

REGENERAÇÃO TECIDUAL PULPAR COMO TRATAMENTO PARA DENTES JOVENS IMATUROS COM NECROSE PULPAR – REVISÃO DE LITERATURA

*PULP TISSUE REGENERATION AS A TREATMENT FOR IMMATURE YOUNG TEETH WITH PULP
NECROSIS - LITERATURE REVIEW*

Ralf Chen Zheng

Vinícius Inácio do Amaral Pereira

José Antônio Valle Fróe

Departamento de Odontologia da PUC Minas

RESUMO

A regeneração pulpar pode ser definida como a diferenciação de células progenitoras da porção apical de dentes jovens que resulta na deposição de tecido mineralizado nas paredes dentinárias. A endodontia regenerativa utiliza o conceito de engenharia de tecidos para restaurar os canais radiculares para um estado saudável, permitindo o desenvolvimento contínuo da raiz e tecidos circundantes. É uma alternativa terapêutica promissora que promove o fechamento apical e o desenvolvimento radicular e está indicada em dentes com formação incompleta de raízes, como alternativa à apacificação, um método para induzir uma barreira calcificada em uma raiz com ápice aberto ou desenvolvimento apical contínuo de uma raiz incompleta formada em dentes com polpas necróticas. No entanto, a presença de medicação por períodos prolongados pode levar a uma fragilidade das paredes radiculares. Devido a isso, há uma constante busca de novas alternativas de tratamento endodôntico que permita o desenvolvimento total da raiz. A regeneração emergiu como uma nova opção de tratamento para os dentes jovens imaturos com necrose pulpar. O objetivo deste estudo é revisar os protocolos na literatura para a regeneração da polpa, diferenciação celular e características do novo tecido formado.

Palavras-chave: Apacificação. Regeneração pulpar. Revascularização pulpar.

ABSTRACT

Pulp regeneration can be defined as the differentiation of progenitor cells from the apical portion of young teeth that results in the deposition of mineralized tissue on the dentin walls. Regenerative endodontics uses the concept of tissue engineering to restore root canals to a healthy state, allowing for continued development of the root and surrounding tissues. It is a promising therapeutic alternative that promotes apical closure and root development and is indicated in teeth with incomplete root formation, as an alternative to apexification, a method to induce a calcified barrier in a root with an open apex or continuous apical development of a root. incomplete formed in teeth with necrotic pulps. However, the presence of medication for prolonged periods can lead to fragility of the root walls. Because of this, there is a constant

search for new alternatives for endodontic treatment that allow full root development. Regeneration has emerged as a new treatment option for immature young teeth with pulp necrosis. The aim of this study is to review the protocols in the literature for pulp regeneration, cell differentiation and characteristics of the newly formed tissue.

Keywords: Apicification. Pulp regeneration. Pulp revascularization.

INTRODUÇÃO

A endodontia tem com um dos seus principais objetivos manter a dentição em um ambiente fisiologicamente funcional para manutenção da saúde oral e sistêmica do paciente¹.

O tratamento endodôntico de dentes permanentes com necrose pulpar e rizogênese incompleta é considerado um desafio na terapia endodôntica, pois a partir do momento em que o dente se apresenta com tecido pulpar necrosado, o desenvolvimento radicular é interrompido. Tradicionalmente esses dentes recebem um tratamento denominado de apicificação. Esse procedimento consiste em trocas sucessivas de pastas de hidróxido de cálcio, com o objetivo de induzir a formação de uma barreira mineralizada, a qual irá possibilitar uma posterior obturação do canal radicular. Porém, esse tipo de tratamento demanda várias sessões, tornando o tratamento longo².

Desse modo, a regeneração pulpar passa a ser uma alternativa para tratamento de dentes com necrose pulpar e rizogênese incompleta, estimulando a formação de um novo tecido no interior do canal radicular³.

No final dos anos 70 e início dos anos 80, estudos in vivo sobre cães avaliaram a capacidade do tecido pulpar isquêmico de revascularizar após ter sido reimplantado por avulsão. Eles observaram que alguns dentes desenvolveram revascularização de tecido pulpar e em outros, a reabsorção dentária foi iniciada

sem revascularização. Além disso, esses autores descobriram que um tempo extra alveolar poderia melhorar o prognóstico de sucesso em dentes avulsionados. Um ano depois, Kling et al. correlacionou alguns fatores no prognóstico de reimplantes de dentes, ou seja, frequência de revascularização pulpar de reimplantes de incisivos, diâmetro do forame apical, tempo extra alveolar, armazenamento médio e pós-operatório com prescrição de antimicrobianos. Foi demonstrado que dentes imaturos mantidos em condições extra alveolares favoráveis por menos de 45 minutos poderia proporcionar uma maior possibilidade de revascularização pulpar.

Essa promissora modalidade de tratamento reestabelece a vitalidade dos dentes, permitindo o reparo e regeneração dos tecidos periapicais, devido as seguintes razões biológicas: o ápice aberto permite a migração de células-tronco/progenitoras para o interior dos canais radiculares, células da papila apical encontradas na região dos ápices imaturos possuem maior regeneração tecidual⁴, estimulando o desenvolvimento radicular e o fechamento apical^{5,6}.

O término do desenvolvimento radicular e apical, de um dente permanente humano ocorrem três anos a erupção dental. Uma vez formada a coroa dental, durante a odontogênese, composta por esmalte (primeira das camadas mineralizada dos dentes) e dentina, os epitélios internos e externos, provenientes do germe dentário, unem-se formando duas camadas de parede epitelial,

originando a bainha epitelial de Hertwig, essa por sua vez, influencia na diferenciação dos odontoblastos, que são células que formaram a segunda camada mineralizada do dente denominada de dentina. Quando a primeira camada é estabelecida, a bainha epitelial de Hertwig começa a desintegrar-se e permanece no local restos celulares denominados de "restos epiteliais de Malassez" que poderão persistir mesmo após a erupção dental no ligamento periodontal. A bainha epitelial progride durante a odontogênese em direção apical, para formação radicular⁷.

Segundo CENTENARO, et., al em 2014 A paralisação da formação radicular pode ser resultante de um trauma dental, por exemplo, ou mesmo uma lesão cariosa, que venha a atingir esta estrutura (bainha epitelial de Hertwig e a polpa dental) que, como dito anteriormente, é responsável pelas induções celulares para formação de tecidos mineralizados que complementam a formação da raiz. E, esta situação poderá levar a necrose da polpa dental, cessando a formação radicular pela deposição de dentina, principal função desta. A formação da raiz é interrompida nesta situação e o canal radicular permanece amplo. O ápice radicular continua aberto com a raiz incompleta, sendo necessária a terapia endodôntica indutora-formadora para a tentativa de permanência do elemento dentário na cavidade oral. Considera-se um dente permanente com rizogênese incompleta, aquele cujo ápice radicular, histologicamente, não apresenta dentina apical revestida por cimento e radiograficamente, quando o extremo apical da raiz não atinge o estágio de Nolla (quando há a formação e fechamento do ápice radicular). O tratamento endodôntico em dentes com rizogênese incompleta (sem a completa formação do ápice radicular) torna-se difícil pelas suas

particularidades anatômicas, pois, este é amplo, e o forame apical tem um diâmetro exagerado^{8,9,10,11}.

O objetivo deste estudo foi realizar uma revisão da literatura acerca dos diferentes protocolos para o procedimento de regeneração pulpar e suas implicações clínicas para o tratamento de dentes portadores de necrose pulpar e ápices incompletos.

REVISÃO DE LITERATURA

A necrose pulpar em dentes permanentes jovens pode ser causada por vários fatores, como trauma, cáries ou anomalias dentárias. Suas principais consequências são quase sempre raízes dentárias curtas, paredes finas e canais radiculares largos em toda a sua extensão, tornando o tratamento endodôntico extremamente difícil. No entanto, a perda desses dentes pode levar a alterações no desenvolvimento da maxila e mandíbula, além de distúrbios na fala, respiração e mastigação. Além disso, também podem ocorrer consequências psicossociais devido a possíveis dificuldades de recuperação^{12,13}.

Durante décadas, dentes necróticos com ápices formados de forma incompleta foram tradicionalmente tratados por apicificação. Isso inclui o uso prolongado de drogas endodônticas (principalmente à base de hidróxido de cálcio) destinadas a estimular a formação de uma barreira de tecido mineralizado ao nível do forame apical. Devido à presença de paredes de dentina mais finas e consideráveis taxas de fratura radicular associadas a tais intervenções, outras alternativas foram propostas, como aplicação de agregado de trióxido mineral (MTA) nos últimos milímetros do canal

radicular para estimular o fechamento apical^{14,15}.

A indução da revascularização pulpar é baseada na interação de três elementos essenciais: células-tronco, scaffolds (andaimos) e fatores de crescimento. As células-tronco são células indiferenciadas que se dividem continuamente e são divididas em dois tipos principais: embrionárias e adultas ou pós-natais. O primeiro é capaz de se diferenciar em mais de 200 tipos de células. Em contraste, as células-tronco adultas só podem se dividir e produzir uma célula própria ou uma célula mais diferenciada¹⁶. Scaffolds ou andaimos fornecem suporte para revascularização com base na organização celular, proliferação e diferenciação¹⁶. Normalmente, a Endodontia Regenerativa induzida utiliza coágulos sanguíneos e/ou plasma rico em plaquetas ou fibrina para "este propósito". No entanto, existem outros tipos de scaffolds, como scaffolds bioplásticos feitos de ácidos naturais (colágeno, ácido hialurônico e quitosana) ou ácidos sintéticos (ácido polilático, ácido poliglicólico, fosfato tricálcico e hidroxiapatita). Nanofibras de hidrogel e géis de fibrina também têm sido usados^{17,18,19,20}.

Um dos maiores desafios enfrentados pelos dentistas é realizar o tratamento endodôntico em dentes permanentes com raízes incompletas. Mesmo considerando que os princípios básicos são os mesmos utilizados para tratar dentes com raízes totalmente formadas, a complexidade da intervenção é maior, principalmente devido ao formato do canal radicular, que apresenta paredes laterais finas e diverge para o ápice da região. Diante dessa situação clínica, até as

últimas décadas, as duas únicas abordagens terapêuticas eram a apicigênese e a apicificação (formação do ápice)^{21,22}. Apicigênese é um tratamento de polpa com vitalidade em um dente imaturo para permitir o crescimento radicular continuado. Pode se realizar a apicigênese por meio de tratamento endodôntico convencional, mas não em dentes necrosados, pois a formação fisiológica da raiz está associada à funcionalidade da polpa. A apicificação consiste no fechamento do forame apical em dentes necrosados²².

A Endodontia Regenerativa, ou revascularização ou regeneração tecidual pulpar é um conjunto de procedimentos com função de substituir células danificadas da dentina e da polpa, onde a polpa está necrosada, mas não degenerada. A coroa está hígida, o ápice permanece vital, onde há proliferação de células mesenquimais e a formação de anastomoses ocorrendo a revascularização deste tecido^{23,24}.

Vantagem da regeneração pulpar frente à apicificação está na possibilidade de se obter uma raiz completamente desenvolvida, aumentando espessura das paredes do canal. Vários estudos já demonstraram a efetividade da regeneração pulpar em dentes com raízes incompleta e, nos últimos anos, novas técnicas têm sido propostas visando à obtenção um maior sucesso dessa alternativa de tratamento¹⁸.

Como ocorre a revascularização pulpar

O mecanismo exato pelo qual ocorre a revascularização pulpar não foi totalmente esclarecido. No entanto, algumas teorias têm sido relatadas na

literatura. Algumas células pulpares podem permanecer vivas no terço apical do canal radicular^{18,25}. Eles podem proliferar e se diferenciar em odontoblastos sob a direção das células da bainha epitelial de Hertwig – resistentes à destruição mesmo na presença de inflamação. Odontoblastos recém-formados podem formar dentina no terço apical e na parede lateral da raiz, contribuindo para o aumento do comprimento e espessura da raiz, respectivamente²⁶. Outro mecanismo tem a ver com as células-tronco presentes no tecido pulpar. Estes podem "originar" na parede da dentina e se diferenciar em odontoblastos, depositando dentina terciária ou atubular ao longo do tempo²⁶.

Um terceiro mecanismo foi atribuído à presença de células-tronco no ligamento periodontal^{27,28}. Essas células podem proliferar e se desenvolver principalmente no terço apical e são responsáveis por depositar tecido mineralizado no ápice radicular e na parede lateral da dentina²⁶. Um quarto mecanismo associado a um possível desenvolvimento radicular tardio ocorre devido à ação de células-tronco da papila apical ou da medula óssea. O uso de instrumentos endodônticos fora do forame apical pode induzir hemorragia transplantando células-tronco mesenquimais do osso para o canal radicular²⁶.

Outro mecanismo possível tem a ver com o próprio coágulo sanguíneo, rico em fatores de crescimento que, quando ativados, podem estimular o crescimento dos fibroblastos, odontoblastos e cementoblastos das células mesenquimais imaturas e indiferenciadas na matriz tecidual recém-formada²⁶.

Achados histológicos e imuno-histoquímicos em dentes permanentes com raízes incompletas submetidos a um programa de revascularização pulpar identificaram a regeneração do tecido nervoso²⁹. Segundo os autores, isso pode ser devido a dois fatores: sobrevivência das células-tronco da polpa dentária, que têm o potencial de se diferenciar em células neuronais e induzir a orientação do axônio³⁰.

As células-tronco da papila apical sobreviveram e permaneceram positivas para vários marcadores neurais mesmo após a infecção^{31,32}.

Medicação intracanal

Durante os procedimentos clínicos necessários para a revascularização pulpar, preconiza-se o uso de medicações endodônticas para potencializar o processo de limpeza e desinfecção^{33,34}. No entanto, praticamente todas as substâncias estudadas até agora apresentam algum grau de citotoxicidade^{35,36} e, portanto, devem ser usadas em baixas concentrações e por curtos períodos. Isso evita a ocorrência de processos inflamatórios indesejados e riscos à sobrevivência e capacidade de diferenciação das células-tronco^{37,38,39,40}.

A medicação endodôntica mais comumente usada é a pasta antibiótica tripla recomendada por Hoshino et al., que é uma mistura de três partes iguais de ciprofloxacina, metronidazol e minociclina⁴¹. Durante o procedimento, antibióticos são adicionados à solução salina até obter uma substância de consistência pastosa. A proposta dessa pasta surgiu devido à natureza polimicrobiana da infecção pulpar, o que

impossibilita que apenas um antibiótico seja eficaz contra seu amplo espectro de bactérias⁴².

A pasta tripla antibiótica tem excelente atividade antibacteriana^{43,44}, no entanto, também tem efeitos colaterais adversos, onde a mudança de cor é um dos principais efeitos colaterais^{45,46}. Este risco pode ser reduzido usando adesivo dentinário na porção coronária antes de aplicar a pasta⁴⁷. O clareamento interno pode ser feito em dentes escurecidos pelo uso, desde que comprovado o término da formação das raízes^{48,49}. Como o escurecimento coronário está principalmente associado à minociclina.

No entanto, essas novas propostas também causam escurecimento dos dentes, com exceção de: DAP^{45,50}; combinação de ciprofloxacino, metronidazol e fosfomicina; e ciprofloxacino, metronidazol e claritromicina⁵¹.

Além das alterações de cor, outras preocupações associadas ao uso de pastas antibióticas como medicamentos endodônticos são a resistência bacteriana^{52,53} e a possibilidade de reações alérgicas. Esses riscos destacam a necessidade de um histórico médico e odontológico completo e abrangente do paciente antes do tratamento⁴⁷.

Por fim, devido à necessidade de preservação das células residuais, é importante que o antimicrobiano utilizado como medicação endodôntica também seja biocompatível⁵⁴. Enquanto alguns estudos observaram biocompatibilidade de pastas antibióticas triplas, outros demonstraram algum potencial citotóxico^{35,38}. Os antibióticos atuais

produzem citotoxicidade induzida em cultura de células (com exceção do metronidazol). Esta citotoxicidade aumenta com o aumento da concentração e é dependente do tempo⁵⁵.

Devido às limitações das pastas antibióticas na realização de procedimentos de regeneração endodôntica, alternativas têm sido propostas. Proeminente entre estes é o uso de hidróxido de cálcio^{56,57,58,59}. Além de ser um excelente antimicrobiano sem causar alterações de cor,⁵⁷ a facilidade de manuseio e disponibilidade de seus ingredientes aumenta suas chances de aplicação correta e simplifica seu uso na prática clínica. Outro benefício relacionado é que o hidróxido de cálcio pode liberar fatores de crescimento que podem estimular a diferenciação das células da polpa dentária em células semelhantes a odontoblastos, que por sua vez estimulam a produção de tecido mineralizado⁶⁰. Além disso, o hidróxido de cálcio foi mais favorável para a sobrevivência das células-tronco do que a pasta antibiótica, independentemente da concentração^{39,61}.

No entanto, esta substância também tem desvantagens. Devido ao pH elevado, o contato direto com o tecido pulpar pode levar à necrose, prejudicando a manutenção das células remanescentes viáveis e dos restos epiteliais de Mallassez⁶². Outra desvantagem é o aumento do risco de fratura radicular devido a alterações morfológicas e estruturais na matriz orgânica da dentina devido ao uso prolongado⁶³.

Obtenção de um scaffold ou andaime

Na segunda sessão, após a confirmação de que não havia sinais e sintomas clínicos, o medicamento no canal radicular é removido, em seguida é provocado um sangramento através do tecido perirradicular. Esse sangramento cria um coágulo de sangue estável que preenche todo o canal radicular e atua como um scaffold ou andaime de proteína^{54,64,65,66}.

O sangramento é obtido pela inserção de uma lima endodôntica manual estéril de calibre compatível com o diâmetro do forame apical, 2 a 3 mm além desse ponto. Através de pequenos movimentos rotacionais o sangramento é formado preenchendo todo o canal^{67,68}. O sangramento é então "localizado" entre 2 e 3 mm abaixo da junção do cimento usando uma bolinha de algodão estéril embebida em soro e em média de 15 minutos o coágulo é formado^{33,69}.

O PRF também tem sido sugerido como um andaime na cirurgia de

regeneração pulpar. Como o PRP, ele fornece uma riqueza de moléculas de sinalização endógena devido à liberação lenta e sustentada de fatores de crescimento^{70,71}. Casos clínicos publicados recentemente demonstram resultados satisfatórios com esse material^{72,73}. Keswani e Pandey (2013) relataram um caso de revascularização do incisivo central superior usando PRF como andaime. Após 15 meses, o dente respondeu positivamente aos testes de vitalidade pulpar. O exame radiográfico mostrou espessamento contínuo da parede lateral da dentina, desenvolvimento radicular longitudinal e fechamento apical da raiz⁷³.

Devido à falta de fortes evidências científicas sobre o uso de outros tipos de scaffolds na cirurgia de regeneração pulpar, a estimulação do tecido perirradicular deve ser o procedimento de escolha para a obtenção de um coágulo⁷⁴. Caso isso não ocorra, outro material é utilizado e/ou associado.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A regeneração pulpar é uma alternativa para tratamento de dentes com rizogênese incompleta com necrose pulpar. Ainda não há protocolo estabelecido e ideal para regeneração pulpar. Hipoclorito de Sódio é a solução mais utilizada.

O Hidróxido de Cálcio e a Pasta Triantibiótica são as mais recomendadas para a terapia de regeneração pulpar.

REFERÊNCIAS

1. LAW, A.S. Considerations for regeneration procedures. *J Endod*, 2012.
2. PETRINO, J.A.; BODA, K.K.; SHAMBARGER, S.; BOWLES, W.R.; MCCLANAHAN, S.B. Challenges in regenerative endodontics: a case series. *J Endod*, New York, 2010.
3. LOVELACE, T.W.; HENRY, M.A.; HARGREAVES, K.M.; DIOGENES, A. Evaluation of the delivery of mesenchymal stem cells into the root canal space of necrotic immature teeth

- after clinical regenerative endodontic procedure. **J Endod**, New York, 2011.
4. DING, R, Y, et al. Pulp revascularization of immature teeth with apical periodontitis: a clinical study. **JOE**, May. 2009.
 5. NAMOUR, M; THEIS, S. Pulp revascularization of immature permanent teeth: a review of the literature and a proposal of a new clinical protocol. **Scientific World Journal**, 2014.
 6. PARYANI, K; KIM, S.G. Regenerative endodontic treatment of permanent teeth after completion of root development: A Report of 2 Cases. **JOE**, jul/2013.
 7. GRÜDLING, L. S. G.; GRUENDLING, Á.; GRÜDLING, A. C.; SANTOS, B. R. Apexification of a fractured tooth – a case report. **RFO**, 2010.
 8. FERREIRA R, CUNHA SR, BUENO SED, DOTTO RS. Endodontic treatment in nonvital young permanent teeth with incomplete root formation – Apexification. **Revista da Faculdade de Odontologia**, Passo Fundo, 2002.
 9. RESENDE, B.G; ROCHA, C.J.M. Treatment of Non-Vital Immature Traumatized Tooth (41) – Case Report. **J Bras OdontopediatrOdontol Bebê**, 2003.
 10. FOUAD, F. A.; The Microbial Challenge to Pulp Regeneration. **Advances in Dental Research**, 2011.
 11. VALE, M. S.; SILVA, P. M. F. Endodontic conduct post trauma in teeth with incomplete root formation. **Rev. de Odontologia UNESP**, 2011.
 12. Diogenes A, Ruparel NB. Regenerative endodontic procedures: clinical outcomes. **Dent Clin North Am**. 2017.
 13. Heij DG, Opdebeeck H, van Steenberghe D et al. Facial development, continuous tooth eruption, and mesial drift as compromising factors for implant placement. **Int J Oral Maxillofac Implants**. 2006.
 14. Rilliard F, Simon S, Berdal A et al. The use of mineral trioxide aggregate in one-visit apexification treatment: a prospective study. **Int Endod J**. 2007.
 15. Machado R, Tomazinho LF, Magagnin R et al. Management of progressive apical root resorption 13 years after dental trauma and primary endodontic treatment. **Gen Dent**. 2016 Jul-Aug.
 16. Endodontic Colleagues for Excellence. **Regenerative Endodontics**. Spring 2013. Disponível em: www.aae.org/colleagues
 17. Bohl KS, Shon J, Rutherford B et al. Role of synthetic extracellular matrix in development of engineered dental pulp. **J Biomater Sci Polym Ed**. 1998.
 18. Banchs F, Trope M. Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: new treatment protocol? **J Endod**. 2004.
 19. Torabinejad M, Turman M. Revitalization of tooth with necrotic pulp and open apex by using platelet-rich plasma: a case report. **J Endod**. 2011.
 20. Galler KM, Hartgerink JD, Cavender AC et al. A customized self-assembling peptide hydrogel for dental pulp tissue engineering. **Tissue Eng Part A**. 2012.
 21. Witherspoon DE, Small JC, Regan JD et al. Retrospective analysis of open apex teeth obturated with mineral trioxide aggregate. **J Endod**. 2008.
 22. Lopes HP, Siqueira JFJ. Endodontia: biologia e técnica. Rio de Janeiro. **Elsevier**. 2015.
 23. Barrett AP, Reade PC. Revascularization of mouse tooth isografts and allografts using

- autoradiography and carbon-perfusion. **Arch Oral Biol.** 1981.
24. Skoglund A, Tronstad L. Pulpal changes in replanted and autotransplanted immature teeth of dogs. **J Endod.** 1981.
 25. Heithersay GS. Stimulation of root formation in incompletely developed pulpless teeth. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol.** 1970.
 26. Shah N, Logani A, Bhaskar U et al. Efficacy of revascularization to induce apexification/apexogenesis in infected, nonvital, immature teeth: a pilot clinical study. **J Endod.** 2008.
 27. Nevins A, Finkelstein F, Laporta R et al. Induction of hard tissue into pulpless open-apex teeth using collagen-calcium phosphate gel. **J Endod.** 1978.
 28. Lieberman J, Trowbridge H. Apical closure of nonvital permanent incisor teeth where no treatment was performed: case report. **J Endod.** 1983.
 29. Lei L, Chen Y, Zhou R et al. Histologic and immunohistochemical findings of a human immature permanent tooth with apical periodontitis after regenerative endodontic treatment. **J Endod.** 2015.
 30. Arthur A, Rychkov G, Shi S et al. Adult human dental pulp stem cells differentiate toward functionally active neurons under appropriate environmental cues. **Stem Cells.** 2008.
 31. Tobias Duarte PC, Gomes-Filho JE, Ervolino E et al. Histopathological condition of the remaining tissues after endodontic infection of rat immature teeth. **J Endod.** 2014.
 32. Sonoyama W, Liu Y, Yamaza T et al. Characterization of the apical papilla and its residing stem cells from human immature permanent teeth: a pilot study. **J Endod.** 2008.
 33. Galler KM, Krastl G, Simon S et al. European Society of Endodontology position statement: Revitalization procedures. **Int Endod J.** 2016.
 34. Schmoeckel J, Mourad MS, Splieth CH et al. Management of an immature, partially necrotic permanent molar by pulprevascularization: **Two-year follow-up. Quintessence Int.** 2017.
 35. Wang X, Thibodeau B, Trope M et al. Histologic characterization of regenerated tissues in canal space after the revitalization/revascularization procedure of immature dog teeth with apical periodontitis. **J Endod.** 2010.
 36. Althumairy RI, Teixeira FB, Diogenes A. Effect of dentin conditioning with intracanal medicaments on survival of stem cells of apical papilla. **J Endod.** 2014.
 37. Galler KM, Buchalla W, Hiller KA et al. Influence of root canal disinfectants on growth factor release from dentin. **J Endod.** 2015.
 38. Pereira MS, Rossi MA, Cardoso CR et al. Cellular and molecular tissue response to triple antibiotic intracanal dressing. **J Endod.** 2014.
 39. Ruparel NB, Teixeira FB, Ferraz CC et al. Direct effect of intracanal medicaments on survival of stem cells of the apical papilla. **J Endod.** 2012.
 40. Alghilan MA, Windsor LJ, Palasuk J et al. Attachment and proliferation of dental pulp stem cells on dentine treated with different regenerative endodontic protocols. **Int Endod J.** 2017.
 41. Hoshino E, Kurihara-Ando N, Sato I et al. In vitro antibacterial susceptibility of bacteria taken from infected root dentine to a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline. **Int Endod J.** 1996.
 42. Thibodeau B, Teixeira F, Yamauchi M et al. Pulp revascularization of immature

- dog teeth with apical periodontitis. **J Endod.** 2007.
43. Albuquerque MTP, Nagata J, Bottino MC. Antimicrobial efficacy of triple antibiotic-eluting polymer nanofibers against multispecies biofilm. **J Endod.** 2017.
 44. Windley W, Teixeira F, Levin L et al. Disinfection of immature teeth with a triple antibiotic paste. **J Endod.** 2005.
 45. Akcay M, Arslan H, Yasa B et al. Spectrophotometric analysis of crown discoloration induced by various antibiotic pastes used in revascularization. **J Endod.** 2014.
 46. Santos LG, Felipe WT, Souza BD et al. Crown discoloration promoted by materials used in regenerative endodontic procedures and effect of dental bleaching: spectrophotometric analysis. **J Appl Oral Sci.** 2017.
 47. Reynolds K, Johnson JD, Cohenca N. Pulp revascularization of necrotic bilateral bicuspid using a modified novel technique to eliminate potential coronal discoloration: a case report. **Int Endod J.** 2009.
 48. Miller EK, Lee JY, Tawil PZ et al. Emerging therapies for the management of traumatized immature permanent incisors. **Pediatr Dent.** 2012.
 49. Kirchhoff AL, Raldi DP, Salles AC et al. Tooth discoloration and internal bleaching after the use of triple antibiotic paste. **Int Endod J.** 2015.
 50. Kahler B, Rossi-Fedele G. A review of tooth discoloration after regenerative endodontic therapy. **J Endod.** 2016.
 51. Mandras N, Roana J, Allizond V et al. Antibacterial efficacy and drug-induced tooth discoloration of antibiotic combinations for endodontic regenerative procedures. **Int J Immunopathol Pharmacol.** 2013.
 52. Huang GT, Sonoyama W, Liu Y et al. The hidden treasure in apical papilla: the potential role in pulp/dentin regeneration and bioroot engineering. **J Endod.** 2008.
 53. Sedgley CM, Lee EH, Martin MJ et al. Antibiotic resistance gene transfer between *Streptococcus gordonii* and *Enterococcus faecalis* in root canals of teeth ex vivo. **J Endod.** 2008.
 54. Wigler R, Kaufman AY, Lin S et al. Revascularization: a treatment for permanent teeth with necrotic pulp and incomplete root development. **J Endod.** 2013.
 55. Chuensombat S, Khemaleelakul S, Chattipakorn S et al. Cytotoxic effects and antibacterial efficacy of a 3-antibiotic combination: an in vitro study. **J Endod.** 2013.
 56. Chueh LH, Huang GT. Immature teeth with periradicular periodontitis or abscess undergoing apexogenesis: a paradigm shift. **J Endod.** 2006.
 57. Nagata JY, Gomes BP, Rocha Lima TF et al. Traumatized immature teeth treated with 2 protocols of pulp revascularization. **J Endod.** 2014.
 58. Soares AJ, Lima TFR, Nagata JY et al. Intracanal dressing paste composed by calcium hydroxide, chlorhexidine and zinc oxide for the treatment of immature and mature traumatized teeth. **Braz J Oral Sci.** 2014.
 59. Iwaya SI, Ikawa M, Kubota M. Revascularization of an immature permanent tooth with apical periodontitis and sinus tract. **Dent Traumatol.** 2001.
 60. Aksel H, Serper A. Recent considerations in regenerative endodontic treatment approaches. **J Dent Sci.** 2014.
 61. Yadlapati M, Souza LC, Dorn S et al. Deleterious effect of triple antibiotic

- paste on human periodontal ligament fibroblasts. **Int Endod J.** 2014.
62. Banchs F, Trope M. Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: new treatment protocol? **J Endod.** 2004.
63. Andreasen JO, Andreasen FM. Texto e atlas colorido de traumatismo dental. **3 ed.** São Paulo: Artmed, 2001.
64. Ostby BN. The role of the blood clot in endodontic therapy. An experimental histologic study. **Acta Odontol Scand.** 1961.
65. Hargreaves KM, Diogenes A, Teixeira FB. Treatment options: biological basis of regenerative endodontic procedures. **J Endod.** 2013.
66. Wang X, Thibodeau B, Trope M et al. Histologic characterization of regenerated tissues in canal space after the revitalization/ revascularization procedure of immature dog teeth with apical periodontitis. **J Endod.** 2010.
67. Soares AJ, Prado M, Brazão MA et al. The biocompatibility of a new endodontic paste used in dental trauma. **Rev Odontol UNESP.** 2015.
68. Zaia AA, Soares AJ, Ferraz CCR et al. Tratamento de dentes com rizogênese incompleta: revitalização ou apicificação. In: Endodontia passo a passo: Evidências clínicas. **1 ed.** São Paulo: Artes Médicas, 2015.
69. Banchs F, Trope M. Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: new treatment protocol? **J Endod.** 2004.
70. Schmalz G, Widbiller M, Galler KM. Signaling molecules and pulp regeneration. **J Endod.** 2017.
71. He L, Lin Y, Hu X et al. A comparative study of platelet-rich fibrin (PRF) and platelet-rich plasma (PRP) on the effect of proliferation and differentiation of rat osteoblasts in vitro. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 2009.
72. Nagaveni NB, Pathak S, Poornima P et al. Revascularization induced maturogenesis of non-vital immature permanent tooth using platelet-rich-fibrin: a case report. **J Clin Pediatr Dent.** 2016.
73. Bakhtiar H, Esmaeili S, Fakhr Tabatabayi S et al. Second-generation platelet concentrate (platelet-rich fibrin) as a scaffold in regenerative endodontics: a case series. **J Endod.** 2017.
74. Shivashankar VY, Johns DA, Maroli RK et al. Comparison of the effect of PRP, PRF and induced bleeding in the revascularization of teeth with necrotic pulp and open apex: a triple blind randomized clinical trial. **J Clin Diagn Res.** 2017.