

NADJA AVELAR CUNHA

**REGENERAÇÃO PULPAR PÓS-TRAUMA:
RELATO DE CASO CLÍNICO**

Faculdade de Odontologia

Universidade Federal de Minas Gerais

Belo Horizonte

ANO (2016)

Nadja Avelar Cunha

REGENERAÇÃO PULPAR PÓS-TRAUMA: RELATO DE CASO CLÍNICO

Monografia apresentada ao curso de Pós-Graduação em Endodontia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais, como parte dos requisitos para obtenção do título de Especialista em Endodontia

Maria Ilma Souza Gruppioni Côrtes

Faculdade de Odontologia – UFMG

Belo Horizonte

(2016)

Ficha Catalográfica

C972r Cunha, Nadja Avelar.
2016 Regeneração pulpar pós-trauma : relato de caso clínico /
MP Nadja Avelar Cunha. -- 2016.
33 f. : il.
Orientadora: Maria Ilma da Silva Cortês.
Monografia (Especialização) -- Universidade Federal de
Minas Gerais, Faculdade de Odontologia.
1. Endodontia. 2. Traumatismos dentários. 3. Polpa
dentária. 4. Regeneração. I. Cortês, Maria Ilma da Silva.
II. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de
Odontologia. III. Título.

BLACK - D24


UFMG
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Faculdade de Odontologia
Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Odontologia
Av. Pres. Antônio Carlos, 6627 – Pampulha
Belo Horizonte – MG – 31.270-901 – Brasil
Tel. (31) 3409-2470 Fax: (31) 3409-2472
e-mail: odonto-posgrad@ufmg.br



Ata da Comissão Examinadora para julgamento de Monografia da aluna **NADJA AVELAR CUNHA**, do Curso de Especialização em Endodontia, realizado no período de 05/03/2015 a 16/12/2016.

Aos 17 dias do mês de dezembro de 2016, às 08:00 horas, na sala de Pós-Graduação (3403) da Faculdade de Odontologia, reuniu-se a Comissão Examinadora, composta pelos professores Maria Ilma de Souza Cortes (orientadora), Juliana Vilela Bastos e Katia Lucy de Melo Maltos. Em sessão pública foram iniciados os trabalhos relativos à Apresentação da Monografia intitulada **“Regeneração pulpar pós-trauma: relato de caso clínico”**. Terminadas as arguições, passou-se à apuração final. A nota obtida pela aluna foi 90 (NOVENTA) pontos, e a Comissão Examinadora decidiu pela sua APROVAÇÃO. Para constar, eu, Maria Ilma de Souza Cortes, Presidente da Comissão, lavrei a presente ata que assino, juntamente com os outros membros da Comissão Examinadora. Belo Horizonte, 17 de dezembro de 2016.


Prof. Maria Ilma de Souza Cortes
Orientadora


Prof. Juliana Vilela Bastos


Prof. Katia Lucy de Melo Maltos

Agradecimento: Vivenciar uns dos meus maiores sonhos ao lado de profissionais tão excelentes, pacientes e amigos foi sim um desejo realizado. Desde já agradeço a todos, Especialistas, Mestres, Doutores e familiares que fizeram isso acontecer da forma mais extraordinária possível apesar dos desafios que Deus coloca em nosso caminho. São eles: Amigos Leísa Guimarães, Jessica Barbosa, Elaine Resende, Graciane Queiros, Alexandre Martins e Bernardo Melo. Professora Maria Ilma de Souza Gruppioni Côrtes, Professora Juliana Vilela Bastos, Professora Katia Maltos e Professora Sandra Maltos. Além dos meus queridos familiares Maria Fernanda Cunha Lago, Lucas Sales Lago, Mariluce Nunes de Avelar Cunha, Javer Anselmo da Cunha (em memória) e Nayara Avelar Cunha.

RESUMO

O objetivo do presente estudo é relatar o caso do paciente, que necessitava de tratamento endodôntico radical de um dente que sofreu trauma dentário com fratura corono-radicular do incisivo central superior direito permanente com raiz incompleta por meio do tratamento de regeneração pulpar. Este estudo clínico se observou que houve um crescimento radicular considerável do elemento dentário 11, principalmente quando comparado com o elemento dentário 21. O que reforça a ideia do tratamento de regeneração pulpar para dentes com ápice aberto que necessitam por algum motivo de tratamento endodôntico oferecendo ao cirurgião-dentista clínico um tratamento promissor, que evita a apiceficação tradicional realizada com trocas da pasta de hidróxido de cálcio ou a criação de uma barreira apical com agradado trióxido de mineral (MTA). Além de ser uma alternativa para a substituição dos tratamentos citados acima, a regeneração pulpar pode ajudar a resgatar dentes jovens infectados através do reforço fisiológico das paredes dentinárias da raiz. Palavras chaves: Endodontia; Traumatismo dentário; Regeneração pulpar.

ABSTRACT

The objective of this study is to report the case of a patient that needed a radical endodontic treatment of a tooth that suffered a dental trauma with fracture of the permanent central superior right incisor with incomplete root because of a pulp regeneration treatment. In this clinical study, there was a considerable root growth of the dental element 11, specially when it's compared to the dental element 21. This reinforces the idea of the pulp regeneration treatment for teeth with open apex that need, for some reason, endodontic treatment, offering the clinical dental surgeon a promising treatment that avoids the traditional solicitation with exchanges of calcium hydroxide paste or the creation of an apical barrier with MTA. On top of that, it's an alternative for the substitution of the reported treatments, the pulp regeneration can help to rescue infected young teeth through physiological reinforcement of the root dental walls.

Key words: Endodontics; Dental traumatism; Pulp Regeneration

SUMÁRIO

1 - INTRODUÇÃO.....	9
2 – OBJETIVO.....	11
3 - REVISÃO DE LITERATURA.....	12
3. 1 - DESENVOLVIMENTO RADICULAR.....	12
3.2 – TRATAMENTO ENDODÔNTICO APÓS TRAUMATISMO DENTÁRIO EM DENTES COM RIZOGÊNESE INCOMPLETA.....	13
3.3 – REGENERAÇÃO PULPAR.....	14
3.3.1 – CÉLULAS-TRONCO.....	15
3.3.2 - FATORES DE CRESCIMENTO.....	15
3.3.3 – ARCABOUÇO.....	16
3.3.4 – PROTOCOLOS DE REGENERAÇÃO PULPAR.....	18
3.3.4.1 – PROTOCOLO DE INSTRUMENTAÇÃO NOS CASOS DE TERAPIA REGENERATIVA DA POLPA.....	20
3.3.4.2 – PROTOCOLO DE IRRIGAÇÃO NOS CASOS DE TERAPIA REGENERATIVA DA POLPA.....	20
3.3.4.3 – PROTOCOLO DE DESINFECÇÃO NOS CAOSOS DE TERAPIA REGENERATIVA DA POLPA.....	20
3.3.4.3.1 – COM HIDRÓXIDO DE CÁLCIO.....	20
3.3.4.3.2 – COM PASTA-TRIANTIBIÓTICA.....	21
4 - RELATO DE CASO CLÍNICO.....	22
5 – DISCUSSÃO.....	29
6 – CONCLUSÃO.....	33
7 – REFERÊNCIAS.....	34

1 - INTRODUÇÃO

O traumatismo dentário durante o desenvolvimento da dentição pode resultar em necrose pulpar e levar a uma perda prematura dos dentes permanentes, o que pode comprometer a dentição. Dentes com ápices imaturos apresentam desafios na limpeza e modelagem dos canais, na obturação e possibilidade de fraturas radiculares devido a paredes finas e/ou enfraquecidas da raiz (LAW, 2013).

Um dos protocolos sugeridos para o tratamento endodôntico de dentes com rizogênese incompleta consiste na utilização do hidróxido de cálcio ou MTA em procedimentos de apicificação. Andreasen et al. (2002), concluíram que canais radiculares preenchidos com hidróxido de cálcio tiveram um resultado negativo sobre a resistência da raiz, ou seja, ocorreu a diminuição da resistência à fratura com o maior tempo de curativo de hidróxido de cálcio preenchendo os canais radiculares. As descobertas experimentais deste estudo parecem explicar a fratura cervical frequente em dentes imaturos tratados com hidróxido de cálcio e guta-percha. Devido às esses achados, sugeriu-se que outros procedimentos de tratamento de dentes com rizogênese incompleta devem ser considerados em seguida à utilização da pasta de hidróxido de cálcio.

Dificuldades surgem também quando tentamos obturar o canal radicular com cones de guta-percha, uma vez que o canal é amplo e as paredes, nem sempre paralelas são, divergentes, no sentido apical.

Ao contrário das terapias citadas acima a regeneração pulpar oferece a possibilidade de regenerar tecidos vitais no interior de canais de dentes necrosados, eliminando algumas das possíveis dificuldades que o tratamento de dentes com rizogênese incompleta possui (BANSAL et al, 2014).

Mason, C. e Dunnill, P., 2008 explicaram que: “a medicina regenerativa substitui ou regenera as células humanas, tecidos ou órgãos, para restaurar ou estabelecer a sua função normal.”

Em um trabalho mais específico Peter et al. (2007) definiram terapia endodôntica regenerativa como "procedimentos baseados biologicamente na substituição de estruturas danificadas, incluindo estruturas de dentina e raiz, assim como as células do complexo polpa-dentina."

Um estudo experimental em cães, o crescimento de tecido novo na maioria dos casos foi semelhante ao tecido pulpar e, em alguns casos, parecia uma mistura de cimento, ligamento periodontal e osso (THIBODEAU, B., et al., 2007). Em outro estudo sugere-se que

haja um reparo, já que, ocorre, a formação de um tecido novo que não restaura a estrutura e/ou função do tecido pulpar, isto é, há formação de um tecido cicatricial (ANDEASEN, J.O., et al., 2011).

2 - OBJETIVO

O objetivo do presente estudo foi relatar o caso de um paciente sexo masculino com nove anos de idade, que necessitou de tratamento endodôntico radical realizado por meio da terapia de regeneração pulpar, em um dente permanente com raiz incompletamente formada após, traumatismo, com fratura corono-radicular.

3 - REVISÃO DE LITERATURA

3.1 - Desenvolvimento radicular

O desenvolvimento radicular se inicia quando a formação do esmalte se completa e quando a alça cervical não mais existe. As células do retículo estrelado intermediário desaparecem e os epitélios internos e externos na porção distal da alça cervical formam a bainha epitelial radicular de Hertwig. Assim como na formação da coroa, as células-tronco do epitélio externo do esmalte induzem as células-tronco mesenquimais adjacentes na polpa a se diferenciarem em pré-odontoblastos e odontoblastos. Logo que a camada da matriz de dentina se calcifica, espaços aparecem dentro do epitélio de Malassez derivados da bainha epitelial radicular de Hertwig, permitindo que as células mesenquimais oriundas do saco dentário se movam e se juntem a dentina recém-formada. Essas células-tronco mesenquimais, então se diferenciam em cementoblastos e depositam matriz de cimento sobre a dentina radicular (COHEN, S.; HARGREAVES, K., 2011).

O complexo dentina-polpa possui odontoblastos, que são as células que revestem a periferia da câmara pulpar, estendendo seus processos citoplasmáticos para as estruturas tubulares. Uma área pobre em células está localizada abaixo da camada odontoblástica, e contém um extenso plexo nervoso (plexo de Raschkow) e capilares sanguíneos que podem auxiliar e regular a atividade dos odontoblastos, proporcionando atividade sensorial a polpa. Abaixo da zona pobre em células localiza-se a área de Hohl, rica em células, consistindo uma faixa de tecido que contém células não comprometidas capazes de se diferenciarem em odontoblastos primários. O núcleo da polpa dental contém vários vasos sanguíneos e nervos maiores, que são cercados por tecido conjuntivo frouxo (FOLWACZNY, M et al., 2002).

O volume da perfusão através dos ápices incompletos dos dentes imaturos é considerável e sustenta a enorme capacidade reparadora das polpas jovens na face da lesão (KRELL, K et al., 1988).

Leonardo R.M., et al. 1993 descreveram que em dentes com rizogênese incompleta, que apresentam necrose pulpar, ocorre, como consequência, a interrupção da formação das raízes. Ou seja, a abertura apical fica com um diâmetro mais largo do que o canal radicular, o que prejudica a instrumentação e não permite a formação do "batente apical", importante para a adaptação do cone principal de guta-percha. Assim, existe um constante risco de

extravasamento de material obturador, o que impede que seja realizado o tratamento endodôntico convencional.

3.2 - Tratamento endodôntico após traumatismo dentário em dente com rizogênese incompleta

Estudos epidemiológicos apontam que as lesões traumáticas são mais frequentes na faixa etária dos 7 a 12 anos de idade, principalmente devido a quedas e acidentes na escola ou em casa. Os traumatismos, afetam com maior frequência a região anterior da boca, afetando mais a maxila do que a mandíbula. As lesões traumáticas ocorrem na idade em que o desenvolvimento da raiz ainda não se deu por completo, o, que dificulta o tratamento endodôntico desses pacientes, tanto pela idade quanto pela dificuldade do tratamento devido ao ápice aberto nestes dentes.

Tradicionalmente, o manejo endodôntico dos dentes com rizogênese incompleta e necrose pulpar visa a apicificação por meio da utilização de hidróxido de cálcio e/ou selamento com agregado trióxido mineral (MTA). Embora apresentem boa previsibilidade e elevado percentual de redução de lesões periapicais, essas condutas clínicas possuem limitações importantes, como o não desenvolvimento completo da raiz dentária, mantendo essa estrutura frágil e aumentando o risco de fraturas (ANDREASEN, J. et al. 2002).

A apicificação com hidróxido de cálcio permite a formação de uma barreira de tecido mineralizado no forame apical aberto antes da colocação da obturação do canal radicular. Este estudo evidencia fechamento apical em um prazo de 6 meses em 43,8% dos casos tratados com hidróxido de cálcio, como também, um aumento para 50% do casos tratados após 12. Embora o fechamento apical seja um dos parâmetros de cicatrização, não é suficiente para determinar o sucesso clínico. Efetivamente, um resultado bem-sucedido baseia-se no desaparecimento completo de sinais clínicos e radiográficos, além da ausência de complicações (BONTE, E. et al. 2015).

O hidróxido de cálcio é o material de referência, recomendado para o fechamento apical (CVEK, M. 1992). Suas propriedades anti-sépticas são necessárias para a cicatrização apical, uma vez que o papel dos microrganismos no desenvolvimento da periodontite apical é crítico (ORSTAVIK, D. et al. 2004).

O agregado de trióxido mineral (MTA) mostrou ser um material biocompatível que poderia ser adequado para induzir a formação de uma barreira de tecido mineralizado apical em dentes imaturos, incompletamente desenvolvidos com necrose pulpar (SIMON, S. et al. 2007). A popularidade da MTA como um indutor de barreira apical artificial pode ser atribuída a vários fatores, sendo, o mais importante deles a sua capacidade para formar um bom selamento e para induzir a formação óssea. Outra vantagem é o menor tempo de tratamento quando comparado com o uso do hidróxido de cálcio.

Após um ano de acompanhamento, a técnica de apicificação com MTA mostrou resultados biológicos e mecânicos superiores àquela com a terapia de apicificação com, hidróxido de cálcio, não apenas para o fechamento apical, mas também para a taxa de sobrevivência dos dentes tratados (BONTE, E. et al. 2015).

3.3 - Regeneração pulpar

O desenvolvimento dentário acontece através de vários estágios morfológicos - botão, capuz e sino – resultando na formação da coroa, raiz e periodonto. O desenvolvimento dentário é regulado por uma série de interações recíprocas envolvendo células tronco ectodérmicas e mesenquimais. As células-tronco ectodérmicas se diferenciam em ameloblastos e as mesenquimais, também conhecidas como ectomesenquimais, de origem da crista neural, se diferenciam em odontoblastos. Um dos requisitos importantes para a regeneração dos tecidos pulpares é a obtenção de células-tronco capazes de se diferenciarem em odontoblastos (COHEN, S. e HARGREAVES, K., 2011).

Palit, M.C. et al, 2014, citaram os elementos-chave da engenharia de tecidos:

- As células estaminais adultas que são capazes de auto-replicação e diferenciação em células especializadas e também têm a capacidade de se dividir ou se especializarem.
- Fatores de crescimento que são agentes biológicos que regulam as células estaminais para formar o tipo de célula desejável. Há cinco famílias principais BMPs, FGFs, Wnts, Hhs e as TNFs, entre os quais as BMPs estão principalmente relacionadas a regeneração.
- Arcabouços que proporcionam uma estrutura biocompatível. São estruturas de adesão celular e migração. Andaimos são estruturas que podem ser biológicas, tais como, colágeno, glicosaminoglicano, ou artificiais como, PLA, PGA, PLGA.

3.3.1 - Células-tronco

As células-tronco são comumente vistas como células indiferenciadas capazes de se autorenovar/expandir e capazes de se diferenciarem em tipos de células especializadas. A variação da diferenciação é uma propriedade importante das células-tronco e serve como base para a classificação em células totipotentes – capazes de se diferenciarem em qualquer tipo celular – ou pluripotentes, multipotentes ou unipotentes – caracterizando capacidades mais restritas de diferenciação. Várias dessas células-tronco podem satisfazer esses critérios de multipotencialidade, uma vez em que elas podem se diferenciar em várias outras células que expressam marcadores fenotípicos para odontoblastos, neurônios e células musculares ou adiposas (COHEN, S.; HARGREAVES, K., 2011).

Com poucas exceções, a função regenerativa destas células é induzida apenas depois que o tecido foi lesionado, seja por lesões de trauma ou sobre condições patológicas. Arcabouço de indução de células aparece como o resultado de sinais de ativação provenientes da modificação do microambiente (ABOUT 2013).

Dentes que possuem o ápice aberto permitem que, células tronco/progenitoras migrem para o interior dos canais radiculares. Além disso, o sistema de células da papila apical encontrado em ápices radiculares imaturos mostrou, possuir um grande potencial, para a regeneração da polpa (TZIAFAS, D; KODONAS, K, 2010).

3.3.2- Fatores de crescimento

Os fatores de crescimento são proteínas que se ligam a receptores celulares e induzem proliferação e/ou diferenciação celular (WINGARD, J.R; DEMETRI, G.D., 1999).

Muitos fatores de crescimento são bastante versáteis, estimulando a divisão celular em numerosos tipos de células, enquanto outros são mais específicos para certas células (BAZLEY, W.J.; GULLINCK, 2005).

Os fatores de crescimento podem ser usados para controlar a atividade das células estaminais, como aumentar a taxa de proliferação, induzir a diferenciação das células em outro tipo de tecido ou estimular células-tronco a sintetizar e segregar matriz mineralizada (MURRAY, P.E. et al, 2007).

Os fatores de crescimento, especialmente aqueles, da família de transformadores beta (TGF), são importantes na sinalização, diferenciação e estimulação celular para os odontoblastos secretarem a matriz dentinária. Esses fatores de crescimentos são secretados

por odontoblastos e depositados dentro da matriz dentinária, onde permanecem protegidos em forma ativa (ROBERT-CLARK, D.J.; SMITH A.J. 2000).

Outra importante família de fatores de crescimento no desenvolvimento dos dentes e na regeneração consiste nas proteínas morfogênicas do osso (BMPs). A BMP-2 humana recombinante estimulou a diferenciação de células-tronco adultas da polpa em uma morfologia odontoblastoide em cultura (NAKASHIMA, M. et al. 1994).

A aplicação de fator de crescimento semelhante a insulina humana recombinada com colágeno tem induzido a formação de pontes dentinárias e formação de dentina tubular (LOVSCHALL, H. et al, 2001).

A adição de fatores de crescimento no capeamento pulpar, ou incorporá-los em materiais restauradores e endodônticos para estimular a regeneração da dentina e da polpa (MURRAY, P.E. et al, 2007).

3.3.3- Arcabouço

Na engenharia de tecidos, a escolha de um arcabouço é o primeiro e certamente um passo crucial. Uma grande variedade de biomateriais está disponível: polímeros naturais ou sintéticos, matriz, sistemas de auto-montagem, hidrogéis ou materiais biocerâmicos. Cada material oferece uma química, composição, estrutura, perfil de degradação e possibilidade de modificação únicos (GALLER, K.M. et al., 2011).

Para a maioria das estratégias regenerativas, um arcabouço orgânico é usado para fornecer uma superfície na qual as células possam aderir, crescer espacialmente e se organizarem. Um arcabouço ideal deve facilitar a adesão, a migração, a proliferação e a organização espacial tridimensional necessária das células para a substituição estrutural e funcional do tecido alvo. A biocompatibilidade é muito importante para evitar reações adversas ao tecido. Uma vez que as células hospedeiras interagem com o arcabouço, a biodegradabilidade deve ser ajustada, para facilitar a remodelação construtiva. Que é a degradação do arcabouço, a infiltração celular, a vascularização, a diferenciação e organização espacial das células e, eventualmente, substituição do arcabouço pelos tecidos apropriados.

As duas categorias de materiais mais utilizadas como arcabouço são os polímeros sintéticos poli(láctico), ácido(PLA), ácido poli(glicólico), ácido (PGA) (VACANTI, J.P. et al.,1998). O arcabouço derivado de fontes biológicas seria o colágeno. Este estudo demonstrou a formação de um tecido semelhante à polpa vascularizada, células tipo

odontoblastos e dentina recém-gerada após a semeadura de células SHED em PLA em discos de dentina. O colágeno do tipo I e os polímeros sintéticos mostraram resultados mais favoráveis entre os materiais estudados para esta aplicação (GLOWACKI, J.; MIZUNO, S. 2008)

Em relação à biocompatibilidade e a degradação, os polímeros sintético, tais como ácido PLA e PGA, e os seus co-polímeros não são tóxicos e são biocompatíveis, degradando-se por hidrólise. O colágeno é biocompatível e degradável por enzimas, mas os polímeros naturais são muitas vezes difíceis de serem usados já que possuem risco de transmissão de patógenos associados a animais ou de provocar uma resposta imunológica. Já o alginato é um polissacárido derivado de algas vermelhas que estimula um encapsulamento celular, no entanto, degrada de uma maneira bastante descontrolada via dissolução quando utilizado com um quelante de cálcio (BOONTHEEKUL, T. et al., 2005).

No entanto, nenhuma das categorias descritas tem todas as estruturas e propriedades de um material ideal, que deve ser semelhante ao ambiente fisiológico das células: matriz natural extracelular. A matriz natural extracelular funciona como um suporte estrutural, mas seu papel vai muito além disso. A matriz natural extracelular é um ambiente nanoestruturado que fornece os sinais químicos para modular o comportamento e reforçar um fenótipo particular. Além disso, a matriz natural extracelular é um ambiente dinâmico e pode ser degradado seletivamente e remodelado pelas células que vivem dentro dele. Polímeros como o ácido PLA têm a vantagem de serem biodegradáveis, biocompatíveis e baratos e de fácil preparo. No entanto, eles não são um material fisiologicamente encontrados na matriz natural extracelular. Já o colágeno oferece as informações químicas e estruturais para a matriz natural extracelular, mas é difícil de personalizar para aplicações específicas, devido à sua origem biológica, pureza e reação imune.

Um arcabouço ideal deve combinar as melhores propriedades de cada um desses grupos de biomateriais. Estes deveriam possuir estrutura semelhante à matriz natural extracelular em nanoescala, capaz de apresentar informações moleculares complexas às células e ser fácil de modificar para aplicações específicas. Para resolver estas deficiências, novas matrizes sintéticas estão sendo desenvolvidas, como as nanofibras baseadas em péptidos, devido a sua facilidade de síntese, sua diversidade e alto controle sobre vários aspectos do material (HARTGERINK, J. D. et al., 2001).

O arcabouço deveria permitir abordar os desafios específicos do dente, como o controle de contaminação no canal radicular, a vascularização e a inervação de um espaço longo e estreito, a incorporação de fatores de crescimento e diferenciação relevantes para a

diferenciação odontoblástica, o suporte da formação mineral, e a possibilidade de criação de matrizes acelulares capazes de recrutamento de células estaminais residentes nos respectivos tecidos (VACANTI, J.P. et al., 1998).

Polímeros, como o ácido poliglicólico (PGA), têm sido utilizados como matrizes para a proliferação de fibroblastos na polpa dentária, permitindo o desenvolvimento de um tecido com células semelhante à polpa normal (MOONEY, D.J. et al., 1996). Outros arcabouços, incluindo o colágeno e os materiais biocerâmicos, podem servir de arcabouço para o crescimento e a diferenciação de células estaminais da polpa dentária *in vitro* e, quando tais materiais foram colocados *in vivo*, as células se organizaram em um tecido vascularizado que expressava um marcador de tecido dentinário (ZHANG, W. et al., 2006).

3.3.4 – Protocolos de regeneração pulpar

Segundo *American Endodontists Clinical Considerations for a Regenerative Procedure*, deve haver uma seleção criteriosa dos casos que serão submetidos a regeneração pulpar, tais como dente com polpa necrótica e um ápice imaturo, dentes que não possuem espaço intracanal suficiente para a confecção de uma restauração final, paciente e responsável colaborador e pacientes que não sejam alérgicos a medicamentos e antibióticos necessários durante o tratamento (ASA 1 ou 2).

O protocolo de regeneração pulpar (*American Endodontists Clinical Considerations for a Regenerative Procedure*)

Primeira sessão:

- Anestesia local, isolamento e acesso a câmara pulpar;
- Irrigação copiosa e suave com 20ml de NaOCl usando um sistema de irrigação que minimiza a possibilidade de extrusão de irrigants no espaço periapical (por exemplo, agulha com extremidade fechada e aberturas laterais, ou EndoVac™). Concentrações mais baixas de NaOCl são recomendadas (1,5% de NaOCl (20 mL / canal, 5 min) e, em seguida, irrigadas com solução salina ou EDTA (20 mL / canal, 5 min), com agulha de irrigação posicionada a cerca de 1 mm do ápice radicular para minimizar a citotoxicidade;
- Secar os canais com cones de papel absorvente;
- Coloque uma pasta de hidróxido de cálcio ou uma concentração baixa de pasta tir-antibiótica no interior do canal. Se a pasta antibiótica tripla é usada: 1) considerar o espaço para selamento da câmara pulpar com um agente de ligação da dentina (para

minimizar o risco de coloração) e 2) misturar 1: 1: 1 ciprofloxacina: metronidazol: minociclina até uma concentração final de 0,1 mg / ml;

- Introduzir o medicamento intracanal via seringa;
- Se for utilizado a pasta tri-antibiótica, certifique-se de que permanece abaixo da junção esmalte-cimento, para minimizar a coloração da coroa;
- Selar com 3-4mm de um material restaurador temporário, como Cavit TM, IRM TM, ionômero de vidro ou outro material temporário. Acompanhar o doente durante 1-4 semanas.

Segunda sessão (1 a 4 semanas após a primeira sessão)

- Avaliar a resposta ao tratamento inicial. Se houver sinais / sintomas de infecção persistente, considere um tempo maior de tratamento com o medicamento intracanal;
- Anestesia com 3% de mepivacaína sem vasoconstritor, isolamento do dente a ser tratado;
- Irrigação copiosa e suave com 20ml de EDTA a 17%.
- Secar com pontos de papel.
- Criar sangramento no sistema de canais por sobre-instrumentação (induzir rodando uma lima K pré-curvada a 2 mm do forame apical com o objetivo de ter todo o canal cheio de sangue até o nível da junção cimento-esmalte). Uma alternativa para a criação de um coágulo sanguíneo é o uso de plasma rico em plaquetas (PRP), fibrina rica em plaquetas (PRF) ou matriz de fibrina autóloga (AFM).
- Seque o sangramento a um nível que permita 3-4 mm de material restaurador.
- Colocar uma matriz reabsorvível sobre o coágulo sanguíneo, se necessário, o MTA branco como material de cobertura.
- Uma camada de 3-4 mm de ionômero de vidro é colocada suavemente sobre o material de cobertura e fotopolimerizado durante 40s. O MTA tem sido associado à descoloração. As alternativas ao MTA, seria o ionômero de vidro modificado por resina ou os materiais biocerâmica em dentes que há uma preocupação estética.

Na revascularização pulpar, aos três meses de pós-operatório, o dente normalmente se mostrou assintomático e cerca de nove meses após a radiografia revelou, um, aumento da espessura das paredes dentinárias e o fechamento apical. O desenvolvimento da raiz e o fechamento apical puderam ser visíveis após três meses (NAMOUR, M.; THEYS, S. 2014).

3.3.4.1 - Protocolo de instrumentação nos casos de terapia regenerativa da polpa.

Procedimento de instrumentação usando instrumentos no canal radicular não só aumentaria a fragilidade das paredes da dentina, como também causaria lesões nas células estaminais presentes na área apical destas paredes. Estas também contêm fator de crescimento aprisionado e outras células essenciais para a regeneração pulpar, que poderiam ser eliminado por instrumentação. São necessários dois tipos de células para desenvolvimento: odontoblastos e células epiteliais da bainha Hertwig.

As células odontoblásticas se diferenciam em odontoblastos secundários que geram dentina nos canais radiculares e, assim, permitir a formação da raiz (TROPE, M. 2008).

Dessa forma a instrumentação não deve ser realizada pensando em conservar as células estaminais e evita o enfraquecimento das paredes do canal radicular.

3.3.4.2 - Protocolo de irrigação nos casos de terapia regenerativa da polpa

Os irrigantes desempenham um papel de desinfecção primária. Por isso, devem ter uma concentração bactericida e bacteriostática com efeito citotóxico mínimo sobre as células estaminais e fibroblastos para permitir a sua sobrevivência e capacidade de proliferação (NAMOUR, M.; THEYS, S. 2014).

O uso de irrigação ultrassônica cuidadosa para não tocar nas paredes dos canais, e apenas desestruturar o biofilme sem que haja uma instrumentação, o que pode ocasionar uma possível degradação das células estaminais e diminuição da resistência das paredes dentinárias (MUHAMMAD, O.H. et al., 2014).

3.3.4.3 - Protocolos de desinfecção nos casos de terapia regenerativa da polpa

3.3.4.3.1 – Com hidróxido de cálcio

O hidróxido de cálcio é uma base forte e sua dissociação iônica em Ca^{2+} e OH^- induz a formação de tecidos duros (apexificação, dentina terciária) e tem um efeito antibacteriano pela liberação de íons OH^- (CHUEH, L.H. et al., 2009). Estes íons OH^- danificam a membrana citoplasmática, suprimem a atividade da enzima bacteriana, desnaturam as proteínas, danificam o DNA e assim inibem qualquer replicação e inativam as endotoxinas (SIQUEIRA, J.F. 2001).

O hidróxido de cálcio tem um baixo coeficiente de dissociação, o que é uma boa característica clínica, pois permite uma liberação de Ca^{2+} e OH^- em longo prazo (FARHAD, A.; MOHAMMADI, Z. 2005).

O hidróxido de cálcio aumentaria a expressão de algum tipo de quinases (sinais extracelulares por fosforilação), que são indicadores da proliferação de células-tronco da polpa e do ligamento (JI, Y.M. et al., 2010).

3.3.4.3.2 – Com pasta tri-antibiótica

Nenhum antibiótico tem um espectro suficientemente grande para ser ativo contra todos os tipos de bactérias presentes em canais radiculares e regiões apicais. Uma combinação de antibióticos é essencial para cobrir uma gama máxima de ação. As suspensões de antibióticos devem ser utilizadas numa concentração adequada para um equilíbrio entre uma menor citotoxicidade contra as células estaminais (a citotoxicidade aumenta com a dose) e a desinfecção bacteriana máxima. Os três antibióticos que estão presentes na pasta são a minociclina (age contra as bactérias gram positivas e espectro-grama), ciprofloxacina (age contra as bactérias gram positivas e espectro-grama) e metronidazol (espectro de bactérias anaeróbias e protozoárias) (CHUENSOMBAT, S. et al., 2013). Este estudo, também concluiu que o pH ácido da minociclina não é favorável para a cultura de células estaminais. Já a ciprofloxacina também tem um pH ácido. O metronidazol é o único antibiótico na mistura a ter um pH neutro e, portanto, não tem citotoxicidade para as células estaminais.

4 - RELATO DE CASO CLÍNICO

Paciente do sexo masculino, nove anos de idade, relatou ter se acidentado em brincadeira na hora do recreio na escola. O tratamento de urgência foi realizado logo após o acidente. Na consulta inicial, o paciente relatou que o cirurgião-dentista havia apenas removido o fragmento de posição. Em uma segunda consulta foi solicitada a tomografia computadorizada de feixe cônico do dente 11 (Figura 1), em que foi observado que a fratura estava no nível da crista óssea na face palatina. Nesta mesma consulta o fragmento coronário e a região da papila gengival foram limpos (Figura 2, Figura 3 e Figura 4) e o fragmento coronário foi reposicionado e splintado com fio de ortosíntese, para assim obter a cicatrização da área inflamada da gengiva. No dia 17 de outubro de 2015, os achados clínicos e radiográficos mostraram o dente 11, apresentando fratura corono-radicular. O fragmento coronário encontrava-se splintado e a radiografia apresentava os ápices dos dentes anteriores abertos (Figura 5 e Figura 6). Devido à presença de ápice aberto e de paredes dentinárias finas propensas à fratura, considerou-se a tentativa de regeneração pulpar pó meio do protocolo da *American Endodontists Clinical Considerations for a Regenerative Procedure*. Na mesma consulta de avaliação o paciente foi anestesiado com anestésico sem vaso constritor e o fragmento foi removido de posição sob isolamento absoluto. Ao deslocar o fragmento da posição, foi observado, o tecido pulpar radicular ainda, presente no interior do canal. Com o auxílio de uma lima Hedstreön, a polpa presente no interior do canal radicular foi removida. O ato de remover a polpa radicular, provocou um sangramento abundante (Figura 8) que foi seco por meio de pontas de papel absorventes estéreis há um comprimento de 5 mm do final radiográfico da raiz, o suficiente para a introdução de uma pasta medicamentosa de hidróxido de cálcio P.A. (Figura 9) e para realização do selamento da entrada do canal na cervical com resinal composta (Figura 10). O tratamento de regeneração pulpar foi realizado em sessão única e para finalizar foi confeccionado um provisório com o fragmento coronário por meio de um splint.

O paciente foi submetido a radiografias periódicas para acompanhamento da evolução do tratamento.

Na radiografia realizada no mês de abril de 2016, seis meses após o procedimento de regeneração pulpar, observou-se que sua raiz teve um crescimento considerável, principalmente quando comparado com o do dente vizinho (21). Verificou-se ainda que as

raízes dos dentes 11 e 21 possuem praticamente o mesmo comprimento, porém ainda sem o fechamento apical.

Em um segundo momento, no mês de setembro de 2016, seis meses após a realização da terapia regenerativa da polpa, o paciente foi submetido novamente à intervenção no dente 11. Nesta consulta o splint e o fragmento fraturado foram removidos de posição e um acesso foi realizado no canal radicular. Optou-se por realizar uma irrigação abundante com solução fisiológica estéril e secagem com pontas de papel absorvente estéril. Neste momento foi detectado que um batente havia se formado na região apical. A introdução das pontas de papel absorvente foi realizada de forma cuidadosa para que não desestruturasse o tecido formado, na região apical. Apenas a ponta dos papéis absorvente apresentavam-se com um líquido sanguinolento (Figura 14). Como nas radiografias posteriores foi diagnosticado que o ápice ainda estava em formação, após a irrigação abundante e secagem com pontas de papel absorvente estéril, foi realizada uma nova colocação de pasta de hidróxido de cálcio no terço médio e selamento da região cervical com resina composta. Novamente o fragmento coronário foi reposicionado com a fixação por meio de um splint.

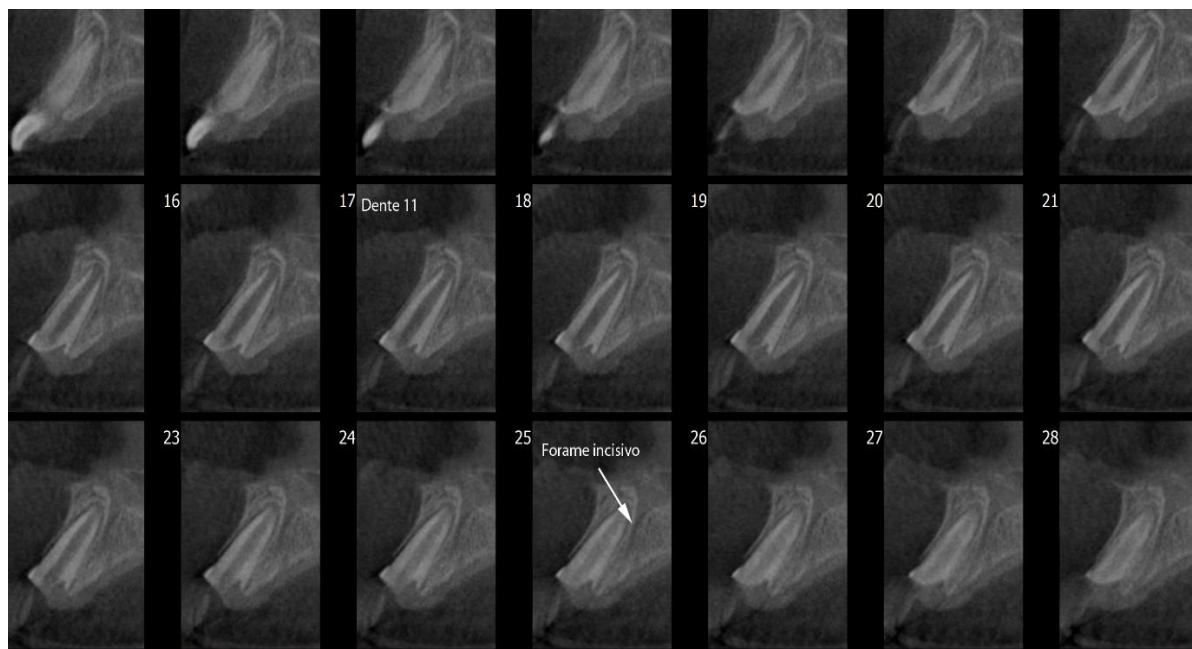


Figura 1 – Tomografia computadorizada de feixe cônico do dente 11: a fratura se encontra no nível da crista óssea palatina



Figura 2 – Posição da fratura radicular



Figura 3 – Fragmento remanescente na boca do paciente, após fratura coronoradicular de dente 11. Observa-se a presença de inflamação na gengiva.



Figura 4 – Fragmento coronário deslocado no momento do atendimento de urgência

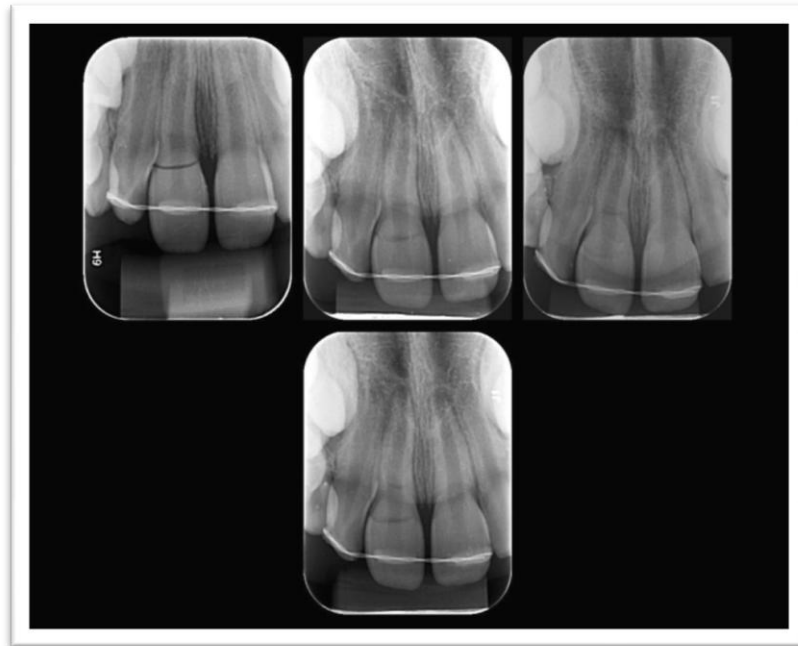


Figura 5 – Radiografias periapicais tomada em outubro de 2015



Figura 6 – Dente 11 após imobilizado com fio de amarril e fixação com resina composta



Figura 7 – Polpa radicular após removida com uma lima tipo Hedstroen

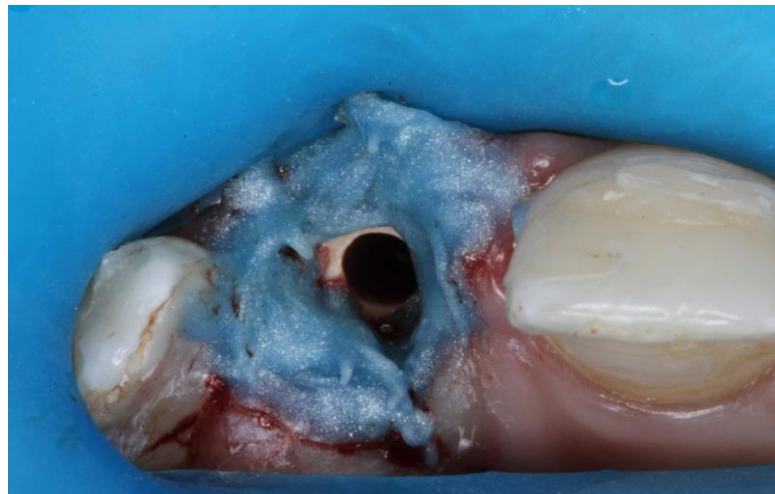


Figura 8 – – Isolamento absoluto do remanescente radicular para a realização do procedimento de regeneração pulpar



Figura 9 - Radiografia periapical pós estimular o coágulo sanguíneo. Verifica-se a área radiopaca correspondente à colocação da pasta de Hidróxido de cálcio.



Figura 10 – Utilização de filtro do Software do aparelho digital de radiografia, evidenciando a imagem da pasta de Hidróxido de cálcio



Figura 11 – Radiografia periapical para verificar o tampão cervical com resina composta e reposicionamento e fixação com splint do fragmento coronário.



Figura 12 – Radiografia periapical com contraste para verificar o tampão cervical com resina composta e reposicionamento e fixação com splint do fragmento coronário.



Figura 13 – Radiografias realizadas em abril de 2016 (mesio, orto, disto e alongada)



Figura 14 – Pontas de papal absorvente estéril durante a secagem do canal no momento em que foi realizado um acesso 7 meses após o tratamento de regeneração pulpar do dente 11.

5 - DISCUSSÃO

Dali e Rajbanshi (2014) definem a endodontia regenerativa como procedimentos biologicamente baseados para substituir estruturas de dentes danificados, incluindo dentina e células do complexo polpa-dentina. A vitalidade da polpa é extremamente importante para viabilidade do dente, uma vez que fornece nutrição e atua como biossensor para detectar estímulos patogênicos.

As vantagens da revascularização são: possibilidade de maior desenvolvimento radicular, reforço das paredes dentinária por deposição de tecido mineralizado, fortalecendo o doente contra possíveis fraturas. A *American Endodontists Clinical Considerations for a Regenerative Procedure* preconiza que o tratamento de regeneração pulpar seja realizado em dentes que necessitam de tratamento endodôntico radical e possuem ápice imaturo, dentes que não possuem espaço intracanal suficiente para a confecção de uma restauração final, paciente e responsável colaborador e pacientes que não sejam alérgicos a medicamentos e antibióticos necessários durante o tratamento (ASA 1 ou 2). O potencial que a terapia regeneradora da polpa vem demonstrando ao longo dos anos deve-se em grande parte aos avanços nas terapias biológicas que utilizam fatores de crescimento e de diferenciação, os quais aceleram e induzem a regeneração biológica natural. Vários desses conceitos surgirão do campo promissor da engenharia tecidual, a qual preconiza a criação espacial das diferentes células-tronco, fatores de crescimento/morfogênese e arcabouço para formar um tecido funcional (FABRA-CAMPOS, 1991). O presente estudo relata o caso de um paciente jovem, que se enquadra nos requisitos descritos acima, e que foi submetido a terapia regeneradora da polpa seguindo o protocolo sugerido pela *American Endodontists Clinical Considerations for a Regenerative Procedure*.

A terapia regenerativa da polpa é um tratamento de escolha também, devidos as seguintes razões biológicas: dentes que apresentam ápice aberto permitem migração de células-tronco/progenitoras para o interior dos canais radiculares e células da papila apical (SCAP) encontradas na região dos ápices imaturos possuem maior potencial para regeneração da polpa (PARAYANI e KIM, 2013).

Albuquerque et al. (2014) afirma que o sucesso do tratamento de revascularização pulpar depende de três fatores: desinfecção do canal radicular, indução de coágulo sanguíneo na região periapical e impermeabilização coronária. Em dentes imaturos a instrumentação mecânica não é recomendada com intuito de desinfecção, apenas uma irrigação abundante com

hipoclorito de sódio a 1,5% por 5 min e em seguida uma irrigação com EDTA ou soro fisiológico estéril por mais 5 min. No caso descrito neste trabalho, a desinfecção do canal radicular com hipoclorito de sódio, não se fez necessária, apenas a irrigação abundante com soro fisiológico estéril, pois foi traumatismo dentário com fratura-corono radicular com atendimento imediato. Com isso, no atendimento inicial o dente ainda apresentava-se com a polpa em seu interior. Também por este motivo, a indução do coágulo sanguíneo foi realizada durante o procedimento de remoção da polpa radicular com a lima Hedstroen, o que não necessitou da sobre-instrumentação sugerida pelo protocolo de escolha.

A irrigação é uma etapa importante na desinfecção de canais radiculares necrosados, na remoção de tecido orgânico e de smear layer, interferindo no sucesso do tratamento endodôntico (ALCADE et al.,2014). As soluções irrigadoras desempenham um papel importante na desinfecção, devendo apresentar características como ser bactericida, bacteriostático e com efeito citotóxico mínimo sobre as células estaminais e fibroblastos, para permitir sua sobrevivência e capacidade de proliferação celular (NAMOUR e THEIS, 2014). As substâncias químicas mais utilizadas mundialmente na irrigação de canais radiculares são o hipoclorito de sódio e clorexidina (ALBUQUERQUE et al.,2014).

A regeneração pulpar pode ser realizada através da atividade das células a partir da polpa, periodonto, sistema vascular e imunitário (GARCIA-GODOY e MURRAY,2012). São necessários dois tipos celulares para o desenvolvimento radicular: odontoblastos e células epiteliais da bainha de Hertwig, presentes em sua maioria na região apical de dentes imaturos e capazes de resistir à inflamação (DHILLON et al.,2015). Os tecidos periapicais de dentes imaturos são ricos em suprimento sanguíneo e contêm células estaminais (NAGY et al.,2014). As células estaminais são multipotentes com capacidade de proliferação e produção celular, além de serem capazes de se diferenciar em células especializadas. (DHILLON et al.,2015) . Essas células em condições ideais podem se auto-regenerar, restaurando a parte perdida da polpa (NAGY et al.,2014). Existem dois tipos de células estaminais: células-tronco embrionárias e células estaminais adultas. As células estaminais adultas são encontradas na polpa apical e na região do ligamento periodontal (DHILLON et al.,2015).

Uma outra etapa sugerida no protocolo é a utilização de uma medicação intracanal entre as consultas, seja ela uma pasta de hidróxido de cálcio ou uma pasta tri-antibiótica, com o objetivo de maior desinfecção do canal radicular.

O hidróxido de cálcio é tradicionalmente utilizado como medicação intracanal em rotinas endodônticas e em casos de tratamentos de apicificação devido as suas propriedades bactericidas. Porém alguns estudo afirma que os remanescentes de hidróxido de cálcio podem

levar a uma resposta de tecido mineralizado em vez de crescimento de células semelhantes ao tecido pulpar (CHAGAS et al.,2015), impedindo o desenvolvimento de tecido vital (IWAYA et al.,2014). Uma alternativa ao hidróxido de cálcio como medicação intracanal tem sido a utilização de uma pasta antibiótica composta por metronidazol, minociclina e ciprofloxacina (ALBUQUERQUE et al, 2014). Como já relatado anteriormente as minociclina possuem pH ácido, o que torna o meio não favorável para a cultura de células estaminais. Já a ciprofloxacina também tem um pH ácido. O metronidazol é o único antibiótico na mistura a ter um pH neutro e, portanto, não tem citotoxicidade para as células estaminais. O que não foi necessário neste caso relatado, pois se tratar de um traumatismo dentário com fratura coronorradicular com polpa no interior do canal.

A regeneração pulpar em dentes imaturos com necrose e ausência de infecção pode levar ao crescimento de quatro diferentes tipos celulares: (1) formação acelerada de dentina levando a obliteração do canal pulpar; (2) crescimento de cemento e ligamento periodontal; (3) crescimento de cemento, ligamento periodontal e osso; (4) crescimento de osso e medula óssea (ANDREASEN e BAKLAND et al.,2012; CHEN et al.,2011). Em um segundo momento, optou-se por realizar novamente à intervenção no dente 11. Realizou-se uma irrigação abundante com solução fisiológica estéril e secagem com pontas de papel absorvente estéril. Neste momento foi detectado que um batente havia se formado na região apical. A introdução das pontas de papel absorvente foi realizada de forma cuidadosa para que não desestruturasse o tecido formado, na região apical. Apenas a ponta dos papéis absorvente apresentavam-se com um líquido sanguinolento.

Para finalizar o tratamento de regeneração pulpar o canal radicular deve ter um plug de medicamento intracanal (pasta de hidróxido de cálcio com alguma substância estéril ou com MTA) entre o coágulo e o material restaurador. O material restaurador final deve conter boas propriedades de selamento, para que não recontaminação do canal radicular e conseqüentemente insucesso no tratamento realizado, como preconizado pela *American Association Endodontists Clinical Considerations for a Regenerative Procedure*. Como nas proervação do caso o ápice ainda estava em formação, após a irrigação abundante e secagem com pontas de papel absorvente estéril, foi realizada uma colocação de pasta de hidróxido de cálcio no terço médio e selamento da região cervical com resina composta, para manter o canal radicular bem selado e sem possibilidade contaminação do canal o que levaria a um insucesso do caso.

Em dentes com rizogênese incompleta, portadores de necrose pulpar e periodontite apical, a revascularização pulpar pode apresentar diferentes resultados: tipo I, aumento da espessura das paredes dentinária do canal radicular e continuação do desenvolvimento radicular; tipo II, continuação do desenvolvimento radicular insignificante; tipo III, continuação do desenvolvimento radicular sem fechamento do forame apical; tipo IV, canal radicular calcificado (obliterado) e tipo V, formação de barreira de tecido mineralizado entre o tampão de MTA na região cervical e ápice radicular (ALBUQUERQUE et al.,2014; CHEN et al.,2011).

Na radiografia realizada seis meses após o procedimento de regeneração pulpar, observou-se que sua raiz teve um crescimento considerável, principalmente quando comparado com o do dente vizinho (21). Verificou-se ainda que as raízes dos dentes 11 e 21 possuem praticamente o mesmo comprimento, porém ainda sem o fechamento apical. Ou seja, houve uma continuação do desenvolvimento radicular, como classificado por ALBUQUERQUE et al., 2014. O caso continuará a ser acompanhado para que possamos ver o resultado do tratamento em longo prazo.

6 - CONCLUSÃO

Neste estudo clínico observou-se que houve um crescimento radicular considerável do elemento dentário 11, principalmente quando comparado com o elemento dentário 21. O que reforça a ideia do tratamento de regeneração pulpar para dentes com ápice aberto que necessitam por algum motivo de tratamento endodôntico oferecendo ao cirurgião-dentista clínico um tratamento promissor, que evita a apicificação tradicional realizada com trocas da pasta de hidróxido de cálcio ou a criação de uma barreira apical com agrado de trióxido de mineral (MTA). Além de ser uma alternativa para a substituição dos tratamentos citados acima, a regeneração pulpar pode ajudar a resgatar dentes jovens infectados através do reforço fisiológico das paredes dentinárias da raiz.

A regeneração pulpar permite a estimulação do desenvolvimento do ápice e a maturação da raiz de dentes jovens (crescimento da raiz e espessamento das paredes dentinárias, ou seja, a apicificação). Um tratamento endodôntico convencional em um dente imaturo envolve a manutenção da raiz de um dente com o ápice aberto e com finas e frágeis paredes. Isso envolverá a persistência de um dente enfraquecido e que muitas vezes com um prognóstico desfavorável devido a uma fragilidade intrínseca e à dificuldade de obter uma boa vedação de um ápice aberto. A técnica de regeneração irá permitir o crescimento das raízes, evitando assim paredes finas e frágeis, ou seja, irá reduzir o risco da raiz fraturar. Uma grande importância é dada para manter a vitalidade de um dente, não apenas as já ditas, mas também a fim de manter a possibilidade de sinal de "alerta" no caso de estímulos patogênicos.

É evidente que a revascularização pulpar apresenta vantagens, porém como é um tratamento relativamente novo, pouco se sabe sobre seus efeitos em longo prazo (ALBUQUERQUE et al.,2014).

7 - REFERÊNCIAS

1. ABOUT, I. Dentin–pulp regeneration: the primordial role of the microenvironment and its modification by traumatic injuries and bioactive materials. **Endodontic Topics**, v. 28, p.61–89, 2013.
2. ANDREASEN, J.O.; BANKLAND, L.K. Pulp regeneration after non-infected and infected necrosis, what type of tissue do we want? A review. **Dent Traumatol.** v.28, n.1, p.13-18, feb/2102.
3. ANDREASEN, J.O.; FARIK, B.; MUNKISGAARD, E. C.. Long-term calcium hydroxide as a root canal dressing may increase risk of root fracture. **Dental Traumatology**,v. 18, p. 134–137, 2002.
4. BANSAL, R.; JAIN, A.; MITATAL, S. Current overview on challenges in regenerative endodontics. **Journal of Conservative Dentistry**, Punjab, v. 18, p. 1-6, 2015.
5. BAZLEY, W.J.; GULLICK, W.J.. The epidermal growth factor receptor family. **Endocr Relat Cancer**, v.12, p. 17–27, 2005
- BONTE, E.; BESLOT, A.; BOUKPESSI, T. MTA versus Ca(OH)₂ in apexification of non-vital immature permanent teeth: a randomized clinical trial comparison. **Clin Oral Invest**, v. 19, p. 1381-1388, 2015.
6. BOONTHEEKUL, T.; KONG, H.J.; MOONEY, D.J.. Controlling alginate gel degradation utilizing partial oxidation and bimodal molecular weight distribution. **Biomaterials**, v.26, p.2455-2465, 2005.
7. CHUEH, L.-H.; HO, Y.-C.; KUO, T.-C.; LAI, W.-H.; CHEN, Y.-H. M.; CHIANG, C.-P.. Regenerative endodontic treatment for necrotic immature permanent teeth. **Journal of Endodontics**, v. 35, n. 2, p. 160–164, 2009.
8. CHUENSOMBAT, S.; KHEMALEELAKUL, S.; CHATTIPAKOM, S.; SRISUWAN, T.. Cytotoxic effects and antibacterial efficacy of a 3-antibiotic combination: an in vitro study. **Journal of Endodontics**, v. 39, n. 6, p. 813–819, 2013.
9. COHEN, S.; HARGREAVES, K.M.. **Caminhos da polpa**. Tradução da 10ª edição. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011. pag 418-423.
10. COHEN, S.; HARGREAVES, K.M.. **Caminhos da polpa**. Tradução da 10ª edição. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011. pag 550-564.

11. CORDEIRO, M.M.; DONG, Z.; KANEKO, T.; ZHANG, Z.; MIYAZAWA, M.; SHI, S. (2008). Dental pulp tissue engineering with stem cells from exfoliated deciduous teeth. **J Endod**, v.34, p.962-969, 2008.
12. CVEK, M. Prognosis of luxated non-vital maxillary incisors treated with calcium hydroxide and filled with gutta-percha. A retrospective clinical study. **Endod Dent Traumatol**, v. 8, n.2, p.45–55, 1992.
13. FABRA, C. H.. Upper lateral incisor with two canals. **Endodoncia**, v.9, n. 2, p. 104-108, 1991.
14. FARHAD, A. and MOHAMMADI, Z. Calcium hydroxide: a review. **International Dental Journal**, v. 55, n. 5, p. 293–301, 2005.
15. FOLWACZNY, M.; MEHL, A.; JORDAN, C.; HICKEL, R.. Antibacterial effect of pulsed Nd:YAG laser radiation at different energy settings in the root canals . **J Endod**, v. 28, n.1, p. 24-29, 2002.
16. GALLER, K.M.; D'SOUZA, R.N.; HARTGERINK, J.D.; SCHMALZ, G.. Scaffolds for dental pulp tissue engineering. **Adv Dent Res**, v. 23, n. 3, p.333-339, 2011.
17. GLOWACKI, J.; MIZUNO, S.. Collagen scaffolds for tissue engineering. **Biopolymers**, v.89, n.5, p.338-344, 2008.
18. HARTGERINK, J.D.; BENIASH, E.; STUPP, S.I.. Self-assembly and mineralization of peptide-amphiphile nanofibers. **Science**, v. 294, p. 1684-1688, 2001.
19. JI, Y-M., JEON, S. H., PARK, J.Y., CHUNG, J.H., CHOUNG Y.H., CHOUNG, P.H.. Dental stem cell therapy with calcium hydroxide in dental pulp capping. **Tissue Engineering A**, v. 16, n. 6, p. 1823–1833, 2010.
20. KRELL, K.V.; JOHNSON, R.J.; MADISON, S. Irrigation Patterns of Ultrasonic Endodontic Files. Part II. Diamond-Coated Files. **J Endod**, v. 14, n.11, p535-537, 1988.
21. LAW, A.S. Considerations for regeneration procedures. **J Endod**, v.39, p. 44-56, 2013.
22. LEONARDO, M.R.; SILVA, L.A.B.; LEONARDO, R.T.; UTRILLAR, L.S.ASSED, S.. Histological Evaluation of Therapy Using a Calcium Hydroxide Dressing for Teeth with Incompletely Formed Apices and Periapical Lesions. **J Endod**, v.19, n.7, p 348-352, 1993.
23. LOVSCHALLI, H.; FEJERSKOV, O.; FLYYBJERG, A.. Pulp-capping with recombinant human insulin-like growth factor I (rhIGF-I) in rat molars. **Adv Dent Res**, v.15, p. 108 –112, 2011.

24. MALER, J.J.; UPTON, J.; LANGUER, R.; VACANTI, J.P.. (1998). Transplantation of cells in matrices for tissue regeneration. **Adv Drug Deliv Ver**, v.33, p. 165-182, 1998.
25. MASON, C.; DUNNILL, P.. A brief definition of regenerative medicine. **Regenerative Medicine**, v. 3, n. 1, p. 1-5, 2008.
26. MOONEY, D.J.; POWELL, C.; PIANA, J.; RUTHERFORD, B.. Engineering dental pulp-like tissue in vitro. **Biotechnol Prog**, v.12, p. 865– 868, 1996.
27. MURRAY, P.E.; GARCIA-GODOY, F.; HARGREAVES, K.M.. Regenerative endodontics: a review of current status and a call for action. **Jornal Endodic**, Fort Lauderdale, v.33, n.4, p.377-390, 2007
28. MUHAMMAD, O. H.; CHEVALIER, M.; ROCCA, J. P.; BRULAT-BOUCHARD, N.; MEDIONI, E.. Photodynamic therapy versus ultrasonic irrigation: interaction with endodontic microbial biofilm, an ex vivo study, **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 11, n. 2, p. 171–181, 2014.
29. MURRAY, P.E.; SMITH, A.J.. Saving pulps: a biological basis. An overview. **Prim Dent Care**, v.9, n.1, p.21–26, 2002.
30. NAKASHIMA, M.; NAGASAWA, H.; YAMADA, Y.; REDDI, A.H.. Regulatory role of transforming growth factor-beta, bone morphogenetic protein-2, and protein-4 on gene expression of extracellular matrix proteins and differentiation of dental pulp cells. **Dev Biol**, v. 162, p.18 –28, 1994.
31. NAMOUR, M. and THEYS, S. Pulp Revascularization of Immature Permanent Teeth: A Review of the Literature and a Proposal of a New Clinical Protocol. **Scientific World Journal**, v. 2014, 2014.
32. ORSTAVIK, D.;QVIST, V.; STOLTZW,K.. A multivariate analysis of the outcome of endodontic treatment. **Eur J Oral Sci**, v.112, p. 224-230, 2004.
33. PALIT, M.C.; HEGDE, K.S.; BHAT, S.S.; SARGOD, S.S.; MANTHA, S.; CHATTOPADHYAY, S.. Tissue Engineering in Endodontics: Root Canal Revascularization. **The Journal of Clinical Pediatric Dentistry**, v. 38, n. 4, p. 291-297,2014.
34. ROBERTS-CLARK, D.J.; SMITH, A.J.. Angiogenic growth factors in human dentine matrix. **Arch Oral Biol**, v.45, p.1013-1016, 2000.
35. SIMON,S.; RILLIARD, F.; BERDAL, A.; MACHTOU,P.. The use of mineral trioxide aggregate in one-visit apexification treatment: a prospective study. **Int Endod J**, v.40, n.3, p.186–197, 2007.

36. SIQUEIRA, J. F.. Strategies to treat infected root canals. **Journal of the California Dental Association**, v. 29, n. 12, p. 825–837, 2001.
37. THIBODEAU, B.; TEIXEIRA, F.; YAMAUCHI, M.; CAPLAN, D.J.; TROPE, M. Pulp revascularization of immature dog teeth with apical periodontitis. v. 33, n.6, p.680-689, 2007.
38. TZIAFAS, D.; KONDONAS, K.. Differentiation potential of dental papilla, dental pulp, and apical papilla progenitor cells. **J Endod**, v.36, n.5, p.781–789, 2010.
39. TROPE, M. Regenerative potential of dental pulp. **Journal of Endodontics**, v. 34, n. 7, p. 13–17, 2008.
40. WINGARD, J.R.; DEMETRI, G.D.. **Clinical applications of cytokines and growth factors**. Springer, New York, 1999.
41. ZHANG, W.; WALBOOMERS, F. X.; KUPPEVELT, V. T. H.; DAAMEN, W.F.; BIAN, Z.; JANSEN, J.A.. The performance of human dental pulp stem cells on different three-dimensional scaffold materials. **Biomaterials**, v. 27, p.5658 – 5668, 2006.