

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
THAYANA SALGADO DE SOUZA

OBSERVAÇÕES CLÍNICAS, RADIOGRÁFICAS E HISTOLÓGICAS, EM DENTES  
IMATUROS COM PERIODONTITE APICAL ASSINTOMÁTICA, SUBMETIDOS À  
REVITALIZAÇÃO PULPAR.

CURITIBA  
2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
THAYANA SALGADO DE SOUZA

OBSERVAÇÕES CLÍNICAS, RADIOGRÁFICAS E HISTOLÓGICAS, EM DENTES  
IMATUROS COM PERIODONTITE APICAL ASSINTOMÁTICA, SUBMETIDOS À  
REVITALIZAÇÃO PULPAR.

CURITIBA  
2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
THAYANA SALGADO DE SOUZA

OBSERVAÇÕES CLÍNICAS, RADIOGRÁFICAS E HISTOLÓGICAS, EM DENTES  
IMATUROS COM PERIODONTITE APICAL ASSINTOMÁTICA, SUBMETIDOS À  
REVITALIZAÇÃO PULPAR.

Monografia apresentada ao Departamento  
de Odontologia Restauradora do Setor de  
Ciências da Saúde da Universidade  
Federal do Paraná como requisito parcial  
para a obtenção do título de Especialista  
em Endodontia.

Orientadora: Prof. Dra. Marili Doro  
Andrade Deonizio

CURITIBA  
2013

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente agradeço a Deus por ter me permitido chegar até aqui e ter me amparado nos momentos em mais precisei.

Aos meus pais e irmão pelo amor incondicional e por sempre me apoiarem em todos os momentos da minha vida, ao Gabriel pelo amor e pela presença constante, por entender minha ausência e ter muita paciência durante essa jornada.

À minha orientadora, pela ajuda incansável em todas as etapas desse projeto, por sempre ter acreditado em meu potencial, me incentivando a seguir em frente, mesmo frente a todas minhas limitações.

Aos demais professores da disciplina, por estarem disposto a me ajudar sempre que precisei.

Ao professor Gilson Blitzkow Sydney por dividir comigo todo o seu respeito e amor pela endodontia, fazendo com que me apaixonasse ainda mais pela profissão.

Aos meus colegas de turma, em especial a Vanessa e a Helô, por enfrentarem comigo todas as angustias e insegurança do curso, facilitando e alegrando as minhas idas e vindas para a especialização.

## RESUMO

Neste artigo, descreve-se a revitalização dos canais radiculares em molares inferiores, com rizogênese incompleta e com periodontite apical assintomática. O tratamento instituído foi desinfecção e o esvaziamento do conteúdo séptico dos canais radiculares, seguido do preenchimento, com pasta tri antibiótica e de coágulo sanguíneo induzido, com o intuito de promover a formação radicular apical. Depois de dez meses, os dentes foram reabertos e constatou-se a presença de tecido neoformado, preenchendo todo espaço dos canais radiculares mesiais e distais. Histologicamente, foi observada proliferação fibroblástica intensa, formando a arquitetura de um tecido fibroso propriamente dito não modelado, pelos quais permeiam vasos sanguíneos e material mucoso, presença de células mesenquimais fusiformes (fibroblastos jovens), processo inflamatório crônico linfoplasmocitário, áreas de formação mineral ectópica, macrófagos e células gigantes multinucleadas. Em um dos casos, os canais radiculares foram obturados definitivamente e no outro, optou-se pela preservação, tendo em vista a revitalização e a divergência das paredes radiculares, no terço apical.

**Palavras-chave:** revitalização; pasta tri antibiótica; periodontite apical.

## ABSTRACTS

This article describes the revitalization of root canals in mandibular molars with incomplete root formation and apical periodontitis asymptomatic. The treatment was sanitizing and emptying the septic contents of the roots canals, followed by filling with triple antibiotic paste and induced blood clot, in order to promote apical root formation. After ten months, the teeth were reopened and found the presence of newly formed tissue, filling the entire space of the mesial and distal root canals. Histologically, an intense fibroblast proliferation was observed, forming the architecture of a fibrous tissue itself is not modeled, which permeate the blood vessels and mucous material. Fusiform mesenchymal cells (fibroblasts young), lymphocytic chronic inflammation, areas of ectopic mineral formation, macrophages and giant cells were observed. In one case, the root canals were filled and definitely and on the other, we chose to preservation, due to revitalizing and divergence on the walls of the roots the canals in the apical third.

**Keywords:** revitalization; triple antibiotic paste; apical periodontitis.

## **SUMÁRIO**

<b>1. INTRODUÇÃO:</b> .....	<b>8</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA:</b> .....	<b>11</b>
<b>3. CAUSÍSTICA E MÉTODOS:</b> .....	<b>21</b>
<b>3.1 CASO 01</b> .....	<b>21</b>
<b>4. RESULTADOS ENCONTRADOS:</b> .....	<b>26</b>
<b>4.1 CASO 01</b> .....	<b>26</b>
<b>3. CAUSÍSTICA E MÉTODOS:</b> .....	<b>29</b>
<b>3.2 CASO 02</b> .....	<b>29</b>
<b>4. RESULTADOS ENCONTRADOS:</b> .....	<b>32</b>
<b>4.2 CASO 02</b> .....	<b>32</b>
<b>5. DISCUSSÃO:</b> .....	<b>35</b>
<b>6. CONCLUSÕES:</b> .....	<b>44</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS:</b> .....	<b>45</b>

## 1. INTRODUÇÃO:

O completo desenvolvimento da estrutura dental e o fechamento do ápice radicular acontecem em até três anos depois da erupção dentária. Durante esse período, se houver necessidade de tratamento endodôntico, a presença de paredes finas e frágeis aliada ao diâmetro do forame apical, em geral maior do que o diâmetro do próprio canal radicular dificulta o estabelecimento do batente apical (BHASKAR, 1991).

O tratamento endodôntico de dentes jovens com rizogênese incompleta pode ser realizado por duas vertentes: apicogênese ou apicificação (RAFTER, 2005).

A apicogênese é a terapia indicada em dentes com rizogênese incompleta, tendo como objetivo o fechamento fisiológico do ápice por meio do desenvolvimento regular das paredes radiculares apicais. Em casos de vitalidade pulpar, esse tratamento pode ser realizado pela remoção da porção de polpa inflamada e aplicação de revestimento biológico sobre o tecido remanescente sendo denominada curetagem pulpar ou pulpotomia (RAFTER, 2005).

A apicificação visa o selamento biológico do ápice radicular e é indicada quando a polpa não possui mais vitalidade. É comumente realizada através da medicação intracanal de hidróxido de cálcio, pela criação de um meio alcalino no interior do sistema de canais radiculares (SCR), que propicie a formação de uma barreira apical de tecido mineralizado (RAFTER, 2005) e mais recentemente, com a utilização do agregado de trióxido mineral (MTA) (MOORE *et al.*, 2011). Como vantagens esse material apresenta uma redução no tempo de tratamento quando comparado ao o  $\text{Ca(OH)}_2$  (SIMON *et al.*, 2007).

Embora hidróxido de cálcio seja largamente utilizado na prática clínica, o prognóstico à longo prazo é duvidoso, pois as paredes laterais do canal radicular continuam frágeis, já que é impossível prever o aumento do comprimento radicular do dente, bem como reduzir o diâmetro do canal radicular, e fraturas na parede radicular podem ocorrer.

Se ocorrer necrose pulpar em dentes imaturos, uma abordagem alternativa de tratamento endodôntico pode ser utilizada, devido à presença de paredes frágeis e de um ápice aberto (FRANK, 1966).

A endodontia regenerativa propõe o controle da infecção existente no SCR com o mínimo de instrumentação e com aplicação de pasta tri antibiótica



(ciprofloxacina, metronidazol e minociclina), em dentes com rizogênese incompleta (BANCHS e TROPE, 2004; CHUEH e HUANG, 2006; JUNG *et al.*, 2008; DING *et al.*, 2009; CHEN *et al.*, 2012).

Nygaard-Østby (1961) introduziu a ideia de que um coágulo no interior do canal radicular poderia regenerar o tecido necrótico perdido. O coágulo sanguíneo consiste em uma rede de fibrina, a qual serve de guia para a migração das células vindas da região periapical, atuando como arcabouço ativo. Possui fatores de crescimento e de diferenciação que são importantes para o sucesso da revascularização. Esse tecido de granulação possui células indiferenciadas responsáveis pela formação de macrófagos, fibroblastos e células osteogênicas as quais são formadoras do novo tecido do espaço do canal (THIBODEAU *et al.*, 2007).

A revascularização/revitalização, em dentes permanentes jovens e com periodontite apical tem sido considerada, equivocadamente, um processo regenerativo (BANCHS e TROPE, 2004; CHUEH e HUANG, 2006; DING *et al.*, 2009). Estudos em animais em dentes imaturos com necrose pulpar e periodontite apical mostram que o tecido formado possui características de tecido osteóide e cementóide e do ligamento periodontal (THIBODEAU *et al.*, 2007; WANG *et al.*, 2010). O primeiro estudo em humanos, que mostra a natureza do tecido formado no espaço do canal radicular em dentes com pulpite irreversível foi de Shimizu *et al.*, (2012). Os autores observaram na região apical, tecido rico em células e altamente vascularizado. Na mesma ordem de idéias, Shimizu *et al.*, (2013) baseados em observações clínicas, radiográficas e histológicas em dente permanente com abscesso crônico após tratamento de revitalização encontraram tecido cementóide ou osteóide e tecido conjuntivo fibroso.

Conceitualmente, a revascularização é o restabelecimento do suprimento sanguíneo da polpa, a revitalização do canal radicular é o crescimento de um novo tecido, não sendo, necessariamente o tecido originalmente perdido e regeneração endodôntica é a substituição de estruturas danificadas, incluindo dentina e estruturas como células do complexo dentino-pulpar (HARGREAVES *et al.*, 2013). Entretanto, em dentes permanentes jovens e com periodontite apical tem sido observado aumento da espessura das paredes do canal radicular pela deposição de tecido mineralizado e com continuação do desenvolvimento radicular (IWAYA *et al.*, 2001; BANCHS e TROPE, 2004; CHUEH e HUANG, 2006; DING *et al.*, 2009; CHEN *et al.*, 2012).

A condição anatômica de dentes com ápice incompletamente formados com necrose e lesão periapical requer tratamentos endodônticos mais complexos, visando o fechamento apical e o completo desenvolvimento radicular. Neste contexto, este estudo se propõe a relatar as observações clínicas, imagenológicas e histológicas em dentes humanos revitalizados, com rizogênese incompleta e com periodontite apical, utilizando-se pasta tri antibiótica por 10 meses.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA:

Indivíduos entre 6 e 16 anos de idade apresentam erupção sequencial de dentes permanentes e maturação das raízes. Qualquer fator que interfira no processo fisiológico normal da polpa pode interferir na conclusão do desenvolvimento radicular (HUANG, 2008).

Dentes com rizogênese incompleta devem ser tratados da forma mais conservadora possível (WEISLEDER e BENITEZ, 2003). O capeamento pulpar é o tratamento de primeira escolha. Em casos onde o tecido pulpar sofre danos mais avançados, pulpotomia é o próximo tratamento indicado, na tentativa de preservar a vitalidade da polpa radicular (RAFTER, 2005). No entanto, se ocorrer necrose pulpar, o uso de hidróxido de cálcio tem sido a terapia mais tradicionalmente utilizada. A pasta deve ser inserida no interior do canal, e em longo prazo irá induzir à formação de um tecido apical mineralizado, barreira necessária para permitir a obturação do SCR (CHALA *et al.*, 2011).

Frank, (1966) relatou o uso do hidróxido de cálcio na promoção de uma barreira apical de dentes imaturos, permitindo assim a obturação dos condutos.

Klein e Levy, (1974) realizaram um avaliação histológica de um incisivo central superior imaturo traumatizado, onde se obteve sucesso no tratamento. O dente foi despulpado e teve o ápice lacerado, em seguida foi colocada no interior do canal uma pasta de hidróxido de cálcio, após seis meses o dente foi obturado com guta-percha. Devido a uma recessão o dente teve de ser extraído e encaminhado para análise histológica, a qual revelou a formação de uma barreira mineralizada na região apical, induzida pelo hidróxido de cálcio.

Em uma revisão de 10 estudos, Sheehy e Roberts, (1997) verificaram que o uso de hidróxido de cálcio para a formação da barreira apical foi bem sucedido em 74% dos casos, independentemente da técnica utilizada. Eles apontam que o acompanhamento é necessário e informações sobre resultados em longo prazo são limitadas. Problemas como a reinfecção e fratura cervical da raiz podem ocorrer.

As desvantagens da terapia tradicional incluem o longo tempo de tratamento, as imprevisibilidades da formação de uma vedação apical, além da dificuldade no acompanhamento dos pacientes. Uma alternativa para a terapia com o hidróxido de cálcio é a inserção de um tampão apical artificial (SHABAHANG, 2013).

Shabahang *et al.*, (1999) mostrou a formação de barreira consistente quando se utilizou agregado de trióxido mineral (MTA) como um tampão apical num modelo *in vivo* de cães com ápices abertos. No mesmo ano, Torabinejad e Chivian, (1999) recomendaram o uso do MTA, como uma barreira apical artificial em dentes com rizogênese incompleta, tornando-se o material de escolha em procedimentos que necessitam uma barreira apical artificial.

Estudos posteriores confirmaram os resultados clínicos de sucesso, incluindo a cicatrização de lesões periapicais existentes na maioria dos dentes imaturos que foram tratados com um tampão apical de MTA (TORABINEJAD, 1999; MOORE *et al.*, 2011).

As vantagens em se usar um tampão apical artificial em relação à utilização do hidróxido de cálcio incluem a formação da barreira apical mais previsível e um menor número de sessões. Entretanto, não leva em conta o desenvolvimento radicular completo ao longo de todo o comprimento da raiz (SHABAHANG *et al.*, 1999).

Trope, (2010) relatou as diferentes formas de tratamento em dentes com rizogênese incompleta. A técnica tradicional se inicia com a desinfecção do canal utilizando-se o hipoclorito de sódio a 0,5%, em seguida o canal é seco e é preenchido com uma pasta de hidróxido de cálcio para induzir a formação de uma barreira apical em um tempo médio de 6-18 meses. Afirmou que esta técnica foi muito estudada e apresenta uma alta taxa de sucesso, porém o tempo de espera e o aumento do índice de fratura das paredes dentinárias são fatores desfavoráveis. A aplicação do MTA, como *plug* apical a 3-4 mm do ápice e após 6 horas, o canal pode ser preenchido com um material obturador convencional. Apresenta altos índices de sucesso, mas não soluciona o problema da fragilidade das paredes do canal. Por último o autor considerou a revascularização da polpa a mais vantajosa, pois há a possibilidade do desenvolvimento da raiz, tanto em comprimento como em espessura, tornando-a mais resistente a possíveis fraturas. No entanto, esta técnica só é efetiva se o canal radicular estiver totalmente livre de contaminação, o que atualmente se tem conseguindo com o uso da pasta tri antibiótica.

Historicamente, esse procedimento tem recebido inúmeras denominações como, revascularização endodôntica, revitalização, entre outros, alguns autores preferem se referenciar a esses procedimentos como regenerativos, uma vez que

esse termo abrange todos os procedimentos que visam atingir um reparo organizado da estrutura dental (NOSRAT, 2013).

De acordo com Andreasen e Andreasen (2001) o termo regeneração deve ser utilizado para processos biológicos onde a estrutura e a função sejam completamente restauradas, enquanto reparo é a substituição do tecido perdido por um novo com estrutura e função diferentes da original.

Para Murray *et al.*, (2007) procedimentos endodônticos regenerativos (PERs) têm sido definidos como procedimentos concebidos biologicamente para substituir as estruturas danificadas, incluindo dentina e estruturas da raiz, assim como as células do complexo dentino-pulpar.

Trope, (2010) afirma que pode ser devolvida a vitalidade ao espaço pulpar, mas com base em pesquisas em dentes avulsionados e em estudos recentes de dentes imaturos infectados e submetidos a terapias de revascularização, é mais provável que o tecido no espaço da polpa seja semelhante ao ligamento periodontal, existindo somente 30% de chance dos tecidos pulpares preencherem o espaço do canal radicular.

Nas últimas duas décadas, os PERs surgiram como uma viável alternativa para o tratamento de dentes imaturos com necrose pulpar. Embora, pesquisas na área foram realizadas muitas décadas antes (NOSRAT, 2013).

Nygaard – Østby, (1961) introduziu a ideia de que coágulo no interior do canal radicular poderia regenerar o tecido necrótico perdido. Para testar esta hipótese, 17 dentes adultos diagnosticados com polpa vital ou necrótica receberam tratamento de canal seguido pelo alargamento foraminal provocando sangramento intracanal, foi realizado um selamento coronário sobre o coágulo sanguíneo. Os pacientes foram acompanhados por 17 dias até 3 anos e meio. Após o acompanhamento os dentes previamente tratados foram extraídos e os tecidos recém-formados foram analisados radiograficamente e histologicamente. Os resultados foram semelhantes para todos os dentes: resolução de sintomas de inflamação relacionados ao alargamento foraminal e sobre instrumentação em 17 dias; resolução de sinais e sintomas de patologias em casos de necrose, e em certos casos, evidências radiográficas de fechamento apical. Na análise histológica, foi observado que houve crescimento interno do tecido conjuntivo para o espaço do canal radicular e níveis variados de tecido mineralizado ao longo das paredes do canal, assim como "ilhas" de tecido mineralizado incorporado no interior do tecido recém-formado. Os resultados foram

bastante promissores, no entanto houve a inclusão de um tipo de células não desejadas (p.ex. cementoblastos) e a ausência de tipos de células desejadas (p.ex. odontoblastos) indicando que este protocolo não foi suficiente para completar a regeneração da polpa dentária.

Apesar de suas limitações, este estudo pioneiro colocou a base para os estudos subsequentes no campo da endodontia regenerativa.

Rule e Winter, (1966) publicaram um estudo, relatando que a desinfecção radicular pode ser obtida por meio de medicações intracanal, com misturas de antibióticos (três diferentes formulações foram utilizadas em cinco casos). A resolução dos sinais e sintomas da doença e desenvolvimento radicular contínuo foi visto em todos os casos relatados. Este representa o primeiro caso relatado onde pastas poliantibióticas foram utilizadas em dentes imaturos necrosados para a desinfecção e promoção do desenvolvimento radicular.

Cinco anos depois, Nygaard-Östby e Hjortdal, (1971) publicaram outro estudo, que incluía a utilização de antibióticos no protocolo de desinfecção e a promoção intencional de sangramento intracanal. Neste estudo foi unânime a resolução dos sintomas e desenvolvimento radicular contínuo dos 35 dentes analisados. No entanto, a histologia dos dentes extraídos demonstrou que um tecido conjuntivo foi formado em 28 dos 35 dentes, enquanto cimento foi formado em 18 dos 35 dentes. Os autores concluíram que estes protocolos geraram resultados clínicos aceitáveis (por exemplo, cura de periodontite apical e ausência de sinais e sintomas de patologias).

O primeiro a testar a eficácia da pasta tri antibiótica foi Hoshino *et al.*, (1996) realizando uma pesquisa mostrando *in vitro* o efeito da mistura composta por ciprofloxacina, metronidazol e minociclina com ou sem adição de rifampicina. A eficácia da mistura foi determinada para bactérias presentes em lesões cariosas que atingiram a polpa dentinária. Foram utilizados na pesquisa 27 dentes extraídos infectados e as concentrações da droga variaram de 10, 25, 50 e 75  $\mu\text{m ml}^{-1}$ . Os resultados mostraram a concentração de 25  $\mu\text{m ml}^{-1}$  da droga é suficiente para que se ocorra a esterilização do canal em 24 horas.

Iwaya *et al.*, (2001) publicaram um relato que demonstrou a eficácia de uma pasta de antibiótico duplo (DAP) para desinfetar um pré-molar, com uma polpa necrótica e uma grande lesão perirradicular. O tratamento foi realizado em seis visitas, sem e com instrumentação, irrigação com hipoclorito de sódio a 5% e peróxido de hidrogénio 3%, seguida pela colocação de uma pasta composta por ciprofloxacina e metronidazol. Os exames radiográficos demonstraram um desenvolvimento radicular considerável, além disso, o dente tratado demonstrou uma resposta positiva aos testes de vitalidade após 30 meses de acompanhamento.

Este estudo foi seguido por uma publicação de Banchs e Trope, (2004) que também descreve um protocolo de revascularização/revitalização endodôntica. O sistema de canal foi irrigado quimicamente com hipoclorito de sódio a 5,25%, sem instrumentação, seguido pela colocação de uma pasta de triplo antibiótico (TAP), composto por ciprofloxacina, minociclina e metronidazol por 26 dias. Na segunda consulta, a TAP foi removida com irrigação salina e um sangramento intracanal foi provocado, seguido pela colocação de uma restauração coronária sobre o coágulo formado. Obteve evidência clínica e radiográfica de cura em 22 dias, a radiolucidez apical tinha desaparecido em 2 meses, e o acompanhamento foi de 24 meses, ficando evidente que houve o espessamento radicular bem como o desenvolvimento apical. O tipo de tecido que se desenvolveu não é esclarecido, porém segundo os autores os benefícios são tão grandes em comparação com deixar uma raiz com uma parede fina e fratura suscetível que, sua aplicação clínica é válida. Se nenhum desenvolvimento radicular for visto no período de três meses, os procedimentos de apicificação tradicionais podem, então, ser iniciados. Este estudo também relatou positiva resposta aos testes de vitalidade.

Após esse trabalho inúmeros outros casos de revitalização pulpar, seguindo pequenas variações nos protocolos foram descritos.

Kim *et al.*, (2012) publicaram um artigo relatando três casos de revascularização em dentes com necrose pulpar e ápices imaturos. Pacientes com idade entre 10 e 12 anos foram submetidos ao protocolo de revascularização com a pasta tri antibiótica e indução de coágulo sanguíneo. Em todos os casos foi possível observar contínuo desenvolvimento radicular, com espessamento das paredes

dentinárias. Os autores concluíram que esta pode ser uma alternativa viável para os casos de apicificação.

Jadhav *et al.*, (2012) realizaram um estudo piloto de revascularização com a utilização do plasma rico em plaquetas (PRP) como matriz de crescimento. Vinte pacientes foram divididos em dois grupos, um dos grupos se utilizou só coágulo sanguíneo como matriz de crescimento (grupo um), no outro grupo foi utilizado o PRP juntamente com o coágulo (grupo dois). Os resultados clínicos foram semelhantes para ambos os grupos com total desaparecimento dos sinais e sintomas, radiograficamente o grupo dois apresentou um maior espessamento das paredes dentinárias. Os autores concluíram que a utilização do PRP, em processos de regeneração, pode ser vantajoso comparado com outras matrizes de crescimento propostas na literatura. Esta técnica apresenta algumas desvantagens como remoção de sangue venoso de pacientes jovens, bem como a necessidade de equipamentos próprios para o preparo do PRP e conseqüentemente o alto custo que isso pode levar, entretanto para os autores essas desvantagens são insignificantes perante aos benefícios que a técnica poderá trazer a população.

Kottoor e Velmurugan, (2012) apresentaram um relato de caso de regeneração em um dente com necrose pulpar e rizogênese incompleta. No relato foi utilizada a pasta tri antibiótica e posterior confecção de um coágulo sanguíneo. Os autores acompanharam o caso por um período de cinco anos, e o consideraram como sucesso, tendo em vista que nesse período o dente apresentou-se assintomático clinicamente, e radiograficamente com espessamento das paredes dentinárias e fechamento apical.

Hargreaves *et al.*, (2008) fizeram uma revisão nos caso de tratamento endodôntico em dentes com rizogênese incompleta e concluíram que: a revascularização ocorre mais facilmente em dentes com o ápice aberto. A instrumentação convencional e a irrigação com hipoclorito de sódio não são suficientes para se criar uma condição de esterilidade no canal (apesar de todos os casos pesquisados, utilizarem o hipoclorito como irrigante), o hidróxido de cálcio impede a revascularização (causa uma necrose superficial quando em contato com os tecidos vivos). A pasta tri antibiótica foi considerada eficaz para promover a desinfecção de SCR e a formação de um coágulo é imprescindível para que ocorra à revascularização/revitalização, mesmo sem saber qual tecido exatamente, se forma no interior dos canais radiculares.



Torabinejad e Faras, (2012) relatam os resultados clínicos e histológicos obtidos após 14 meses, de um dente imaturo submetido à regeneração pulpar com a utilização do PRP. Após este período, o paciente retornou a clínica de Endodontia com sintomatologia dolorosa ao frio devido à insistência de seus responsáveis o dente foi aberto e se instituiu o tratamento endodôntico convencional. O tecido removido foi encaminhado para análise histológica, a qual constatou a presença de um tecido vital, com poucas células inflamatórias. Os autores concluíram que um tecido semelhante ao tecido pulpar pode ser formado, com a utilização do PRP como matriz de crescimento.

Martin *et al.*, (2013) descreveram os achados histológicos de um dente com rizogênese incompleta submetido ao tratamento regenerativo com o uso do PRP. Clinicamente o tratamento obteve resolução dos sinais e sintomas. Histologicamente, o que se observou foi um tecido mineralizado semelhante ao cimento e um tecido conjuntivo fibroso, não podendo ser caracterizado como um tecido pulpar.

Shimizu *et al.*, (2013) relataram os achados clínicos, radiográficos e histológicos de em dente imaturo com abscesso periapical crônico. O dente foi extraído vinte e seis meses após a conduta de revitalização ter sido instituída. Clínica e radiograficamente a revitalização foi bem sucedida, verificou-se a ausência de sinais e sintomas, bem como o desaparecimento da lesão periapical e espessamento das paredes dentinárias, propiciando o contínuo desenvolvimento radicular. Histologicamente, observou-se a presença de um tecido mineralizado, com características osteoides e cementoides, não sendo caracterizado como um tecido pulpar. Os autores concluíram que, com base em observações clínicas e radiográficas, a revitalização tecidual no presente caso foi bem sucedida, sendo justificada pela ausência de sinais, bem como espessamento das paredes do canal e o contínuo desenvolvimento de raiz. Os tecidos formados no espaço do canal são semelhantes ao tecido conjuntivo fibroso, contendo áreas mineralizadas por cimento ou osso.

Vijayaraghavan *et al.*, (2012) fizeram uma revisão literária sobre o emprego da pasta tri antibiótica no tratamento endodôntico de dentes com rizogênese incompleta. O conceito de se combinar os antibióticos, veio do pressuposto de que o SCR é composto por uma microbiota complexa e que um único fármaco não teria efeito sobre todos os microrganismos. A escolha desses antibióticos se baseia no

seguinte conceito, o metronidazol tem amplo espectro de ação contra bactérias e protozoários anaeróbios (predominantes no SCR), a minociclina é um derivado sintético da tetraciclina, a qual inibe a colagenase e a metaloproteinase, aumenta a inter-leucina 10 (citocina anti-inflamatória) e por fim a ciprofloxacina que é uma fluorquinolona sintética que promove uma ação bactericida. Para que se ocorra à revascularização os autores destacaram três tópicos importantes: 1 - realizar a total desinfecção do canal 2 - é necessária uma matriz intraradicular (coágulo) para que seja possível a proliferação das células-tronco e 3 - vedar o acesso coronário para evitar com que ocorra recontaminação do SCR.

Adl *et al.*, (2012) realizaram um estudo *in vitro*, compararam os efeitos antimicrobianos da pasta tri antibiótica e do hidróxido de cálcio sobre *Enterococcus Faecalis*. Os medicamentos foram divididos em nove grupos; pasta tri antibiótica, com solução salina ou clorexidina, seus componentes (metronidazol, a ciprofloxacina, minociclina) também foram testados separadamente (com solução salina normal), e  $\text{Ca(OH)}_2$  com solução salina normal ou 2% de clorexidina. Estes medicamentos foram avaliados em quatro concentrações de 25, 50, 100 e 200  $\mu\text{g/mL}$  num teste de difusão em agar. Os diâmetros das zonas de inibição de crescimento em cada grupo foram registrados e comparados. As concentrações inibitórias mínimas (CIM) necessárias dos medicamentos testados para matar o *E. faecalis* também foram determinadas. As diferenças entre os grupos foram analisadas por meio de testes de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis. Os resultados mostraram maiores zonas de inibição para a pasta tri antibiótica misturada com solução salina, e o menor para o  $\text{Ca(OH)}_2$  com solução de clorexidina a 2%. O aumento das concentrações produziu maiores efeitos antibacterianos em todos os grupos. A CIM mostrou resultados semelhantes, sendo 77,5  $\mu\text{g/mL}$  a concentração mínima para a inibição com o antibiótico triplo misturado em solução salina e 195000  $\mu\text{g/mL}$  para o  $\text{Ca(OH)}_2$  misturado com solução de clorexidina a 2%.

Yassen *et al.*,(2013) estudaram o efeito de medicamentos usados em técnica de regeneração de Endodontia na estrutura química de dentina radicular imatura: um estudo *in vitro*. Amostras de dentina radicular humanas foram expostas a pasta de tri antibiótica, pasta bi antibiótica, hidróxido de cálcio, ( $\text{Ca(OH)}_2$ ) em pasta, ou água destilada (controle) por 1, 2 ou 4 semanas. Após cada período, as amostras foram examinadas com espectroscopia de infravermelho para analisar a perda relativa de componentes orgânicos e inorgânicos. Os dados foram analisados usando análise

de variância e os resultados sugeriram uma degradação do colágeno superficial ou desmineralização de dentina radicular causada pelo  $\text{Ca(OH)}_2$  ou pastas antibióticas, respectivamente, após 1, 2, ou 4 semanas de exposição.

Galler *et al.*, (2011) realizaram um trabalho experimental que objetivou visualizar se a dentina condicionada pode influenciar na sobrevivência das células tronco. Essas foram removidas da polpa dentaria e semeadas em discos de dentinas tratados com hipoclorito de sódio 5,25% (grupo um) e com EDTA (grupo dois), posteriormente esses discos foram implantados no tecido subcutâneo de ratos imunocomprometidos. Após seis semanas os discos foram removidos e enviados para análise histológica e imunohistoquímica. As análises mostraram que na dentina tratada com hipoclorito de sódio 5,25%, houve reabsorções na interface criada entre células tronco e dentina, em contrapartida no grupo tratado com EDTA foi possível observar uma íntima relação entre as células tronco e a dentina. Com esses achados os autores concluíram que as substâncias utilizadas como irrigante, em processos regenerativos, exercem uma considerável influência no destino das células tronco. Informação esta que pode ser crucial para o futuro da endodontia regenerativa.

Trevino *et al.*, (2011) realizaram um estudo objetivando testar a sobrevivência das células tronco apicais (SCAP) frente a diferentes protocolos de irrigação, descritos em casos de revascularização. As SCAP foram removidas da raiz de terceiros molares extraídos, em seguida foram separadas em grupos e irrigadas com os seguintes agentes químicos: grupo 01 EDTA 17%, grupo 02 EDTA 17% e hipoclorito de sódio 6%, grupo 03 EDTA 17% e clorexidina 2% e grupo 04 hipoclorito de sódio 6%, EDTA 17%, hipoclorito de sódio 6%, álcool isopropílico e clorexina 2%. Em seguida as SCAP foram misturadas com PRP, e cultivadas na raiz radicular. Após 21 dias, as raízes foram descalcificadas e submetidas à análise imunohistoquímica. O grupo irrigado somente com EDTA 17% obteve as melhores porcentagens na sobrevivência das SCAP (89%), seguido do grupo 02 (74%), em contrapartida, os grupos que continham clorexidina 2% como líquido irrigante, não apresentou nenhuma célula viável. Os autores concluíram que os agentes irrigantes afetam significativamente a sobrevivência das células tronco apicais, e que a inclusão do EDTA em protocolos de regeneração pode ter um efeito benéfico.

Law, (2013) discute inúmeros aspectos quanto à seleção de casos, o consentimento informado, os procedimentos clínicos, preservação e o tipo de tecido

formado no campo da endodontia regenerativa vistos na literatura. Sumariamente, verificou nos estudos publicados a inclusão de pacientes jovens (idade entre 6-18), dentes com ápice imaturo, mínima instrumentação, colocação de medicação intracanal (pasta tri e bi antibiótica, hidróxido de cálcio, formocresol ou nenhum medicamento) e selamento da cavidade para evitar a recontaminação do canal radicular. Verificou que os autores utilizaram diferentes protocolos: NaOCl numa concentração de 1,25% até 6%; a matriz foi o coágulo sanguíneo induzido e o PRP; diferentes tipos de barreira pulpar (MTA,  $\text{Ca(OH)}_2$ , Collatape) e de restauração final (Resina composta, amálgama, ionômero de vidro e Cavit). Concluiu que a endodontia regenerativa pode promover a regeneração endodôntica e tem vantagens sobre a terapia tradicional.

Martin *et al.*, (2014) avaliaram o efeito de diferentes concentrações de NaOCl, na diferenciação e sobrevivência das células tronco da papila apical. Os resultados sugeriram que altas concentrações, acima de 3%, tem efeito negativo sobre a diferenciação e sobrevivência dessas células. Entretanto, esse efeito negativo pode ser prevenido com a irrigação alternada de NaOCl a 1,5% e EDTA a 17%.

### 3. CAUSÍSTICA E MÉTODOS:

#### 3.1 CASO 01

Paciente de sete anos, gênero feminino foi encaminhada a clínica de Endodontia do curso de Odontologia da Universidade Federal do Paraná, para o tratamento endodôntico do dente 46. Durante a anamnese, a mãe relatou que a paciente teve edema e dor severa, levando-a a procurar um atendimento de urgência. O exame clínico revelou ausência de sintomatologia dolorosa à percussão e à palpação e resposta negativa aos testes de vitalidade pulpar. O exame radiográfico denotou ápice incompletamente formado, estágio três de Moorrees, e presença de rarefação óssea periapical difusa (Fig.01), o que levou ao diagnóstico de periodontite apical assintomática. Depois do termo de consentimento livre e esclarecido e do assentimento terem sido lidos compreendidos e assinados, foi realizada a anestesia local com mepivacaína a 2% (Mepiadre 100, DFL, Rio de Janeiro, RJ, BR). Após o isolamento absoluto, foi realizada a abertura endodôntica e acesso aos canais radiculares, instrumentos #20 e #25 flexofile de 21 mm (Dentsply, Maillefer, Ballaigues, CH) foram introduzidos no canal radicular, levando-se em consideração o comprimento aparente do dente, com margem de segurança de 3 mm do ápice. Para neutralizar o conteúdo séptico-necrótico, cada canal foi irrigado passivamente com 30 mL de solução de hipoclorito de sódio a 2,5% (Biodinâmica, Ibioporã, Paraná, BR), seguido de aspiração. Em seguida, 20 mL de solução de EDTA a 17% e 30 mL de NaOCl a 2,5% foram utilizadas, alternadamente, objetivando remover o *smear layer*. Após irrigação/aspiração, os canais foram secos com pontas de papel absorventes estéreis compatíveis ao diâmetro de cada canal radicular (Maillefer Dentsply, Ballaigues, CH).

Quantidades iguais dos comprimidos de Metronidazol, Ciprofloxacina foram triturados em um pote palladon estéril e a mesma quantidade de Minociclina foi adicionada. Solução salina foi sendo adicionada até a obtenção de uma pasta de consistência cremosa na concentração de 0,012 mg/mL. Essa pasta foi aplicada no interior dos canais radiculares utilizando-se um propulsor de Lântulo #25 (Maillefer Dentsply, Ballaigues, CH). Após 10 minutos um instrumento #20 de 25 mm (Maillefer Dentsply, Ballaigues, CH) foi utilizado ultrapassando o forame apical em 2 milímetros, para induzir sangramento e formação de coágulo sanguíneo. Uma vez constatada a formação do coágulo sanguíneo, (15' após) uma camada de 3 mm de

Coltosol® (Vigodent, Rio de Janeiro, RJ, Brazil) foi aplicada sobre o mesmo, seguida de ionômero de vidro (Maxxion, FGM, Joinville, SC, BR) e restauração definitiva, com resina composta (Z250, 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA).

A preservação seguiu por 10 meses com o primeiro retorno em uma semana após a primeira sessão, e as demais a cada 2 meses para realização de exame clínico e radiográfico. Em todas as sessões foi constatada a ausência de sinais e sintomas, bem como a integridade dos materiais restauradores.

No último retorno, depois da anestesia com mepivacaína a 2% (Mepiadre 100, DFL, Rio de Janeiro, RJ, BR), foi realizado o isolamento absoluto, acesso coronário, e o canal radicular foi examinado clinicamente, com auxílio de microscópio endodôntico. Visualizou-se a presença de tecido neoformado (Fig 02), na altura das entradas dos canais mesiais e distal (Fig 02). Limas Hedström #25 e #30 (Maillefer Dentsply, Ballaigues, CH) foram utilizadas sequencialmente, para remover o tecido do interior do canal radicular, o qual foi colocado em lâmina por esfregaço e embebido em álcool 90° GL e enviado para análise histológica.

Considerando o plano de tratamento inicial, as condições clínicas, radiográficas e tomográficas a terapia endodôntica convencional foi realizada. Os canais radiculares foram preparados até lima #35 (Dentsply, Maillefer, Ballaigues, CH) nos canais mesiais e até lima #45 (Dentsply, Maillefer, Ballaigues, CH) no canal distal. Todos foram obturados com cones de guta-percha (Fig 03) e a coroa dentária foi restaurada com resina composta (Z250, 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA).



Figura 01 – RX inicial



Figura 02 – Visão clínica da revitalização dos canais radiculares





Figura 03 – Rx final da obturação do sistema de canais radiculares

#### 4. RESULTADOS ENCONTRADOS:

##### 4.1 CASO 01

###### Clínicos:

Foi observada a resolução dos sinais e sintomas, já na primeira semana após a aplicação da pasta tri antibiótica. A paciente relatou ausência de sintomatologia, até o ultimo dia de consulta quando foi realizada a obturação dos canais radiculares (Fig 03). Vale lembrar que a coroa dentária não apresentou alteração de cor em nenhum momento do tratamento.

###### Imagenológicos:

Radiograficamente, após oito semanas (Fig 04), observaram-se indícios de reparo da área radiolúcida periapical e aos 10 meses, indícios de fechamento apical e o desenvolvimento radicular (Fig 05).

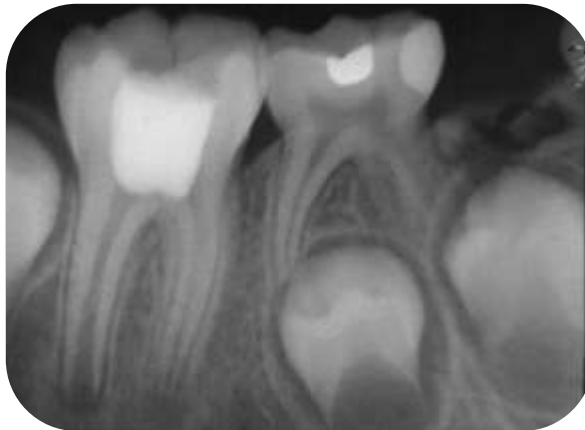


Figura 04 - Depois de 8 semanas



Figura 05 – Depois de 10 meses

Ao exame tomográfico foi possível, comprovar a ausência de lesão periapical e o desenvolvimento radicular semelhante ao dente contra lateral (Fig. 07 e 08).



Figura 06 – Dente 36



Figura 07 – Dente contralateral (46)

**Histológicos:**

Foi observada uma proliferação fibroblástica intensa, formando a arquitetura de um tecido fibroso propriamente dito não modelado, pelos quais permeiam vasos sanguíneos e material mucoso. Identificaram-se, na região central células mesenquimais fusiformes (fibroblastos jovens), processo inflamatório crônico linfoplasmocitário e na região periférica, tecido fibroso com áreas de formação mineral ectópica, com macrófagos e células gigantes multinucleadas. Constatou-se ausência de neutrófilos polimorfonucleares. (Fig 08).

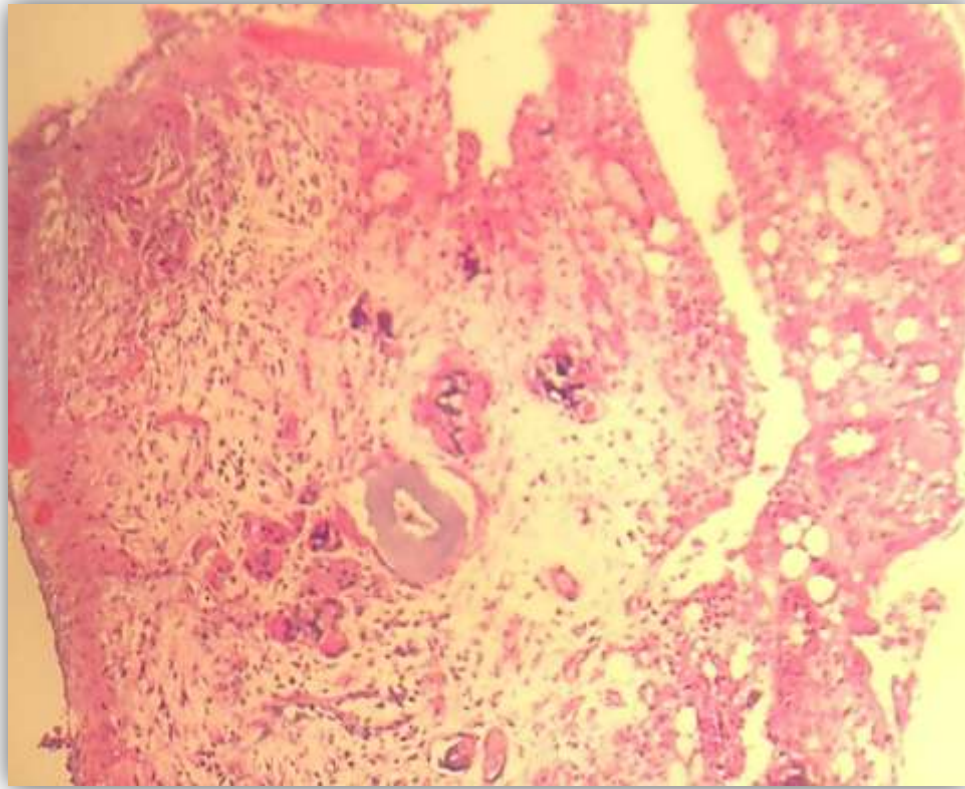


Figura 08 – Análise histológica do tecido neoplasmático – dente 36

### **3. CAUSÍSTICA E MÉTODOS:**

#### **3.2 CASO 02**

Paciente de oito anos, gênero feminino apresentou-se na Clínica de Endodontia do Curso de Odontologia da Universidade Federal do Paraná, com o objetivo de realizar tratamento endodôntico do dente 36. Durante a anamnese, a mãe relatou que a paciente estava apresentando quadro de dor moderada, localizada e indiferente aos estímulos térmicos. No exame clínico foi constatada lesão cáriosa profunda na face oclusal, sintomatologia leve à percussão e nenhuma à palpação. O exame radiográfico denotou ápice incompletamente formado, estágio três de Moorrees e presença de rarefação óssea periapical difusa (Fig 09), o que levou ao diagnóstico de periodontite apical assintomática. Depois do termo de consentimento livre e esclarecido e do assentimento terem sido lidos compreendidos e assinados, a paciente foi anestesiada com anestesia local de mepivacaína a 2% (Mepiadre 100, DFL, Rio de Janeiro, RJ, BR). Em seguida foi realizado e o tratamento endodôntico regenerativo, conforme descrito no caso 01.

A preservação seguiu por 10 meses com o primeiro retorno em uma semana após a primeira sessão e os demais a cada dois meses para realização de exame clínico e radiográfico. Em todas as sessões foi constatada a ausência de sinais e sintomas, bem como a integridade dos materiais restauradores.

No último retorno, depois da anestesia com mepivacaína a 2% (Mepiadre 100, DFL, Rio de Janeiro, RJ, BR), foi realizado o isolamento absoluto, acesso coronário, os canais radiculares foram examinados clinicamente, com auxílio de microscópio endodôntico. Visualizou-se a presença de tecido neoformado, na altura das entradas dos canais mesiais e distal (Fig 05), o qual foi removido com uma cureta número 17/18 (MAILLEFER DENTSPLY, Ballaigues, CH), colocado em solução de formol a 1% e enviado para análise histológica.

Sobre o tecido neoformado, foi colocada uma barreira de Coltosol seguida por restauração coronária de cimento ionômero de vidro (Maxxion, FGM, Joinville, SC, BR) e resina composta (Z250, 3M ESPE St. Paul, MN, EUA). Como conduta clínica optou-se em seguir com os acompanhamentos clínicos e radiográficos, até que o ápice radicular esteja totalmente formado.



Figura 09 – Rx inicial

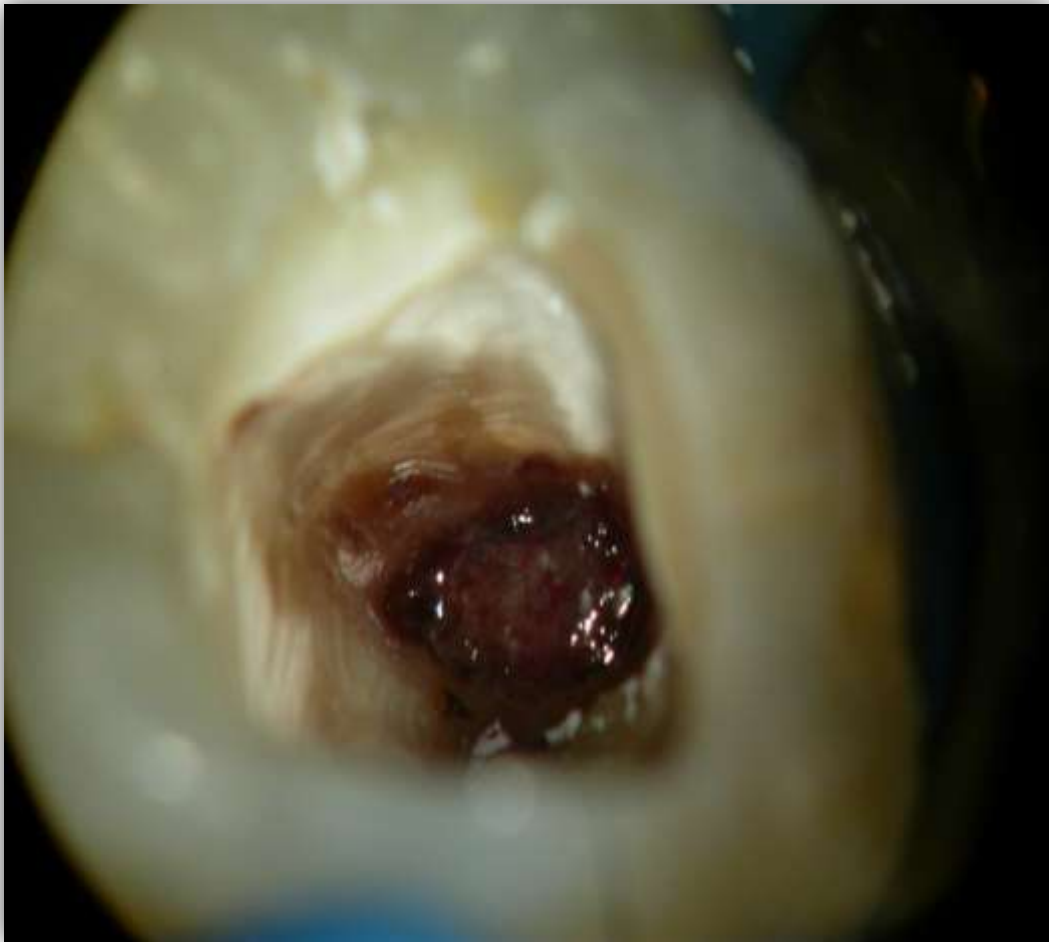


Figura 10 - Visão clínica da revitalização dos canais radiculares

#### 4. RESULTADOS ENCONTRADOS:

##### 4.2 CASO 02

###### Clínicos:

Foi observada a resolução dos sinais e sintomas, já na primeira semana após a aplicação da pasta tri antibiótica. A paciente seguiu assintomática, em todas as consultas de acompanhamento. No entanto, após 30 dias, foi observada uma leve pigmentação coronária, quando comparada com os outros dentes.

###### Imagenológicos:

Radiograficamente, após oito semanas, pode-se observar o reparo da área periapical (Fig 11) e aos 10 meses foi possível observar o contínuo desenvolvimento da área apical (Fig 12).



Figura 11 – depois de 8 semanas



Figura 12 – depois de 10 meses

Ao exame tomográfico foi possível, comprovar a ausência de lesão periapical e desenvolvimento radicular semelhante ao dente contra lateral (Figs. 12 e 13).



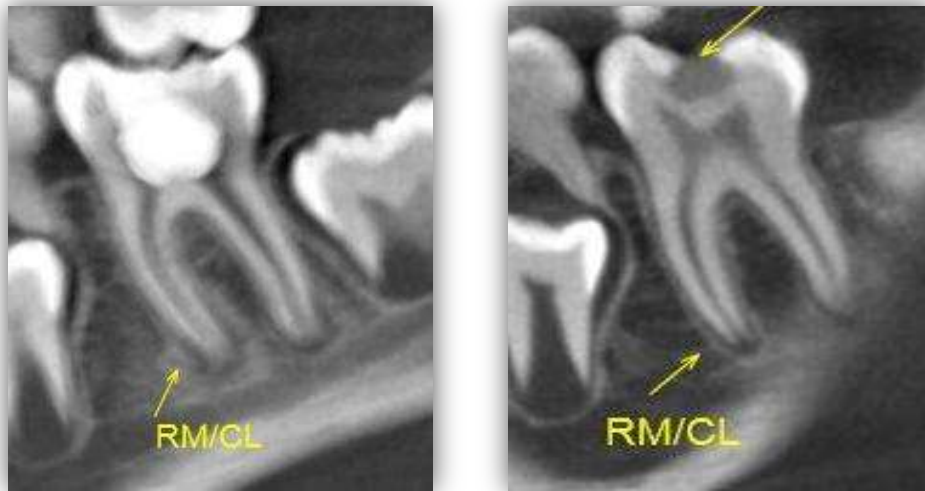


Figura 13 – Dente 46      Figura 14 – Dente contralateral (36)

### **Histológicos:**

Os achados histológicos (Fig. 15) apresentaram as mesmas características que os apresentados no CASO 01. Foi observada uma proliferação fibroblástica intensa, formando a arquitetura de um tecido fibroso propriamente dito não modelado, pelos quais permeiam vasos sanguíneos e material mucoso. Identificaram-se, na região central células mesenquimais fusiformes (fibroblastos jovens), processo inflamatório crônico linfoplasmocitário e na região periférica, tecido fibroso com áreas de formação mineral ectópica, com macrófagos e células gigantes multinucleadas. Constatou-se ausência de neutrófilos polimorfonucleares (Fig. 15).

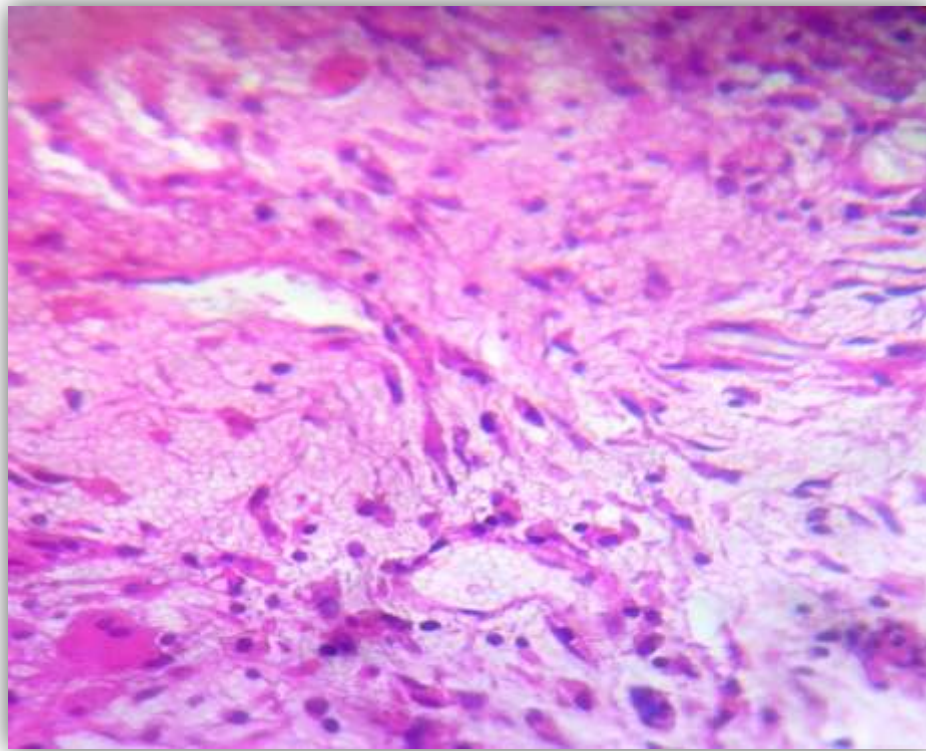


Figura 15 - Análise histológica do tecido neoformado – dente 46

## 5. DISCUSSÃO:

A produção de um ambiente adequado para suportar o crescimento interno de tecido e o adequado selamento coronário, para prevenir o ingresso de bactérias, permeiam as condições essenciais para a regeneração endodôntica.

Propiciar a cura da periodontite apical, o contínuo desenvolvimento radicular, a maior sobrevivência de dentes com rizogênese incompleta têm sido uma alternativa clínica viável (IWAYA *et al.*, 2001; BANCHS e TROPE, 2004; RAFTER, 2005).

Reportamos aqui dois casos de revitalização endodôntica, utilizando-se o mesmo protocolo e que apresentaram depois de dez meses resultados clínicos, histológicos e imagenológicos similares.

Pode-se observar clinicamente e com microscópio endodôntico a presença de tecido vital até a entrada dos canais radiculares (Figs.02 e 10).

Os achados radiográficos e tomográficos mostram indícios de fechamento apical e ausência de reabsorção (Figs.05, 06, 12 e 13). O mecanismo do fechamento apical ainda não é bem entendido. Muitos pesquisadores acreditam que a Bainha Epitelial de Hertwig (BHE) permanece intacta e retoma a suas funções quando a infecção é controlada. A BHE tem importante papel no desenvolvimento radicular e na diferenciação de odontoblastos e de cementoblastos (CHEN *et al.*, 2013).

Uma das grandes dificuldades dos PERs está em definir qual o tipo de tecido formado (HARGREAVES *et al.*, 2013). A literatura aponta que, em dentes de cães, o tecido produzido foi um tecido conjuntivo derivado do ligamento periodontal (DA SILVA *et al.*, 2010; CHEN *et al.*, 2012). Em dentes humanos os resultados também não tem sido conclusivos, representado na maioria das vezes por um tecido fibroso com áreas mineralizadas em seu interior (SHIMIZU *et al.*, 2013; MARTIN *et al.*, 2014).

Histologicamente, observou-se em ambos os casos proliferação fibroblástica intensa, formando uma arquitetura de um tecido fibroso propriamente dito não modelado, pelos quais permeiam vasos sanguíneos e material mucoso. Identificaram-se, na região central células mesenquimais fusiformes (fibroblastos jovens), processo inflamatório crônico linfoplasmocitário e na região periférica, tecido fibroso com áreas de formação mineral ectópica, com macrófagos (Fig.15) e células gigantes multinucleadas (Fig.08).

Shimizu *et al.*, (2012) indo de encontro aos achados em animais apresentaram os achados histológicos do tecido formado no espaço do canal de um dente com ápice imaturo, representado por tecido semelhante ao tecido pulpar. Entretanto, o diagnóstico do caso era de uma pulpíte irreversível e o procedimento realizado foi uma pulpotomia parcial, alta. Os procedimentos de revascularização foram seguidos com colocação de pasta de hidróxido de cálcio com solução salina. A pasta foi removida na segunda sessão e promoveu-se a formação de coágulo, recobrando-o com MTA. Assim, as células encontradas como odontoblastos podem ter sido provenientes do tecido pulpar remanescente na região apical ou pela migração de células da papila apical, que sobreviveram à infecção (TORNECK e SMITH, 1970; NAKASHIMA e AKAMINE, 2005; HUANG *et al.*, 2008; TREVINO *et al.*, 2011).

Pode-se inferir que nos casos relatados, os três principais princípios da endodontia regenerativa foram conseguidos: a) eliminação de bactérias nos sistema de canais radiculares; b) criação de uma matriz para o crescimento de um novo tecido (coágulo sanguíneo); c) prevenção de reinfecção com apropriado selamento coronário (IWAYA *et al.*, 2001; BANCHS e TROPE, 2004).

As células-tronco tem a capacidade de se diferenciar em vários fenótipos de células em função da sua linhagem e exposição a estímulos ambientais, tais como fatores de crescimento, matriz extracelular, hipóxia, ou outras condições (CHUEH e HUANG, 2006; GALLER *et al.*, 2011). De acordo com Hargreaves *et al.*, (2013) é importante lembrar desses fatores quando se interpreta os resultados histológicos na endodontia regenerativa.

A presença de fibroblastos jovens sugere oxigenação suficiente na região periférica e central. Nas fases iniciais do reparo, a tensão de oxigênio pode ser baixa no centro do tecido em formação. As fibras colágenas tendem a se formar na periferia e depois se dirigem para o centro da lesão, quando novos capilares proliferam, levando oxigênio (MOOS *et al.*, 1996).

No tecido neoformado, a presença de macrófagos, além de fagocitose possui a capacidade de liberar substâncias que avisam as células mesenquimais, as quais devem se acumular e proliferar no local. Essas substâncias incluem fatores de crescimento derivados de plaquetas e fibronectina. Isto resulta no recrutamento e na proliferação de fibroblastos e de novos vasos sanguíneos (MOOS *et al.*, 1996).

Células gigantes multinucleadas foram identificadas tentando reabsorver as calcificações ectópicas. Como componente do sistema imunológico, as atividades dos macrófagos estão intimamente relacionadas com as respostas imunes, inflamação e respostas de corpo estranho. No entanto, os macrófagos também podem mediar a biodegradação de materiais reabsorvíveis através de fagocitose e degradação extracelular. Além disso, os macrófagos são essenciais para a regeneração de tecidos como regular o recrutamento, proliferação e diferenciação de células-alvo, tais como fibroblastos, osteoblastos, células endoteliais e queratinócitos durante os processos de cura (XIA e TRIFFITT, 2006).

Em ambos os casos apresentados os procedimentos endodônticos realizados promoveram a revitalização e o processo de reparo dos tecidos periapicais (Figs.08 e 15). Neste contexto, acredita-se que os canais radiculares foram efetivamente desinfectados (WINDLEYLII *et al.*, 2005).

O tecido encontrado tinha aspecto de um tecido de substituição, sem restauração da função e sem características de tecido pulpar (THIBODEAU *et al.*, 2007; HUANG *et al.*, 2008; MARTIN *et al.*, 2013) apresentou poucas células inflamatórias e sem presença de necrose.

Calcificações distróficas com a presença de células gigantes, indicando a fagocitose foram identificadas. Segundo Huang *et al.*, (2008), as células-tronco provindas do ligamento periodontal, tecido que tem um papel importante durante a formação do coágulo sanguíneo, proporcionam a formação de em tecido cementóide nas paredes do canal radicular e sobre o forame apical (abertura apical). De acordo com Zhang e Yelick, (2010) quando ocorre à diferenciação de odontoblastos na regeneração pulpar pode ocorrer a formação de calcificações pulpares e estas podem bloquear o suprimento sanguíneo e causar necrose do tecido pulpar. No entanto, se a polpa e a papila apical forem destruídas, somente tecidos periodontais, incluindo osso, ligamento periodontal e cemento podem se formar no espaço do canal (WANG *et al.*, 2010).

Quanto maior o tempo de necrose que um dente apresenta, maior a penetração microbiana nos túbulos dentinários (HUANG *et al.*, 2008). A presença de um biofilme bacteriano já maduro (NOSRAT *et al.*, 2013) apresenta maior dificuldade de desinfecção apropriada e eventualmente, a necrose da papila apical, o que diminuem as chances de regeneração (HUANG *et al.*, 2008).

Verificou-se silêncio clínico após uma semana, durante a primeira avaliação, e no decorrer de 10 meses de preservação. A partir do segundo mês, pode-se observar, radiograficamente, o reparo da região apical (Figs. 04, 06, 11 e 12) e, ao final do controle, o quase completo fechamento do forame apical (Figs. 06 e 13), que se apresentam muito similares ao grau de desenvolvimento radicular encontrados nos dentes contralaterais (Figs. 07 e 14). Os achados clínicos e imagenológicos permitem considerar os resultados como satisfatórios e estão de acordo com os encontrados por (IWAYA *et al.*, 2001; BANCHS e TROPE, 2004; THIBODEAU *et al.*, 2007; HUANG, 2008; DING *et al.*, 2009; SHIN *et al.*, 2009; THIBODEAU, 2009; MOHAMMADI, 2011; NOSRAT *et al.*, 2011; JADHAV *et al.*, 2012; LENZI e TROPE, 2012; TORABINEJAD *et al.*, 2012; VIJAYARAGHAVAN *et al.*, 2012; LAW, 2013; NOSRAT *et al.*, 2013).

Diferentes substâncias irrigadoras têm sido propostas nos protocolos de regeneração endodôntica, dentre elas, a clorexidina 2% (REYNOLDS *et al.*, 2009), EDTA a 17% (NOSRAT *et al.*, 2011; MARTIN *et al.*, 2014) e hipoclorito de sódio com concentrações entre 1 até 6% (NOSRAT *et al.*, 2011; LAW, 2013; MARTIN *et al.*, 2014). Estudos *in vitro* tem demonstrado a ineficácia da clorexidina 2% em manter a viabilidade de células mesenquimais, potencialmente indispensáveis para processos regenerativos. O EDTA 17% tem demonstrado ser bem tolerado por tais células, além de ser capaz de liberar os fatores de crescimento presentes na dentina (GALLER *et al.*, 2011; MARTIN *et al.*, 2014). Em casos de canais irrigados somente com o hipoclorito de sódio, independente da sua concentração, não é possível remover a camada de *smear layer* presente nas paredes dentinárias, impedindo dessa forma o reconhecimento da dentina pelo novo tecido formado, podendo resultar no desenvolvimento de reabsorções dentinárias (GALLER *et al.*, 2011). Trabalhos *in vitro* e em animais tem demonstrado que em altas concentrações de hipoclorito de sódio pode gerar efeitos desfavoráveis sobre os procedimentos de regeneração (NOSRAT *et al.*, 2013; MARTIN *et al.*, 2014).

Os canais radiculares dos casos relatados tiveram uma instrumentação mínima com limas #20 e #25, copiosa irrigação de forma passiva, com 30 mL de solução de NaOCl 2,5% (LENZI e TROPE, 2012), que objetivou agitar a substância química auxiliar e manter o tecido necrótico em suspensão, o qual foi removido com farta irrigação e aspiração. Seguido de 10 mL de solução de EDTA a 17% e de 30 mL de hipoclorito de sódio a 2,5%. O volume utilizado da substância irrigadora pode

ter produzido um ambiente favorável à revitalização dos canais radiculares. O uso alternado dessas substâncias vislumbra a remoção da *smear layer*. Recentes estudos consideram EDTA a 17% efetivo na liberação de fatores de crescimento pela dentina e pode descalcificar a superfície da dentina radicular e expor as suas fibras de colágeno. O colágeno possui mecanismos para a adesão de novas células, enquanto que a descalcificação da dentina libera fatores de crescimento que podem atrair novas células e promover a sua diferenciação em células com propriedades semelhantes aos odontoblastos (GALLER *et al.*, 2011).

Chueh e Huang, (2006) em quatro casos clínicos sem nenhuma instrumentação e com hipoclorito de sódio a 2,5% mostraram redução do espaço do canal radicular e maturação radicular. Shimizu *et al.*, (2012); Torabinejad e Faras, (2012) mostraram histologicamente tecidos não regenerativos, com concentração de NaOCl 5,25%.

Nas fases iniciais de desenvolvimento dos dentes, as células indiferenciadas derivadas da crista neural craniana migram para o primeiro arco braquial. O epitélio oral desempenha um papel fundamental na modelação inicial do dente, por meio do controle e comprometimento celular, bem como a morfologia dos germes dos dentes. A diferenciação final de pré-odontoblastos em odontoblastos ocorre depois de um determinado número de divisões celulares (RUCH *et al.*, 1995). Todas as células da papila dental têm o potencial para se diferenciar em odontoblasto, no entanto, apenas aquelas em contato com a membrana basal, na interface com o epitélio interno dental sofrem diferenciação final. Essa consideração pode ter implicações para a endodontia regenerativa, em que outros processos de sinalização são responsáveis pela indução da diferenciação celular como os odontoblastos (SIMON *et al.*, 2013).

Os fatores de crescimento são proteínas que se ligam aos receptores da célula e induzem a proliferação e diferenciação celular (MURRAY *et al.*, 2007). Dentina humana contém vários fatores de crescimento angiogênicos segundo (ROBERTS-CLARK e SMITH, 2000). A desinfecção do SCR associada à dentina com seus fatores de crescimento, ao coágulo sanguíneo e à pasta tri antibiótica pode ter induzido a diferenciação de células que migraram da papila apical e dos tecidos periapicais, e formaram os tecidos analisados histologicamente e, em última análise, o desenvolvimento das raízes.

A pasta tri antibiótica composta por ciprofloxacina, metronidazol e minociclina, inicialmente proposta por (RULE e WINTER, 1966) foi inserida nos canais radiculares. A ciprofloxacina que é uma fluorquinolona sintética promove ação bactericida; o metronidazol tem amplo espectro contra anaeróbios e a minociclina é um derivado da tetraciclina, possui ação sobre microorganismos gram positivos e negativos, muitos anaeróbios e bactérias facultativas. A tetraciclina promove o crescimento das células do hospedeiro na dentina, não pela ação antimicrobiana, mas via exposição das fibras colágenas ou fatores de crescimento (TERRANOVA *et al.*, 1989; MURRAY *et al.*, 2007).

Além disso, na maioria dos protocolos da endodontia regenerativa o objetivo é estimular as células existentes no espaço pulpar e periapical para promover a sua recuperação, multiplicação, diferenciação e restabelecimento da função. Isto é conseguido por meio de procedimentos endodônticos que possam reduzir a infecção e promovam a cura (WINDLEYLII *et al.*, 2005). Nos casos apresentados o uso da pasta tri antibiótica contendo o metronidazol, a ciprofloxacina e a minociclina podem ter estimulado a formação de fibroblastos (FERREIRA *et al.*, 2010).

Hoshino *et al.*, (1996) recomendou a concentração de 0,025 mg/mL da pasta, que foi suficiente para esterilizar dentina infectada *in vitro*. Sato *et al.*, (1996) com concentração de 0,050 mg/mL esterilizaram dentina infectada *in situ*. Entretanto, é questionável se estas concentrações seriam adequadas *in vivo*. Doses de ciprofloxacina e de metronidazol, entre 0,005 mg/mL até 0,050 mg/mL foram consideradas viáveis para fibroblastos (FERREIRA *et al.*, 2010). A concentração utilizada nos dois casos relatados foi de 0,012 mg/mL, objetivando minimizar os efeitos sistêmicos adversos, como a probabilidade de resistência bacteriana (BLACK *et al.*, 1990).

A literatura mostra grande amplitude no tempo de permanência da pasta tri antibiótica (IWAYA *et al.*, 2001; BANCHS e TROPE, 2004; CHUEH e HUANG, 2006; THIBODEAU *et al.*, 2007; JUNG *et al.*, 2008; NOSRAT *et al.*, 2011; NOSRAT *et al.*, 2012; NOSRAT *et al.*, 2013), desde nenhum tempo, (PETRINO e BODA, 2010) 11 dias até 3 meses (JUNG *et al.*, 2008). Parece que o que vem determinando essa questão é a presença ou não de sinais e sintomas dolorosos do paciente.

Hoshino *et al.*, (1996) demonstraram, em estudo *in vitro*, que a pasta tri antibiótica tem a capacidade de esterilizar um canal infectado em apenas 24 horas, tornando ainda mais questionável o tempo necessário de permanência do



medicamento. Entretanto, foi realizado aplicando-a sobre dentina cariada removida de lesões cariosas e sobre polpas infectadas. Cumpre lembrar que o próprio autor salienta no seu estudo que os métodos para estimar a eficácia antimicrobiana contra uma flora mista como a flora oral, ainda não havia sido estabelecida e parece que até os dias atuais este ponto ainda não é conclusivo.

O seu efeito sobre as células tronco na papila apical, ainda não é conhecido. Mais recentemente Ruparel *et al.*, (2012) usando método de cultura de células estudaram o efeito de diferentes concentrações de pastas tri antibióticas e do hidróxido de cálcio sobre as células da papila e constataram que todos os antibióticos testados reduziram significativamente a viabilidade destas células. Por sua vez o hidróxido de cálcio não apresentou efeito prejudicial sobre as células, o que vai de encontro a vários estudos que comprovam o seu potencial de reparo e contraria estudos que não o indicam na regeneração endodôntica. No entanto, a pasta tri antibiótica mostrou-se biocompatível tanto quanto a pasta  $\text{Ca(OH)}_2$  nos tempos de 7, 15, 30, 60 e 90 dias (GOMES-FILHO *et al.*, 2012), mas potencialmente tóxico quando concentrada (WANG *et al.*, 2010).

Diferentemente dos protocolos estabelecidos, nos casos relatados, a pasta tri antibiótica não foi removida das paredes dentinárias. A irrigação deve ser repetida até que nenhum medicamento esteja evidente, objetivando remover a pasta tri antibiótica (IWAYA *et al.*, 2001; BANCHS e TROPE, 2004; CHUEH e HUANG, 2006; COTTI *et al.*, 2008; JUNG *et al.*, 2008; PETRINO *et al.*, 2010; CHEN *et al.*, 2012). No nosso entender, a pasta tri antibiótica uma vez colocada no canal radicular, torna-se difícil de ser removida, pois adere às paredes dentinárias e penetra por difusão nos tubulos dentinários em direção ao cimento (SATO *et al.*, 1996).

Para o sucesso da regeneração pulpar a revascularização é necessária. Um coágulo sanguíneo precisa ser produzido para assegurar uma possível revascularização. É recomendado criar um coágulo sanguíneo após o tecido contaminado ter sido removido e o controle de infecção tenha sido conseguido (DING *et al.*, 2009; HARGREAVES *et al.*, 2013; LENZI e TROPE, 2012). O mecanismo de como um coágulo sanguíneo beneficia a revascularização ainda não é entendido claramente. É possível que as células da papila apical possam migrar para o interior do canal radicular e produzir um tecido como do complexo dentino-pulpar (HUANG *et al.*, 2008). Outro possível mecanismo é a liberação de fatores de crescimento no próprio coágulo sanguíneo ou da dentina (LOVELACE *et al.*, 2011).

Finalmente, o coágulo sanguíneo pode atuar como uma matriz para as células aderirem, proliferarem e se diferenciarem (NYGAARD-ÖSTBY, 1961; HUANG *et al.*, 2008).

A laceração dos tecidos periapicais, agora representados pela papila apical e pelo tecido periapical inflamado (LIAO *et al.*, 2011), promoveram um afluxo de células mesenquimais para o espaço do canal radicular (HUANG *et al.*, 2008; GALLER *et al.*, 2011; LIAO *et al.*, 2011).

A irrigação alternada com NaOCl a 2,5% e EDTA a 17% pode ter contribuído no fenótipo de células e portanto, no tipo de tecido encontrado (MARTIN *et al.*, 2014). As concentrações utilizadas podem ter influenciado a sobrevivência das células mesenquimais provindas da papila apical e o EDTA a 17% reverteu os efeitos negativos do NaOCl na sobrevivência celular (TREVINO *et al.*, 2011; MARTIN *et al.*, 2014). Assim, a concentração do NaOCl deve ser ajustada nos procedimentos de regeneração endodôntica (IWAYA *et al.*, 2001; BANCHS e TROPE, 2004; THIBODEAU, 2007; HUANG *et al.*, 2008; WIGLER *et al.*, 2013).

De acordo com Nosrat *et al.*, (2013) pode haver falhas nos protocolos e nos resultados encontrados na endodontia regenerativa. Dentre eles hemorragia insuficiente na segunda visita, falta ou pobre desenvolvimento da raiz na área cervical do dente (PETRINO *et al.*, 2010), ausência de regeneração da polpa e de dentina e por fim, descoloração dentária (DA SILVA *et al.*, 2010; MARTIN *et al.*, 2013). Em ambos os casos relatados, o coágulo sanguíneo induzido foi considerado satisfatório (BANCHS e TROPE, 2004; REYNOLDS *et al.*, 2009; WANG *et al.*, 2010). Depois de 10 meses verificou-se indícios de fechamento apical, mas sem aumento das paredes dentinárias, o tecido neoformado apresentou características clínicas e histológicas de revitalização dos canais radiculares (Figs.02, 05, 06, 08, 10, 12, 13, 15) e em um dos casos, ocorreu descoloração coronária.

A concentração utilizada de 2,5% pode ter influenciado na formação de calcificações ectópicas (GALLER *et al.*, 2011), no tecido neoformado. Segundo Martin *et al.*, (2014), o NaOCl a 1,5% possui um efeito neutro sobre a expressão da sialofosfoproteína da dentina e com concentração de 3% e obtiveram a completa ou parcial reversão.

Nanci, (2008) afirma que essencialmente, uma vez que a deposição de fosfato de cálcio tenha sido iniciada, o ponto crucial é, em seguida, controlar a deposição espontânea a partir de fluidos teciduais supersaturados em íons cálcio e

fosfato e limitá-la em locais bem definidos. Para tanto, as células formadoras criam um microambiente que facilitam a mobilização de íons minerais e secretam proteínas que estabilizam os íons cálcio e fosfato nos fluidos do corpo e ou controlam sua deposição em meio a uma matriz receptiva.

Nos protocolos tradicionais o MTA é utilizado sobre o coágulo sanguíneo e uma restauração coronária deve ser colocada sobre esse material, em uma visita posterior conforme preconizado por (BANCHS e TROPE, 2004; JUNG *et al.*, 2008; DING *et al.*, 2009; PETRINO *et al.*, 2010; NOSRAT *et al.*, 2011; CHEN *et al.*, 2012; NOSRAT *et al.*, 2012).

Nos casos apresentados o coágulo sanguíneo foi revestido com uma camada de Coltosol®, que possui diferente composição do MTA. Apresenta Óxido de zinco, Sulfato de zinco – hidratado, Sulfato de cálcio – hemidratado, Diatomácea de terra, Dibutil ftalado, Copolímero - cloreto de polivinila. Nosrat *et al.*, (2011) reportaram dois casos considerados sucesso, de revascularização/revitalização em molares imaturos e com necrose, onde utilizaram cimento com cálcio enriquecido como uma alternativa ao MTA. O Coltosol®, é um material pronto para uso, sem a necessidade qualquer mistura e com fácil manipulação. Possui uma atividade antibacteriana relacionada a íons zinco ( $Zn^{2+}$ ), oriunda da dissociação do óxido de zinco e do sulfato de zinco, presentes na formulação (SIQUEIRA e LOPES, 1999; WIDERMAN *et al.*, 1971).

Em um dos casos a obturação do sistema de canais radiculares foi realizada, por meio de condensação da guta-percha sem os inconvenientes do ápice aberto. O outro seguiu em acompanhamento, pois durante a inspeção visual decidiu-se aguardar por mais tempo.

Não resta dúvida que todas as contribuições presentes na literatura até aqui tem desempenhado um papel importante. A regeneração endodôntica é o mais excitante novo campo da Endodontia e é evidente que os recentes e rápidos avanços devem, num futuro muito próximo, definir uma conduta diferente, com potencial para proporcionar benefícios para toda a população.

## **6. CONCLUSÕES:**

1. Nos casos relatados, o SCR permaneceu livre de contaminação devido à ação do NaOCl a 2,5%, da pasta tri antibiótica e pelo selamento coronário, que permaneceu íntegro durante todo tempo.
2. Os resultados clínicos encontrados foram considerados de sucesso, incluindo a cicatrização de lesões periapicais pré-existentes.
3. Propiciar um microambiente favorável para que ocorra a revitalização radicular por meio da utilização da pasta tri antibiótica pode ser uma alternativa viável.
4. Estudos futuros são necessários para melhor explicar os mecanismos biológicos que determinam o processo de regeneração.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ADL A, SHOJAEI N S, MOTAMEDIFAR M. A Comparison between the Antimicrobial Effects of Triple Antibiotic Paste and Calcium Hydroxide Against *Enterococcus Faecalis*. **Iranian Endodontic Journal**, v.7, n.3, p.149-155, 2012.

ANDREASEN J.O., ANDREASEN, F.M. Texto e atlas colorido de traumatismo dental. São Paulo: Artmed, 2001.

BANCHS, F.; TROPE, M. Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: new treatment protocol? **Journal of Endodontics**, v.30, n.4, Apr, p.196-200, 2004.

BHASKAR, S. N. **Orban's oral histology and embryology**: Elsevier India, 1991.

BLACK, A. *et al.* Tolerance and safety of ciprofloxacin in paediatric patients. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.26, n.suppl F, p.25-29, 1990.

CHEN, M. Y., *et al.* Responses of immature permanent teeth with infected necrotic pulp tissue and apical periodontitis/abscess to revascularization procedures. **Internacional Endodontic Journal**, v.45, n.3, p.294-305, 2012.

CHEN, X. *et al.* Regenerative endodontic treatment of an immature permanent tooth at an early stage of root development: a case report. **Journal of Endodontics**, v.39, n.5, p.719-722, 2013.

CHUEH, L.H.; HUANG, G.T. Immature teeth with periradicular periodontitis or abscess undergoing apexogenesis: a paradigm shift. **Journal of Endodontics**, v.32, n.12, p. 1205-1213, 2006.

COTTI, E., MEREU M, LUSSO, D Regenerative treatment of an immature, traumatized tooth with apical periodontitis: report of a case. **Journal of Endodontics**, v.34, n.5, p.611-616, 2008.

DA SILVA, L. A. *et al.* Revascularization and periapical repair after endodontic treatment using apical negative pressure irrigation versus conventional irrigation plus triantibiotic intracanal dressing in dogs' teeth with apical periodontitis. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology**, v.109, n.5, p.779-787, 2010.

DING, R. Y. *et al.* Pulp revascularization of immature teeth with apical periodontitis: a clinical study. **Journal of Endodontics**, v.35, n.5, p.745-749, 2009.

FERREIRA, M. B. *et al.* Time-and concentration-dependent cytotoxicity of antibiotics used in endodontic therapy. **Journal of Applied Oral Science**, v.18, n.3, p.259-263, 2010.

FRANK, A. L. Therapy for the divergent pulpless tooth by continued apical formation. **Journal of the American Dental Association**, v.72, n.1, p.87-93, 1966.

GALLER, K. M. *et al.* Dentin Conditioning Codetermines Cell Fate in Regenerative Endodontics. **Journal of Endodontics**, v.37, n.11, p.1536-1541, 2011.

GOMES-FILHO, J. E. *et al.* Sealability of MTA and calcium hydroxidecontaining sealers. **Journal of Applied Oral Science**, v.20, n.3, p.347-351, 2012.

HARGREAVES KM, DIOGENES A, TEIXEIRA FB. Treatment options: biological basis of regenerative endodontic procedures. **Pediatric Dentistry**, v.35, n.2, p.129-140, 2013.

HARGREAVES, K. M. *et al.* Regeneration potential of the young permanent tooth: what does the future hold? **Journal of Endodontics**, v.34, n.7, p.S51-S56, 2008.

HOSHINO, E, *et al.* In-vitro antibacterial susceptibility of bacteria taken from infected root dentine to a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline. **International Endodontic Journal**, v.29, n.2, p.125-130, 1996.

HUANG, G. T. A paradigm shift in endodontic management of immature teeth: Conservation of stem cells for regeneration. **Journal of Dentistry**, v.36, n.6, p.379-386, 2008

HUANG, G. T. *et al.* The hidden treasure in apical papilla: the potential role in pulp/dentin regeneration and bioroot engineering. **Journal of Endodontics**, v.34, n.6, Jun, p.645-51, 2008.

IWAYA, S.I. IKAWA M, KUBOTA, M. Revascularization of an immature permanent tooth with apical periodontitis and sinus tract. **Dental Traumatology**, v.17, n.4, p.185-187, 2001.

JADHAV, G., N. SHAH, LOGANI, A. Revascularization with and without platelet-rich plasma in nonvital, immature, anterior teeth: a pilot clinical study. **Journal of Endodontics**, v.38, n.12, p.1581-1587, 2012.

JUNG, I. Y., S. J. LEE, HARGREAVES, K.M. Biologically based treatment of immature permanent teeth with pulpal necrosis: a case series. **Journal of Endodontics**, v.34, n.7, Jul, p.876-87, 2008.

KIM, D.S. *et al.* Long-term follow-ups of revascularized immature necrotic teeth: three case reports. **International Journal Oral Science**, v.4, n.2, p.109-113, 2012.

KLEIN, S. H.; LEVY, B. A. Histologic evaluation of induced apical closure of a human pulpless tooth. Report of a case. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology**, v.38, n.6, p.954-959, 1974.

KOTTOOR, J.; VELMURUGAN, N. Revascularization for a necrotic immature permanent lateral incisor: a case report and literature review. **International Journal of Pediatric Dentistry**, v.23, n.4, p.310-316, 2012.

LAW, A. S. Considerations for regeneration procedures. **Journal of Endodontics**, v.39, n.3, p.S44-S56, 2013.

LENZI, R.; TROPE, M. Revitalization procedures in two traumatized incisors with different biological outcomes. **Journal of Endodontics**, v.38, n.3, p.411-414, 2012.

LIAO, J. *et al.* Cells isolated from inflamed periapical tissue express mesenchymal stem cell markers and are highly osteogenic. **Journal of Endodontics**, v.37, n.9, p.1217-1224, 2011.

LOVELACE, T. W. *et al.* Evaluation of the delivery of mesenchymal stem cells into the root canal space of necrotic immature teeth after clinical regenerative endodontic procedure. **Journal of Endodontics**, v.37, n.2, p.133-138. 2011.

MARTIN, D. E. *et al.* Concentration-dependent Effect of Sodium Hypochlorite on Stem Cells of Apical Papilla Survival and Differentiation. **Journal of Endodontics**, v.40, n.1, p.51-55, 2014.

MARTIN, G. *et al.* Histological findings of revascularized/revitalized immature permanent molar with apical periodontitis using platelet-rich plasma. **Journal of Endodontics**, v.39, n.1, Jan, p.138-44,2013.

MOHAMMADI, Z. Strategies to manage permanent non-vital teeth with open apices: a clinical update. **International Dental Journal**, v.61, n.1, p.25-30, 2011.

MOORE A., HOWLEY M.F. O'Connell A.C. Treatment of open apex teeth using two types of white mineral trioxide aggregate after initial dressing with calcium hydroxide in children. **Dental Traumatology**, v.27, n.3, p.166-173, 2011.

MOOS H.L., BRAMWELL J.D, ROAHEN J.O. A comparison of pulpectomy alone versus pulpectomy with trephination for the relief of pain. **Journal of Endodontics**, v.22, n.8, p.422-425. 1996.

MURRAY, P. E., GARCIA-GODOY, F. HARGREAVES, K.M.. Regenerative Endodontics: A Review of Current Status and a Call for Action. **Journal of Endodontics**, v.33, n.4, p.377-390, 2007.



NAKASHIMA, M. ; AKAMINE, A. The application of tissue engineering to regeneration of pulp and dentin in endodontics. **Journal of Endodontics**, v.31, n.10, p.711-718, 2005.

NANCI, A. Ten Cate, Histologia oral: desenvolvimento, estrutura e função: Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.

NOSRAT, S. F. A. Pulp regeneration in previously infected root canal space. **Endodontics Topics**, v.28, p.24-37. 2013.

NOSRAT, A. *et al.* Drawbacks and Unfavorable Outcomes of Regenerative Endodontic Treatments of Necrotic Immature Teeth: A Literature Review and Report of a Case. **Journal of Endodontics**, v.38, n.10, p.1428-1434. 2012.

NOSRAT, A. *et al.* Is Pulp Regeneration Necessary for Root Maturation? **Journal of Endodontics**, v.39, n.10, p.1291-1295. 2013.

NOSRAT, A. *et al.* Regenerative endodontic treatment (revascularization) for necrotic immature permanent molars: a review and report of two cases with a new biomaterial. **Journal of Endodontics**, v.37, n.4, Apr, p.562-7. 2011.

NYGAARD-ÖSTBY, B.; HJORTDAL O. Hjortdal. Tissue formation in the root canal following pulp removal. **European Journal of Oral Sciences**, v.79, n.3, p.333-349. 1971.

NYGAARD-ÖSTBY, B. N. The Role of the Blood Clot in Endodontic Therapy an Experimental Histologic Study. **Acta Odontologica**, v.19, n.3-4, p.323-353. 1961.

PETRINO, J. A. *et al.* Challenges in Regenerative Endodontics: A Case Series. **Journal of Endodontics**, v.36, n.3, p.536-541. 2010.

RAFTER, M. Apexification: a review. **Dental Traumatology**, v.21, n.1, p.1-8. 2005.

- REYNOLDS, K. *et al.* Pulp revascularization of necrotic bilateral bicuspid using a modified novel technique to eliminate potential coronal discolouration: a case report. **International Endodontic Journal**, v.42, n.1, p.84-92. 2009.
- ROBERTS-CLARK, D. J.; SMITH, A. J.. Angiogenic growth factors in human dentine matrix. **Archives of Oral Biology**, v.45, n.11, p.1013-1016. 2000.
- RUCH, J. *et al.* Odontoblast differentiation. **The International journal of developmental biology**, v.39, n.1, p.51-68. 1995.
- RULE, D.; WINTER , G. Root growth and apical repair subsequent to pulpal necrosis in children. **Brazilian Dental Journal**, v.120, n.12, p.586. 1966.
- RUPAREL, N. B. *et al.* Direct effect of intracanal medicaments on survival of stem cells of the apical papilla. **Journal of Endodontics**, v.38, n.10, Oct, p.1372-5. 2012.
- SATO, I. *et al.* Sterilization of infected root-canal dentine by topical application of a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline in situ. **International Endodontic Journal**, v.29, n.2, p.118-124. 1996.
- SHABAHANG, S. Treatment Options: Apexogenesis and Apexification. **Journal of Endodontics**, v.39, n.3, p.S26-S29. 2013.
- SHABAHANG, S. *et al.* A comparative study of root-end induction using osteogenic protein-1, calcium hydroxide, and mineral trioxide aggregate in dogs. **Journal of Endodontics**, v.25, n.1, p.1-5. 1999.
- SHEEHY, E.; ROBERTS , G. Use of calcium hydroxide for apical barrier formation and healing in non-vital immature permanent teeth: a review. **Brazilian Dental Journal**, v.183, n.7, p.241-246. 1997.
- SHIMIZU, E. *et al.* Histologic observation of a human immature permanent tooth with irreversible pulpitis after revascularization/regeneration procedure. **Journal of Endodontics**, v.38, n.9, Sep, p.1293-7. 2012.

SHIMIZU, E. *et al.* Clinical, radiographic, and histological observation of a human immature permanent tooth with chronic apical abscess after revitalization treatment. **Journal of Endodontics**, v.39, n.8, Aug, p.1078-83. 2013.

SHIN, S. *et al.* One step pulp revascularization treatment of an immature permanent tooth with chronic apical abscess: a case report. **International Endodontics Journal**, v.42, n.12, p.1118-1126. 2009.

SIMON, S. *et al.* The use of mineral trioxide aggregate in one-visit apexification treatment: a prospective study. **International Endodontic Journal**, v.40, n.3, p.186-197. 2007.

SIMON, S. *et al.* The pulp healing process: from generation to regeneration. **Endodontic Topics**, v.26, n.1, p.41-56. 2013.

SIQUEIRA, J.; LOPES , H. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. **International Endodontic Journal**, v.32, n.5, p.361-369. 1999.

TERRANOVA, V. *et al.* Healing, regeneration, and repair: prospectus for new dental treatment. **Advances in Dental Research**, v.3, n.1, p.69-79. 1989.

THIBODEAU, B. Case report: pulp revascularization of a necrotic, infected, immature, permanent tooth. **Pediatric dentistry**, v.31, n.2, p.145-148. 2009.

THIBODEAU, B. *et al.* Pulp Revascularization of Immature Dog Teeth With Apical Periodontitis. **Journal of Endodontics**, v.33, n.6, p.680-689. 2007.

THIBODEAU, B.; TROPE , M. Pulp revascularization of a necrotic infected immature permanent tooth: case report and review of the literature. **Pediatric dentistry**, v.29, n.1, p.47-50. 2007.

TORABINEJAD, M.; CHIVIAN , N. Clinical applications of mineral trioxide aggregate. **Journal of Endodontics**, v.25, n.3, p.197-205. 1999.

TORABINEJAD, M.; FARAS , H. A Clinical and Histological Report of a Tooth with an Open Apex Treated with Regenerative Endodontics Using Platelet-rich Plasma. **Journal of Endodontics**, v.38, n.6, p.864-868. 2012.

Torneck, C. D.; Smith , J. Biologic effects of endodontic procedures on developing incisor teeth: I. Effect of partial and total pulp removal. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology**, v.30, n.2, p.258-266. 1970.

TREVINO, E. G. *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. **Journal of Endodontics**, v.37, n.8, Aug, p.1109-15. 2011.

TROPE, M. Treatment of the Immature Tooth with a Non–Vital Pulp and Apical Periodontitis. **Dental Clinics of North America**, v.54, n.2, p.313-324. 2010.

VIJAYARAGHAVAN, R. *et al.* Triple antibiotic paste in root canal therapy. **Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences**, v.4, n.Suppl 2, p.S230. 2012.

WANG, X. *et al.* Histologic characterization of regenerated tissues in canal space after the revitalization/revascularization procedure of immature dog teeth with apical periodontitis. **Journal of Endodontics**, v.36, n.1, p.56-63. 2010.

WEISLEDER, R.; BENITEZ, C. R. Maturogenesis: Is It a New Concept? **Journal of Endodontics**, v.29, n.11, p.776-778. 2003.

WIDERMAN, F. *et al.* The physical and biologic properties of Cavit. **The Journal of the American Dental Association**, v.82, n.2, p.378-382. 1971.

WIGLER, R. *et al.* Revascularization: A Treatment for Permanent Teeth with Necrotic Pulp and Incomplete Root Development. **Journal of Endodontics**, v.39, n.3, p.319-326. 2013.

WINDLEYIII, W. *et al.* Disinfection of immature teeth with a triple antibiotic paste. **Journal of Endodontics**, v.31, n.6, p.439-443. 2005.

XIA, Z.; TRIFFITT, J. T. A review on macrophage responses to biomaterials. **Biomedical Materials**, v.1, n.1, p.R1. 2006.

YASSEN, G. H. *et al.* Effect of Medicaments Used in Endodontic Regeneration Technique on the Chemical Structure of Human Immature Radicular Dentin: An In Vitro Study. **Journal of Endodontics**, v.39, n.2, p.269-273. 2013.

ZHANG, W.; YELICK, P. C. Vital pulp therapy—current progress of dental pulp regeneration and revascularization. **International Dental Journal**, v.2. 2010.