicular na indução do sangramento. Os resultados do presente estudo mostraram que as medicações clinicamente utilizadas, pasta triplo antibiótica (minociclina, ciprofloxacina e metronidazol), duplo antibiótica (metronidazol, ciprofloxacina), pasta triplo antibiótica modificada (metronidazol, ciprofloxacina e cefaclor) e ainda Augmentin® (amoxicilina e ácido clavulânico) não utilizada em nenhum relato de caso publicado, têm efeito negativo sobre as células tronco resultando numa viabilidade menor que 20% quando utilizadas em concentrações de 10mg/ml a 100mg/ml, e 33% a 56% numa concentração de 1 mg/ml (concentração estimada das pastas utilizadas). Por outro lado, todas as concentrações de hidróxido de cálcio promoveram a sobrevivência das células tronco.

Além de não afetar negativamente o desenvolvimento das células tronco, pesquisas demonstram que o hidróxido de cálcio é capaz de solubilizar moléculas bioativas, inclusive fatores de crescimento da matriz de dentina humana. Essas moléculas bioativas presentes na dentina se mostraram capazes de induzir a formação de dentina reacionária e reparativa e formação de pontes de dentina (Graham *et al.*, 2006). Outra informação interessante com relação ao hidróxido de cálcio foi vista em um estudo de Bose *et al.* (2009) o qual avaliou radiograficamente que, quando o hidróxido de cálcio foi colocado nos terços coronal e médio a porcentagem de aumento da espessura das paredes dentinárias foi de 53.8%, e apenas 3,3% quando o hidróxido de cálcio foi colocado no terço apical. Além disso, é uma medicação de fácil obtenção e baixo custo, sendo portanto um material com potencial para a realização do procedimento de revascularização.

O uso pasta triplo antibiótica em protocolos de revascularização como medicação é justificada pela sua alta eficácia contra bactérias comumente encontradas no canal radicular além disso elimina bactérias presentes mesmo nas camadas mais profundas de dentina infectada (Sato *et al.*, 1996, Hoshino *et al.*, 1996), no entanto a presença da minociclina pode promover alteração de cor nos dentes, algumas modificações da pasta original como a pasta duplo antibiótica e triplo

antibiótica modificada foram sugeridas (Iwaya et al 2001, Kim et al 2012), o Augmentin® apesar de não ter sido utilizado em nenhum caso clínico relatado é 100% eficaz contra bactérias endodônticas e pode ser uma medicação alternativa para pacientes sem histórico de alergia à penicilina (Ruparel et al., 2012).

De acordo com Bose et al(2009) a comparação entre o uso de formocresol, hidróxido de cálcio e pasta triplo antibiótica não revelou diferenças significativas no aumento do comprimento radicular. No entanto, a pasta triplo antibiótica mostrou a mais alta porcentagem de aumento de espessura das paredes dentinárias. É importante ressaltar que as medidas foram feitas nos terços coronário e médio, e a maior parte dos casos do grupo hidróxido de cálcio a medicação foi colocada no nível apical, ou seja, além do nível onde a medições foram feitas. Além disso, nível em que o mesmo apresentou a menor porcentagem de aumento de espessura das paredes dentinárias. O formocresol apresentou os menores aumentos tanto na espessura das paredes dentinárias quanto no comprimento radicular. Esses resultados levaram à conclusão de que tanto a pasta triplo antibiótica quanto o hidróxido de cálcio quando usados como medicação intracanal em protocolos de revascularização podem ajudar a promover o desenvolvimento do complexo dentino pulpar.

Os protocolos de revascularização foram sendo realizados tendo em vista a eliminação da contaminação, pois o novo tecido cessa seu desenvolvimento no nível em que encontrar bactéria no espaço do canal (Yanpiset & Trope 2000; Windley *et al.* 2005; Lovelace et al. 2011). No entanto, fatores como o desenvolvimento das células tronco são tão importantes quanto, e devem ser considerados no momento da elaboração de um protocolo seguro e eficaz.

#### 4.CONCLUSÃO

Atualmente as técnicas de revascularização clínica ainda não constituem um tratamento regenerador ideal, a realização de casos clínicos controlados, colocando em prática o uso de substâncias com atividade antimicrobiana e baixa toxicidade sobre as células tronco pode ser uma chance de nos aproximar da regeneração pulpar.

Os estudos in vitro apontam para resultados mais favoráveis na utilização de concentrações menores de hipoclorito de sódio, incertos para a clorexidina e unânimes na necessidade de inclusão do EDTA.

A pasta tri-antibiótica, suas variações e o hidróxido de cálcio são as medicações mais utilizadas nos casos clínicos, entretanto, considerando os resultados dos estudos in vitro, o hidróxido de cálcio tende a ter menores efeitos sobre as células tronco da papila apical.



## REFERÊNCIAS \*

1. Aggarwal V, Miglani S, Singla M. Conventional apexification and revascularization induced maturogenesis of two non-vital, immature teeth in same patient: 24 months follow up of a case. **J Conserv Dent.** 2012;15(1):68-72.
2. Albuquerque MTP. **Protocolos de Revascularização Pulpar.** [Monografia]. Piracicaba: Faculdade de Odontologia de Piracicaba UNICAMP; 2012. Disponível em: URL: <http://www.bibliotecadigital.unicamp.br/document/?code=000842792&opt=4>
3. Andreasen JO, Farik B, Munksgaard EC. Long-term calcium hydroxide as a root canal dressing may increase risk of root fracture. **Dent Traumatol.** 2002;18(3):134-7.
4. Banchs F, Trope M. Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: new treatment protocol? **J Endod.** 2004;30(4):196-200.
5. Bansal R. Regenerative endodontics: a state of the art. **Indian J Dent Res.** 2011;22(1):122-31.
6. Becerra P, Ricucci D, Loghin S, Gibbs JL, Lin LM. Histologic study of a human immature permanent premolar with chronic apical abscess after revascularization/revitalization. **J Endod.** 2014;40(1):133-9.
7. Bose R, Nummikoski P, Hargreaves K. A retrospective evaluation of radiographic outcomes in immature teeth with necrotic root canal systems treated with regenerative endodontic procedures. **J Endod.** 2009;35(10):1343-9.
8. Cehreli ZC, Isbitiren B, Sara S, Erbas G. Regenerative endodontic treatment (revascularization) of immature necrotic molars medicated with calcium hydroxide: a case series. **J Endod.** 2011;37(9):1327-30.
9. Cehreli ZC, Sara S, Aksoy B. Revascularization of immature permanent incisors after severe extrusive luxation injury. **J Can Dent Assoc.** 2012;78:c4.
10. Chueh LH, Ho YC, Kuo TC, Lai WH, Chen YH, Chiang CP. Regenerative endodontic treatment for necrotic immature permanent teeth. **J Endod.** 2009;35(2):160-4.
11. Cvek M, Cleaton-Jones P, Austin J, Lownie J, Kling M, Fatti P. Pulp revascularization in reimplanted immature monkey incisors--predictability and the effect of antibiotic systemic prophylaxis. **Endod Dent Traumatol.** 1990;6(4):157-69.

\*- De acordo com a norma UNICAMP-FOP, baseada no modelo Vancouver. Abreviatura dos Periódicos em conformidade com o Medline.

12. Flake NM, Gibbs JL, Diogenes A, Hargreaves KM, Khan AA. A standardized novel method to measure radiographic root changes after endodontic therapy in immature teeth. **J Endod.** 2014;40(1):46-50.
13. Galler KM, D'Souza RN, Federlin M, Cavender AC, Hartgerink JD, Hecker S, et al. Dentin conditioning codetermines cell fate in regenerative endodontics. **J Endod.** 2011;37(11):1536-41.
14. Garcia-Godoy F, Murray PE. Recommendations for using regenerative endodontic procedures in permanent immature traumatized teeth. **Dent Traumatol.** 2012;28(1):33-41.
15. Graham L, Cooper PR, Cassidy N, Nor JE, Sloan AJ, Smith AJ. The effect of calcium hydroxide on solubilisation of bio-active dentine matrix components. **Biomaterials.** 2006;27(14):2865-73.
16. Greenstein G, Berman C, Jaffin R. Chlorhexidine. An adjunct to periodontal therapy. **J Periodontol.** 1986;57(6):370-7.
17. Gronthos S, Brahim J, Li W, Fisher LW, Cherman N, Boyde A, et al. Stem cell properties of human dental pulp stem cells. **J Dent Res.** 2002;81(8):531-5.
18. Gronthos S, Mankani M, Brahim J, Robey PG, Shi S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. **Proc Natl Acad Sci U S A.** 2000;97(25):13625-30.
19. Hale ML. Autogenous transplants. **J Am Dent Assoc.** 1954;49(2):193-8.
20. Hargreaves KM, Cohen S. Endodontia Regeneradora. In: Hargreaves KM, Cohen S, Berman LH, editors. **Caminhos da Polpa.** 10<sup>a</sup> ed2011. p. 550-64.
21. Hargreaves KM, Diogenes A, Teixeira FB. Treatment options: biological basis of regenerative endodontic procedures. **J Endod.** 2013;39(3 Suppl):S30-43.
22. Hargreaves KM, Giesler T, Henry M, Wang Y. Regeneration potential of the young permanent tooth: what does the future hold? **J Endod.** 2008;34(7 Suppl):S51-6.
23. Hoshino E, Kurihara-Ando N, Sato I, Uematsu H, Sato M, Kota K, et al. In-vitro antibacterial susceptibility of bacteria taken from infected root dentine to a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline. **Int Endod J.** 1996;29(2):125-30.
24. Huang GT, Sonoyama W, Liu Y, Liu H, Wang S, Shi S. The hidden treasure in apical papilla: the potential role in pulp/dentin regeneration and bioroot engineering. **J Endod.** 2008;34(6):645-51.

25. Hørsted P, Nygaard-Ostby B. Tissue formation in the root canal after total pulpectomy and partial root filling. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1978;46(2):275-82.
26. Iwaya SI, Ikawa M, Kubota M. Revascularization of an immature permanent tooth with apical periodontitis and sinus tract. *Dent Traumatol.* 2001;17(4):185-7.
27. Iwaya S, Ikawa M, Kubota M. Revascularization of an immature permanent tooth with periradicular abscess after luxation. *Dent Traumatol.* 2011;27(1):55-8.
28. Jadhav G, Shah N, Logani A. Revascularization with and without platelet-rich plasma in nonvital, immature, anterior teeth: a pilot clinical study. *J Endod.* 2012;38(12):1581-7.
29. Jeansonne MJ, White RR. A comparison of 2.0% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite as antimicrobial endodontic irrigants. *J Endod.* 1994;20(6):276-8.
30. Johnson DS, Burich RL. Revascularization of reimplanted teeth in dogs. *J Dent Res.* 1979;58(2):671.
31. Johnson WT, Goodrich JL, James GA. Replantation of avulsed teeth with immature root development. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1985;60(4):420-7.
32. Keswani D, Pandey RK. Revascularization of an immature tooth with a necrotic pulp using platelet-rich fibrin: a case report. *Int Endod J.* 2013;46(11):1096-104.
33. Kim DS, Park HJ, Yeom JH, Seo JS, Ryu GJ, Park KH, et al. Long-term follow-ups of revascularized immature necrotic teeth: three case reports. *Int J Oral Sci.* 2012;4(2):109-13.
34. Kim JH, Kim Y, Shin SJ, Park JW, Jung IY. Tooth discoloration of immature permanent incisor associated with triple antibiotic therapy: a case report. *J Endod.* 2010;36(6):1086-91.
35. Kling M, Cvek M, Mejare I. Rate and predictability of pulp revascularization in therapeutically reimplanted permanent incisors. *Endod Dent Traumatol.* 1986;2(3):83-9.
36. Lieberman J, Trowbridge H. Apical closure of nonvital permanent incisor teeth where no treatment was performed: case report. *J Endod.* 1983;9(6):257-60.
37. Lovelace TW, Henry MA, Hargreaves KM, Diogenes A. Evaluation of the delivery of mesenchymal stem cells into the root canal space of necrotic immature teeth after clinical regenerative endodontic procedure. *J Endod.* 2011;37(2):133-8.

38. Martin DE, De Almeida JF, Henry MA, Khaing ZZ, Schmidt CE, Teixeira FB, et al. Concentration-dependent Effect of Sodium Hypochlorite on Stem Cells of Apical Papilla Survival and Differentiation. **J Endod.** 2014;40(1):51-5.
39. Mohammadi Z, Abbott PV. On the local applications of antibiotics and antibiotic-based agents in endodontics and dental traumatology. **Int Endod J.** 2009;42(7):555-67.
40. Murray PE, Garcia-Godoy F, Hargreaves KM. Regenerative endodontics: a review of current status and a call for action. **J Endod.** 2007;33(4):377-90.
41. Myers HI, Flanagan VD. A comparison of results obtained from transplantation and replantation experiments using Syrian hamster teeth. **Anat Rec.** 1958;130(3):497-513.
42. Nagata YJ. **Revascularização Pulpar: Nova proposta de descontaminação do canal radicular.** [Monografia]. Piracicaba: Faculdade de Odontologia de Piracicaba UNICAMP; 2012. Disponível em: URL: <http://www.bibliotecadigital.unicamp.br/document/?code=000842805&opt=4>
43. Narayana P, Hartwell GR, Wallace R, Nair UP. Endodontic clinical management of a dens invaginatus case by using a unique treatment approach: a case report. **J Endod.** 2012;38(8):1145-8.
44. Nosrat A, Seifi A, Asgary S. Regenerative endodontic treatment (revascularization) for necrotic immature permanent molars: a review and report of two cases with a new biomaterial. **J Endod.** 2011;37(4):562-7.
45. Nygaard-Ostby B, Hjortdal O. Tissue formation in the root canal following pulp removal. **Scand J Dent Res.** 1971;79(5):333-49.
46. Ostby BN. The role of the blood clot in endodontic therapy. An experimental histologic study. **Acta Odontol Scand.** 1961;19:324-53.
47. Pafford EM. Homogeneous transplants of preserved frozen teeth; a preliminary report. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol.** 1956;9(1):55-70.
48. Petrino JA, Boda KK, Shambarger S, Bowles WR, McClanahan SB. Challenges in regenerative endodontics: a case series. **J Endod.** 2010;36(3):536-41.
49. Reynolds K, Johnson JD, Cohenca N. Pulp revascularization of necrotic bilateral bicuspid using a modified novel technique to eliminate potential coronal discoloration: a case report. **Int Endod J.** 2009;42(1):84-92.

50. Ruparel NB, Teixeira FB, Ferraz CC, Diogenes A. Direct effect of intracanal medicaments on survival of stem cells of the apical papilla. *J Endod.* 2012;38(10):1372-5.
51. Sato I, Ando-Kurihara N, Kota K, Iwaku M, Hoshino E. Sterilization of infected root-canal dentine by topical application of a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline in situ. *Int Endod J.* 1996;29(2):118-24.
52. Seale NS, Glickman GN. Contemporary perspectives on vital pulp therapy: views from the endodontists and pediatric dentists. *Pediatr Dent.* 2008;30(3):261-7.
53. Shah N, Logani A, Bhaskar U, Aggarwal V. Efficacy of revascularization to induce apexification/apexogenesis in infected, nonvital, immature teeth: a pilot clinical study. *J Endod.* 2008;34(8):919-25; Discussion 1157.
54. Sheehy EC, Roberts GJ. Use of calcium hydroxide for apical barrier formation and healing in non-vital immature permanent teeth: a review. *Br Dent J.* 1997;183(7):241-6.
55. Sheppard PR, Burich RL. Effects of extra-oral exposure and multiple avulsions on revascularization of reimplanted teeth in dogs. *J Dent Res.* 1980;59(2):140.
56. Shin SY, Albert JS, Mortman RE. One step pulp revascularization treatment of an immature permanent tooth with chronic apical abscess: a case report. *Int Endod J.* 2009;42(12):1118-26.
57. Skoglund A, Tronstad L, Wallenius K. A microangiographic study of vascular changes in replanted and autotransplanted teeth of young dogs. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1978;45(1):17-28.
58. Soares AeJ, Lins FF, Nagata JY, Gomes BP, Zaia AA, Ferraz CC, et al. Pulp revascularization after root canal decontamination with calcium hydroxide and 2% chlorhexidine gel. *J Endod.* 2013;39(3):417-20.
59. Tanase S, Tsuchiya H, Yao J, Ohmoto S, Takagi N, Yoshida S. Reversed-phase ion-pair chromatographic analysis of tetracycline antibiotics. Application to discolored teeth. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 1998;706(2):279-85.
60. Torabinejad M, Turman M. Revitalization of tooth with necrotic pulp and open apex by using platelet-rich plasma: a case report. *J Endod.* 2011;37(2):265-8.
61. Torres QM. **Revascularização/Regeneração pulpar como opção terapêutica na endodontia.** [Monografia]. Piracicaba: Faculdade de Odontologia de Piracicaba UNICAMP; 2013. Disponível em: URL: <http://www.bibliotecadigital.unicamp.br/document/?code=000907803&opt=4>

62. Trevino EG, Patwardhan AN, Henry MA, Perry G, Dybdal-Hargreaves N, Hargreaves KM, et al. Effect of irrigants on the survival of human stem cells of the apical papilla in a platelet-rich plasma scaffold in human root tips. **J Endod.** 2011;37(8):1109-15.
63. Trope M. Treatment of the immature tooth with a non-vital pulp and apical periodontitis. **Dent Clin North Am.** 2010;54(2):313-24.
64. Wang X, Thibodeau B, Trope M, Lin LM, Huang GT. Histologic characterization of regenerated tissues in canal space after the revitalization/revascularization procedure of immature dog teeth with apical periodontitis. **J Endod.** 2010;36(1):56-63.
65. Windley W, Teixeira F, Levin L, Sigurdsson A, Trope M. Disinfection of immature teeth with a triple antibiotic paste. **J Endod.** 2005;31(6):439-43.
66. Yang J, Zhao Y, Qin M, Ge L. Pulp revascularization of immature dens invaginatus with periapical periodontitis. **J Endod.** 2013;39(2):288-92.
67. Yanpiset K, Trope M. Pulp revascularization of replanted immature dog teeth after different treatment methods. **Endod Dent Traumatol.** 2000;16(5):211-7.