



PRINCIPIOS DE BIOLOGÍA E INGENIERÍA TISULAR EN ENDODONCIA

Autora: Dra. Valentina Cal

Tutora: Prof. Adj. Dra. Sylvia Martinelli

**CARRERA DE ESPECIALIZACIÓN EN ENDODONCIA
ESCUELA DE GRADUADOS- FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

URUGUAY, AÑO 2025

Sumario:

Glosario:	3
Resumen:	4
1. Introducción:	5
2. Objetivos:	6
2.1. Objetivo general:	6
2.2. Objetivos específicos:	6
3. Método:	6
4. Antecedentes:.....	7
5. Desarrollo:	8
5.1. Técnicas regenerativas	10
5.2. Regeneración del complejo dentino-pulpar.....	12
5.2.1. Componentes que participan en la técnica regenerativa.....	13
5.2.1.1. Células madre:	13
5.2.1.2. Señales moleculares:.....	14
5.2.1.3. Andamios biológicos:	15
5.3. Etiología de la necrosis	17
5.4. Evaluación histológica de los REP	18
5.5. Selección de casos:	21
5.6. Procedimiento clínico	23
5.6.1. Historia clínica	23
5.6.2. Consentimiento informado	23
5.6.3. Acceso, saneado del conducto y longitud de trabajo	24
5.6.4. Limpieza y conformación	24
5.6.5. Desinfección química.....	25
5.6.5.1. Irrigantes	25
5.6.5.2. Medicación intraconducto	28
5.6.6. Formación del andamio biológico	31
5.6.7. Materiales de obturación cervical.....	34
5.6.8. Controles de la técnica regenerativa:.....	39
5.6.9. Resultados de la endodoncia regenerativa	40
5.7. Complicaciones en los REP	41
5.8. Causas del fracaso.....	43
5.9. Revisión sistemática de fracasos de REP	44

5.10. REP en el diente permanente maduro.....	45
5.11. Otras indicaciones de REP.....	46
6. Discusión.....	47
7. Conclusiones.....	49
8. Referencias.....	51
9. Agradecimientos.....	60

Glosario:

2CaO.SiO ₂	Silicato dicálcico
3CaO.SiO ₂	Silicato tricálcico
AAE	Asociación Americana de Endodoncia
Ca(OH) ₂	Hidróxido de Calcio
CaCO ₂	Carbonato de calcio
CBCT	Tomografía computada de Cone Beam
CIV	Cemento Ionómero de Vidrio
CRCT	Tratamiento de endodoncia convencional
DPSC	Células madre de la pulpa dental
EDTA	Ácido etildiaminotetraacético
ESE	Sociedad Europea de Endodoncia
FGF	Crecimiento fibroblástico
FGF2	Factor de crecimiento fibroblástico 2
FRP	Fibrina rica en plaquetas
GF-β1	Factor de crecimiento β1
GMTA	Mineral trióxido agregado gris
HOCl	Ácido hipocloroso
L-PRF	Fibrina rica en plaquetas leucocitaria
MCI	Masa celular interna
MDPSC	Células madre de la pulpa dental movilizadas
MTA	Agregado Trióxido Mineral
NaOCl	Hipoclorito de sodio
NaOH	Hidróxido de sodio
PDGF	Factor de crecimiento derivado de plaquetas
SHED	Células madre de dientes temporarios
PRF	Plasma rico en fibrina
PRP	Plasma rico en plaquetas
RAIC	Calcificación intracanal asociada a la revascularización
REP	Procedimientos endodónticos regenerativos
SCAP	Células madre de la papila apical
TGF	Transformante beta
WMTA	Mineral trióxido agregado blanco
ZrO ₂	Óxido de zirconio

Resumen:

Las piezas permanentes inmaduras que han sufrido necrosis por caries o traumatismos, representan un desafío para la realización de tratamientos endodónticos exitosos. Esto se debe a que son piezas con una relación corono-radicular pobre, paredes dentinarias delgadas y ápice abierto, generando un alto riesgo a fractura. Actualmente, el tratamiento de elección para estos casos es la revitalización, que surge como alternativa al tratamiento tradicional aplicado que era la apexificación. Ésta solo genera el cierre apical y no la apexogénesis o desarrollo radicular, obteniendo un diente con espesores dentinarios delgados, y por tanto gran riesgo a fracturas.

El tratamiento de revitalización forma parte de la endodoncia regenerativa. Estimula la apexogénesis interrumpida, promoviendo el desarrollo radicular en longitud y en ancho, así como el cierre apical. A su vez, otro de sus objetivos es lograr la regeneración del tejido pulpar dentro del conducto.

El presente trabajo es una revisión de la literatura científica de la endodoncia regenerativa, específicamente del tratamiento de revitalización, describiendo avances, materiales y aplicaciones en esta técnica.

Es de gran importancia para la odontología actual incorporar este tipo de técnicas como alternativa en dientes inmaduros con necrosis por caries o traumatismos. Los materiales utilizados han ido mejorando, facilitando y reduciendo el tiempo del procedimiento. La gran evidencia científica que avala el tema, genera un mayor fundamento y seguridad para los profesionales en la práctica odontológica.

Palabras clave: Biomaterials; cell homing technique; growth factors; pulp tissues; regenerative endodontic; scaffolds; stem cells.

1. Introducción:

Las piezas dentarias erupcionan con la corona totalmente formada pero antes de que finalice el desarrollo radicular. Las raíces de dientes recientemente erupcionados tardan de 3 a 5 años en terminar de alcanzar su longitud y grosor. Cuando una pieza dentaria no completó este desarrollo, el diente se denomina diente permanente joven. No todos los dientes permanentes jóvenes pueden desarrollar raíces con estructuras anatómicas normales. Cuando durante su desarrollo ocurren enfermedades de alta prevalencia, tal como caries dental o traumatismos dentoalveolares, pueden provocar infección pulpar y periapical, lo que lleva a la detención prematura del desarrollo radicular o apexogénesis (1).

Los tratamientos endodónticos en piezas vitales con ápices inmaduros tienen la finalidad de mantener la vitalidad del complejo dentino-pulpar para permitir la apexogénesis natural. Cuando ocurre una necrosis pulpar, el sistema de conductos radiculares es invadido por bacterias que penetran en los túbulos dentinarios, canales laterales y/o accesorios. Si no se trata, la enfermedad pulpar eventualmente provoca enfermedad periapical debido al avance y penetración microbiana, afectando el ligamento periodontal con la posterior reabsorción del cemento y hueso alveolar (2).

En piezas permanentes con ápice inmaduro que sufrieron necrosis por caries o traumatismos, se realizan diferentes procedimientos para lograr el cierre apical. En los años 60 el tratamiento tradicional se basaba en la apexificación con hidróxido de calcio, esta presentaba desventajas tal como debilitamiento dentinario y era un tratamiento muy prolongado en el tiempo (3,4). Posteriormente, en la década de los años 90 y con el surgimiento de los materiales biocerámicos, se comienza a utilizar MTA para la apexificación. A pesar de esto, con ninguno de los materiales logra el desarrollo radicular interrumpido, menos aún la reparación del tejido afectado dentro del conducto, obteniendo un diente frágil, con una relación corono-radicular pobre y alto riesgo a fractura (2,5).

En 2001 Iwaya y col. dan surgimiento a una nueva técnica llamada revascularización, restablecimiento de la vascularización del órgano dental. Esta técnica permite el engrosamiento de las paredes dentinarias, y continuación de la edificación radicular interrumpida en dientes permanentes inmaduros con necrosis. Posteriormente, dicha técnica pasa a llamarse Revitalización, crecimiento nuevo de tejido dentro del conducto, donde se encuentran vasos sanguíneos, tejidos duros y blandos (4,6,7).

2. Objetivos:

2.1. Objetivo general:

- Realizar una revisión de la literatura sobre endodoncia regenerativa

2.2. Objetivos específicos:

- Analizar los procedimientos regenerativos como opción terapéutica en dientes permanentes inmaduros y maduros con necrosis.
- Describir los protocolos, avances y aplicaciones de las técnicas regenerativas actuales y en desarrollo.
- Justificar el uso de los diferentes materiales.

3. Método:

La revisión realizada es de tipo descriptiva según Squires y narrativa según la clasificación de la Práctica Basada en la Evidencia (PBE)(8).

Se utilizaron artículos y libros en idioma inglés, español y portugués.

Se realizó una exhaustiva búsqueda bibliográfica en las bases de datos electrónicas PubMed, Web of Science, Scielo, Lilacs y Science Direct electronic databases.

Los términos específicos del Medical Subject Heading fueron utilizados en combinación con los operadores Booleanos "O" y "AND" para crear la estrategia de búsqueda: "regenerativo" O "revascularización" O "revitalización" Y "cell homing" Y "endodoncia".

Palabras clave: Biomaterials; cell homing technique; growth factors; pulp tissues; regenerative endodontic; scaffolds; stem cells.

Se utilizó la correspondencia de las palabras clave en idioma español.

La búsqueda fue restringida a los últimos 10 años, con excepción de algunos artículos importantes que se mencionan. Se utilizaron tanto fuentes impresas como electrónicas.

Se seleccionaron 129 artículos relacionados con el tema, completándose la búsqueda con la lectura referenciada en esos artículos.

4. Antecedentes:

Los primeros intentos de regenerar el tejido pulpar fueron realizados por Nygaard Ostby y Hjortdal en 1971 (9,10). Su estudio se basó en la utilización de 35 piezas vitales y 12 necróticas. Los conductos radiculares fueron sobreinstrumentados intencionalmente para provocar sangrado, seguido de la obturación parcial del conducto radicular con gutapercha cercano al ápice de la raíz. En algunas piezas, durante la extirpación y desbridamiento se utilizó peróxido de hidrogeno al 30% para detener el sangrado de los tejidos periapicales, así como formaldehido al 4% como medicación en casos de necrosis. Luego de finalizado el tratamiento, se realizaron controles a 3 años y posteriormente se llevó a cabo las extracciones de las piezas (11). El examen histológico demostró 7 dientes vitales con reparación completa, 28 dientes donde se formó tejido conectivo fibroso muy vascularizado y cemento, entre los cuales, en algunos se observó que fragmentos de dentina fueron incluidos en el nuevo tejido y rodeados por zonas de luz indicando la nueva deposición de tejido duro. Histológicamente no hubo reparación en los dientes con pulpa necrótica. En este trabajo, los autores concluyeron que los microorganismos generaban una complicación para la nueva formación de tejido dentro del conducto. El pasaje de restos necróticos más allá del ápice (al provocar el sangrado) causó la contaminación de los tejidos perirradiculares, así como el daño de la membrana periodontal y hueso alveolar (10).

En 1966 Rule y Winter introdujeron los poliantibióticos en endodoncia para lograr una correcta desinfección en piezas que presentaban necrosis. Estos consistieron en una mezcla de sulfato de neomicina, polimixina B sulfato, bacitracina y nistatina, asociado con yodoformo. En ese año, publicaron el primer informe clínico donde la utilización de esta pasta poliantibiótica seguida de la estimulación de los tejidos periapicales (para provocar el sangrado que penetrará dentro del conducto), causó un engrosamiento y desarrollo continuo de la raíz, así como la eliminación de signos/síntomas clínicos (12).

Durante décadas el tratamiento de primera elección para las piezas dentarias con necrosis pulpar e interrupción del desarrollo radicular normal, era la apexificación con Hidróxido de Calcio (Ca(OH)_2). La misma se basaba en estimular, a través de esta medicación, la formación de una barrera biológica que permitiera el cierre apical. La gran desventaja de esta técnica es que la utilización de Ca(OH)_2 por largos periodos de tiempo, produce debilitamiento dentinario (3,13) y a su vez, la raíz no termina su

formación en largo y espesor por lo que aumenta el riesgo de fractura radicular. Posteriormente en la década de los años 90, se incorporó la utilización de Agregado Trióxido Mineral (MTA). El empleo del MTA, mostraba dificultades como su manipulación y pigmentación coronaria. A pesar de lo mencionado anteriormente, ofrece ventajas frente a la apexificación con Ca(OH)_2 , como son, el menor número de sesiones clínicas y evita el debilitamiento dentinario generado por el Ca(OH)_2 (4). Diferentes estudios muestran que el porcentaje de éxito de la apexificación con ambos materiales, MTA y Ca(OH)_2 es similar (14). Debido a las desventajas anteriormente mencionadas surge la endodoncia regenerativa que estimula el desarrollo radicular normal (7,15).

La ingeniería tisular aparece como una nueva disciplina en relación a los avances de las últimas décadas en regeneración de tejidos. En 1993 Langer y Vacanti definen a la ingeniería tisular como “Un campo interdisciplinario, donde se aplican los principios de ingeniería y las ciencias de la salud para el desarrollo de sustitutos biológicos que restauren, mantengan o mejoren la función tisular”. A partir de estos conceptos, se pueden aplicar los principios de la Medicina Regenerativa a la ingeniería tisular endodóntica. Esta se basa en la manipulación y desarrollo de moléculas, células, tejidos y órganos con el fin de regenerar o reemplazar las funciones de diferentes partes del cuerpo que fueron lesionados o presentan algún tipo de defecto (16,17).

Los procedimientos de endodoncia regenerativos (REP) han surgido como alternativas clínicas para el tratamiento de dientes inmaduros con necrosis pulpar. A partir de estudios de traumatismos se demostró que dientes avulsionados y reimplantados podrían recuperar espontáneamente la vitalidad y demostrar un desarrollo radicular continuo. En estas piezas, al no estar infectadas pueden potencialmente recuperar vitalidad tras un proceso de revascularización de la pulpa dental. Es importante destacar que la capacidad de revascularización pulpar depende directamente de la etapa de desarrollo de la raíz y/o del diámetro del foramen apical. Aunque, se debe considerar que no siempre ocurre y se observa una mayor curación en casos de más de 1,5 mm de diámetro foraminal (18).

5. Desarrollo:

Las patologías pulpares y perirradiculares pueden ocurrir como consecuencia de lesiones cariosas o traumatismos. El tratamiento de endodoncia convencional (CRCT) es la opción terapéutica más utilizada para enfermedades endodónticas en dientes

permanentes maduros. Cuando estas patologías ocurren en dientes vitales con ápices inmaduros, los tratamientos tienen por finalidad preservar la vitalidad del complejo dentino-pulpar, permitiendo el desarrollo y maduración normal de la raíz (2).

En caso de necrosis pulpar por daños severos en el complejo dentino-pulpar, el sistema de conductos radiculares inmediatamente es invadido por bacterias que penetran en los túbulos dentinarios, en los canales laterales y/o accesorios, y forman una biopelícula bacteriana firmemente adherida. El número y diámetro de los túbulos dentinarios es mayor en dientes jóvenes que en adultos, permitiendo mayor contaminación microbiana. Si no se trata, la enfermedad pulpar se extenderá más allá del ápice del diente, provocando enfermedad periapical. Inicialmente, solo el ligamento periodontal estará involucrado, esto continuará con la posterior reabsorción de cemento y hueso alveolar (2).

En piezas permanentes necróticas con ápices abiertos, se aplican diferentes procedimientos para lograr el cierre apical. Como se mencionó anteriormente, el tratamiento tradicional era la apexificación con $\text{Ca}(\text{OH})_2$ o MTA. Con esta técnica no se logra el desarrollo de la raíz, menos aún la reparación del tejido afectado dentro del conducto (19), obteniendo un diente frágil, con una proporción corono-radicular pobre y alto riesgo a la fractura, comprometiendo a largo plazo el pronóstico del diente (20).

En el año 2001, surge una nueva técnica desarrollada por Iwaya y Col. llamada revascularización, restablecimiento de la vascularización del órgano dental, que permite la edificación radicular en dientes permanentes inmaduros con necrosis pulpar (6). Posteriormente, se le llamó Revitalización, crecimiento nuevo de tejido dentro del conducto, donde se encuentran vasos sanguíneos, tejidos duros y blandos (19).

La Endodoncia Regenerativa, según la Asociación Americana de Endodoncia (AAE), se fundamenta en la ingeniería de tejidos que integra los principios de biología e ingeniería tisular (21). En la década de los 90, Langer y Vacanti la definieron como “Un campo interdisciplinario que aplica los principios de ingeniería y ciencias de la vida, hacia el desarrollo de sustitutos biológicos para restaurar, mantener o mejorar la función del tejido” (22). Actualmente, Murray la describe como “El empleo de estrategias terapéuticas biológicas destinadas a la sustitución, reparación, mantenimiento y/o mejora de la función del tejido”. Es por esto, que la AAE denomina la Endodoncia

Regenerativa como los "procedimientos biológicos diseñados para reemplazar fisiológicamente las estructuras dentales dañadas, incluidas las estructuras de la dentina y la raíz, así como las células del complejo dentino-pulpar" (21).

Aunque los procedimientos anteriormente mencionados históricamente se han denominado revascularización, revitalización o endodoncia regenerativa, nos referimos a ellos como REP. Diógenes y Col. en 2013 indican que este último término es más inclusivo ya que abarca todos los procedimientos que tienen como objetivo lograr una reparación organizada de la pulpa dental, sin excluir nuevas modalidades terapéuticas emergentes que pueden aparecer a medida que evoluciona el campo de la endodoncia regenerativa (23).

Los REP buscan reemplazar el tejido pulpar perdido o dañado, reestableciendo la vitalidad y permitiendo la maduración radicular. El nuevo tejido formado dentro del conducto difiere al tejido pulpar original, no presenta odontoblastos ni sus prolongaciones dentro de los túbulos dentinarios (24). Sin embargo, se caracteriza por estar formado por tejidos duros y blandos, tales como tejido conjuntivo fibroso, cementoide y osteoide (25).

La medicina regenerativa e ingeniería en tejidos se ha expandido rápidamente en las últimas décadas. A pesar de esto, los tejidos orales y craneofaciales presentan limitaciones para regenerarse espontáneamente y recuperar su estado original luego de haber sufrido daños graves, tal como traumatismos, patologías maxilofaciales o caries dental (26).

Los avances logrados en la regeneración e ingeniería tisular se deben a sus 3 componentes clave: células madre, moléculas bioactivas o señales moleculares y andamios biológicos. La acción conjunta de dichos componentes aumenta el potencial reparador de las células del tejido, fomenta la migración de células madre al lugar de la lesión y promueve la reparación general y/o regeneración (26).

5.1. Técnicas regenerativas

Hoy en día con el surgimiento de la endodoncia regenerativa, se conocen diferentes estrategias para el tratamiento de un diente necrótico. El CRCT consiste en llenar el conducto radicular con un material inerte a base de gutapercha, logrando la permanencia del diente en la cavidad oral pero con incapacidad de defensa (27). Dentro de la

endodoncia regenerativa se han desarrollado múltiples enfoques y estrategias de intervención, donde se encuentran revitalización, “regeneración libre de células” y “regeneración basados en células” (Fig. 1).

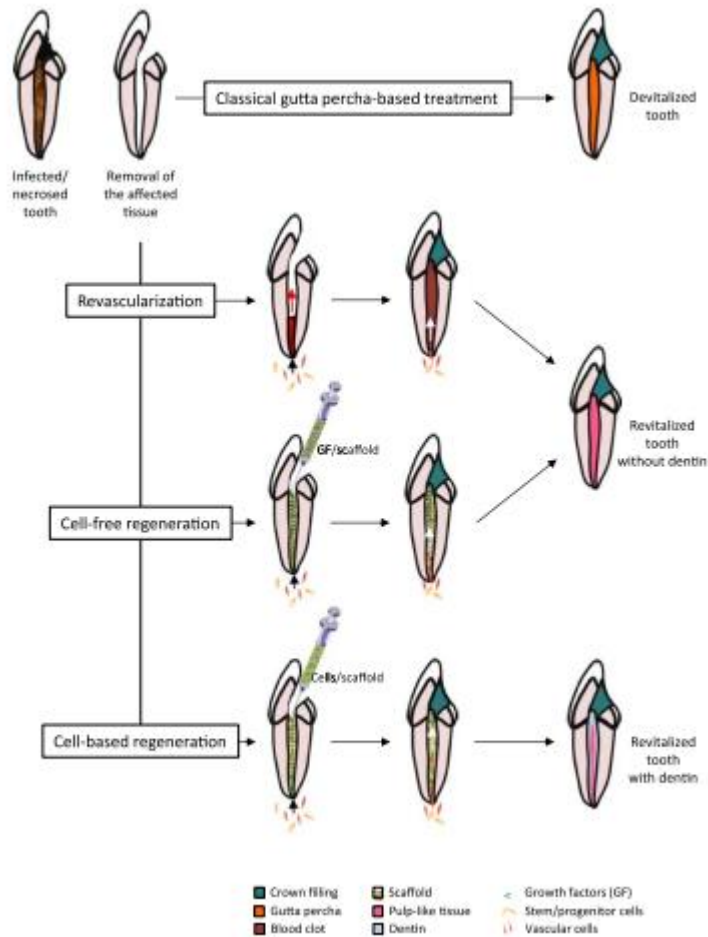


Fig. 1: Estrategias para el tratamiento de un diente infectado/necrosado, imagen obtenida de Ducret y col. (27)-

El primero consiste en provocar un sangrado en el conducto radicular, para que a partir de células madre de la zona periapical se dé la formación de un nuevo tejido. La “regeneración libre de células” presenta como objetivo reclutar o atraer células madre residentes e integrarlas en un andamio biológico a través de moléculas bioactivas. Esto se conoce como “homing” celular (26), de esta forma al inducir la acumulación de células madre mesenquimatosas endógenas en el sitio de la lesión, evita problemas técnicos y éticos que el trasplante de células necesita resolver(1). Por último, la “regeneración basada en células” consiste en inyectar en el conducto un andamio en conjunto con células madre, siendo estas responsables de la angiogénesis. A diferencia de los procedimientos antes mencionados, éste enfoque implica la recolección y cultivo de

células madre autólogas o alogénicas, es decir, provenientes del organismo del paciente para posteriormente ser administradas en el tejido afectado con el fin de promover la regeneración (26).

5.2. Regeneración del complejo dentino-pulpar

En endodoncia, la aplicación de ingeniería tisular y técnicas regenerativas se realiza con el objetivo de recuperar la función pulpar normal afectada y/o perdida. Inicialmente a este tratamiento se le llamó revascularización, luego pasa a llamarse revitalización, ya que el nuevo tejido formado dentro del conducto implica vasos sanguíneos, tejidos duros y blandos (26).

La revitalización permite en dientes permanentes inmaduros con necrosis y periodontitis apical o absceso apical el desarrollo radicular interrumpido. Este procedimiento implica la desinfección química del conducto utilizando irrigantes y medicación entre sesiones, seguido de la inducción de una hemorragia proveniente de los tejidos perirradiculares para generar un nicho regenerativo. El coágulo sanguíneo formado actúa como andamio, promoviendo la migración de células madre, fibroblastos y macrófagos hacia el interior del conducto, mientras que los depósitos de tejido duro refuerzan las paredes dentinarias. Sin embargo, no hablamos de regeneración ya que la falta de odontoblastos como células postmitóticas altamente diferenciadas que no sufren renovación continua, genera la imposibilidad de denominar a este nuevo tejido, pulpa dental (26).

Hoy en día no hay un único protocolo clínico recomendado para el tratamiento de revitalización. Con el pasar de los años autores han establecido diferentes protocolos. Banchs y Trope 2004, realizan un caso de revascularización estableciendo su propio protocolo, el cual se basaba en la desinfección del conducto y creación de un coágulo de sangre como matriz para el crecimiento del nuevo tejido dentro del conducto (9). La desinfección se basó en la irrigación del conducto con NaOCl al 5,25% y clorhexidina al 0,12%, y la utilización de una pasta triantibiótica como medicación entre sesiones. A los 24 meses de este tratamiento la raíz aumentó el ancho y el largo, logrando el éxito (Fig. 2-5) (7). Actualmente los protocolos más utilizados son los de las principales organizaciones mundiales de endodoncia, la AAE y la Sociedad Europea de Endodoncia (ESE)(28,29).

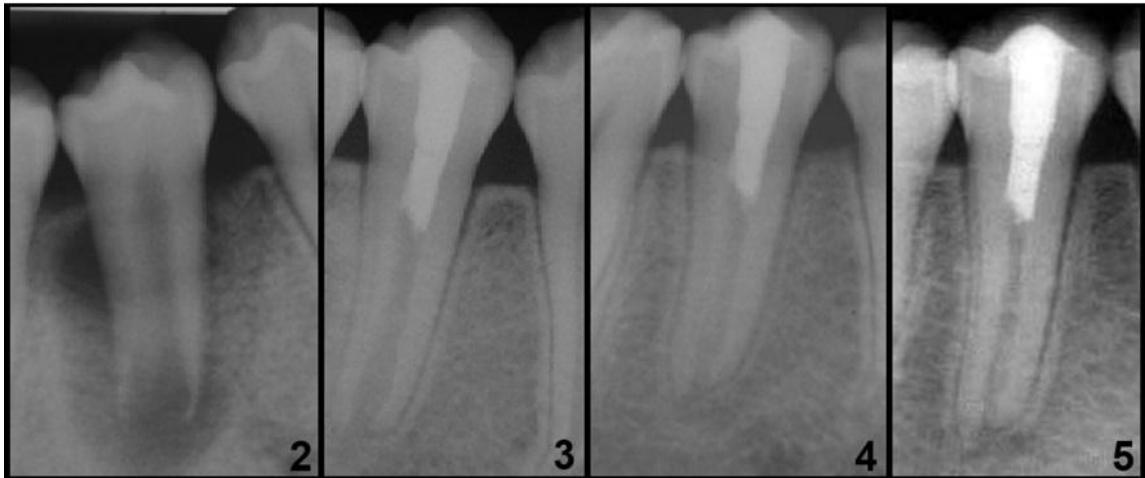


Fig. 2: Radiografía inicial del caso clínico Banchs y Trope 2004.

Fig. 3: Radiografía de control a los 6 meses. Se observa resolución de la radiolucidez apical.

Fig. 4: Radiografía de control a los 18 meses, se observa aumento de la longitud y grosor de las paredes radiculares

Fig. 5: Radiografía de control a los 24 meses, se observa desarrollo radicular completo y cierre apical. Imágenes obtenidas del reporte del clínico publicado por Banchs&Trope en 2004 (7).

5.2.1. Componentes que participan en la técnica regenerativa

5.2.1.1. Células madre:

Son células indiferenciadas, donde las características que las definen son la autorrenovación y un potencial de multidiferenciación, es decir la capacidad de diferenciarse en distintos tipos celulares. Se han identificado múltiples poblaciones de células madre adultas con potencialidad para ser utilizadas en endodoncia regenerativa, esto es debido a su capacidad de ser inducidas y diferenciarse a células similares a odontoblastos. Entre ellas, se encuentran, células madre de la papila apical (SCAP), del ligamento periodontal, de la pulpa dental, de dientes temporarios (SHED) o permanentes (DPSC), inflamatorias periapicales, entre otras (24). La mayoría de éstas, pueden sobrevivir en casos de periodontitis apical y abscesos apicales crónicos, esto se debe a que la papila apical es altamente vascularizada y puede actuar como un lecho capilar que suministra nutrientes a células madre de la zona. Lo mismo podría ocurrir a partir del tejido granulomatoso altamente vascularizado que se encuentra en casos de periodontitis apical (30).

Hay dos tipos de células madre principales: embrionarias y adultas o postnatales. Dependiendo en la fase que éstas se encuentren se dividen en: totipotenciales, pluripotenciales y multipotentes (31).

Las células madre embrionarias son producidas a partir de la fecundación, siendo totipotenciales o pluripotenciales. Las totipotenciales pueden dar lugar a todo un individuo ya que son capaces de producir tejido embrionario y extraembrionario a diferencia de las pluripotenciales. Estas últimas, se encuentran formando la masa celular interna (MCI) del blastocisto, generado previamente por una célula madre totipotencial. Presentan la habilidad de diferenciarse en tejidos procedentes de cualquiera de las tres capas embrionarias: endodermo, ectodermo y mesodermo (32).

Las células madre adultas o postnatales son multipotenciales, pueden diferenciarse en distintas células procedentes de la misma capa embrionaria, lo que las capacitaría para la formación de tipos celulares diferentes. Éstas se encuentran entre las células del organismo y su rol principal es reparar y mantener los tejidos del área. Están presentes en la mayor parte de tejidos del organismo incluyendo órganos dentarios (32).

Hoy en día, en las terapias endodónticas regenerativas se están utilizando DPSC previamente extraídas, ya que pueden obtenerse fácilmente de dientes permanentes desechados y recolectarse de una manera mínimamente invasiva y segura para ser utilizadas. Estas células pueden ser adquiridas a través de dientes supernumerarios, terceros molares o dientes que por razones ortodóncicas deben ser extraídos y ofrecen potencial regenerativo de diversos tejidos y órganos dañados o perdidos, incluidos dentina, pulpa, tejido periodontal, hueso, vasos sanguíneos, músculos, etc. Actualmente, para mejorar los resultados, se aplica el fraccionamiento celular. Esto es un procedimiento que permite separar diferentes partes de una célula mediante centrifugación. Las DPSCs clonogénicas no fraccionadas son heterogéneas y tienen variaciones en su fenotipo. Sin embargo, al fraccionarlas son más ventajosas que las no fraccionadas para la regeneración de la pulpa. Esto permite menos inflamación y apoptosis, volúmenes significativamente mayores de tejido pulpar regenerado, mayor densidad de angiogénesis y reinervación, y menos mineralización en el conducto radicular (33).

5.2.1.2. Señales moleculares:

Son moléculas, de las cuales la mayoría son proteicas, encargadas de producir reacciones químicas, entre ellas factores de crecimiento y citoquinas. Los factores de crecimiento se unen a los receptores de la célula y actúan como señales para inducir la

proliferación, diferenciación, migración y regulación de la función celular (24). Las más estudiadas y la clave para la formación de pulpa y dentina son: la proteína morfogenética ósea, la transformante-beta (TGF) y el Factor de crecimiento fibroblástico (FGF)(34).

La terapia endodóntica regenerativa apunta a utilizar los factores de crecimiento que se encuentran en las plaquetas (35) y la dentina, ya que éstos determinan el destino de las células madre inmovilizándolas en un andamio para promover la reparación/regeneración del tejido perdido (36). Algunos de los factores de crecimiento liberados a partir de la matriz dentinaria son Factor de crecimiento β 1 (GF-b1), factor de crecimiento fibroblástico 2 (FGF2) y factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF)(37). Estas moléculas tienen un papel importante en la señalización de los procesos reparativos en dentina y pulpa, ya que se incorporan a la matriz de la dentina durante la dentinogénesis y son retenidos allí como moléculas fosilizadas (38). Por otra parte, pueden ser liberadas a través de la desmineralización por el ácido bacteriano, la irrigación con hipoclorito de sodio (NaOCl), ácido etildiaminotetraacético (EDTA) y la estimulación por Ca(OH)_2 o biomateriales. Al ser libres, pasan a ser bioactivas y totalmente capaces de inducir respuestas celulares, como la generación de dentina terciaria y reparación de la pulpa dental (24).

Se considera que los factores de crecimiento derivados de la dentina desempeñan un papel clave en el reclutamiento, proliferación y diferenciación de células madre, y por tanto, la promoción de la regeneración tisular. Por ejemplo, el factor de crecimiento transformante- β 1 (TGF- β 1) y FGF2 han sido implicados en la promoción de la migración y proliferación celular (24). A su vez se han utilizado factores de crecimiento exógenos para producir un efecto sinérgico con los factores de crecimiento autólogos en REP (39).

5.1.2.3. Andamios biológicos:

Los andamios biológicos son compuestos que brindan un microambiente apto para que las células madre se puedan diferenciar, crecer y desarrollar un tejido tridimensional. Estos son elementos clave en la ingeniería tisular ya que guían la localización de las células madre, regulan la proliferación, diferenciación y metabolismo celular. Los REP han utilizado la dentina, el coágulo de sangre, concentrado de plaquetas autólogo y biomateriales sintéticos para proporcionar andamios en el conducto radicular. Entre estos, el coágulo de sangre y los concentrados de plaquetas autólogos, plasma rico en

plaquetas (PRP) y fibrina rica en plaquetas (FRP) son los más utilizados en REP (24,40). También, hay disponibles muchos tipos de andamios biodegradables o permanentes, naturales, por ejemplo, colágeno, ácido hialurónico, quitosano o quitina; o sintéticos, como, ácido poliláctico, ácido poliglicólico, fosfato tricálcico e hidroxiapatita (41).

En la regeneración de tejidos, un biomaterial que se utilice como andamio tiene el objetivo de promover la adhesión, supervivencia, proliferación, migración y/o diferenciación de las células incorporadas. Las propiedades de éste, se adaptarán en función de la naturaleza del tejido a regenerar. A nivel general, un andamio ideal debe ser biocompatible, imitar la matriz extracelular para recrear el entorno natural de las células madre, y mantener las necesidades fisiológicas del tejido en regeneración (27).

Las células utilizadas en la ingeniería de tejidos, requieren de un andamio que proporcione integridad estructural hasta que el tejido recién formado se vuelva autosustentable (42). El biomaterial utilizado como andamio, debe ser degradado de manera controlada y reproducible sin la liberación de subproductos citotóxicos, y con una cinética que permita su reemplazo coordinado por el tejido recién formado (27).

En la mayoría de los casos reportados de REP se ha utilizado el coágulo de sangre como andamio, este es un enfoque relativamente sencillo y que no requiere aparatología específica o costosa. Sin embargo, el coágulo sanguíneo no es fácil de obtener y carece de algunas propiedades como andamio ideal, tales como, buenas propiedades mecánicas, biodegradación controlable y la incorporación de factores de crecimiento. Además, contiene numerosas células hematopoyéticas que podrían liberar enzimas intracelulares tóxicas durante la muerte celular en el microentorno, comprometiendo la supervivencia de las células madre (24).

Otros métodos más utilizados para crear un andamio son: el uso de concentrados plaquetarios autólogos, como el PRP, FRP y el factor de crecimiento concentrado. Estos andamios requieren una manipulación mínima in vitro y son fáciles de preparar. Sin embargo, presentan inconvenientes en el uso clínico, como la necesidad de extracción intravenosa de sangre del paciente y maquinaria específica para su centrifugado, así como dificultad en el control de los tipos y concentración de factores de crecimiento. Están formados por matriz de fibrina tridimensional y muchas moléculas bioactivas (24).

5.3. Etiología de la necrosis

La necrosis pulpar es el resultado de diferentes factores etiológicos, tales como, caries, traumatismos, iatrogenia, etc. Estos factores que causan necrosis pulpar pueden conducir a variadas tasas de éxito clínico después de REP, ya que el trauma puede incluir fracturas radiculares y defectos del desarrollo o caries que pueden diferir en la composición, extensión o persistencia de las biopelículas. Dadas estas consideraciones, es posible que los protocolos de REP cambien a futuro según la etiología de la necrosis pulpar (23).

Se ha informado que la prevalencia de traumatismos en la dentición permanente oscila entre el 2,6% y el 35% (62,63), con una mayor incidencia entre las edades de 7 y 15 años (40), cuando la mayoría de los dientes permanentes se encuentran en un desarrollo radicular incompleto. Aproximadamente el 50% de los dientes traumatizados pueden ser diagnosticados con necrosis pulpar. Por lo tanto, los niños con una dentición en desarrollo tienen un mayor riesgo de sufrir lesiones que podrían provocar necrosis pulpar. Diógenes y Col. en 2013 realizan una revisión de la literatura de los casos publicados desde 2001 que revela que alrededor del 34% de todos los dientes tratados con REP tenían necrosis pulpar ocasionada por un trauma (Fig. 6) (23).

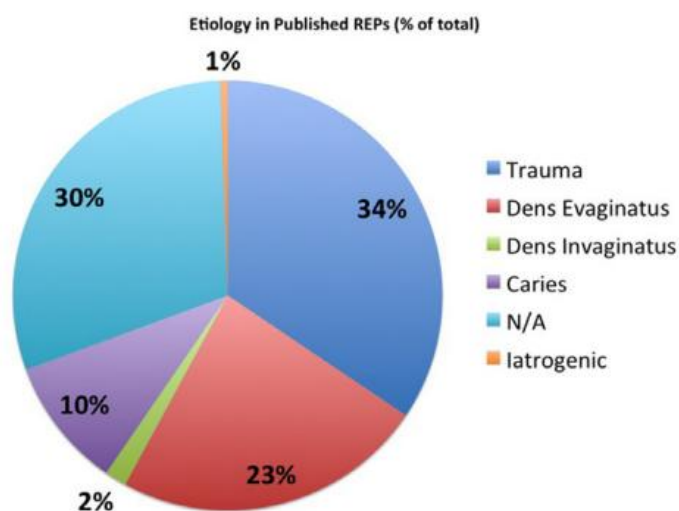


Fig. 6: Prevalencia de factores etiológicos en procedimientos de endodoncia regenerativa. Los datos se presentan como % del total de casos publicados desde 2001 hasta 2013. Imagen obtenida de Diógenes y Col. 2013.

El segundo factor etiológico más común de la necrosis pulpar en los informes de casos publicados es la presencia de anomalías del desarrollo, que representan aproximadamente el 25% de todos los casos. La anomalía del desarrollo más comúnmente encontrada que requiere un REP es el dens evaginatus (23%), seguido del dens invaginatus (2%). El dens evaginatus es una malformación del desarrollo caracterizada por la presencia de una cúspide accesoria que toma la forma de tubérculo y que nace en la superficie oclusal o lingual del diente. A diferencia del anterior, el dens invaginatus es una invaginación profunda de la superficie de la corona o de la raíz, que involucra esmalte, dentina, y pulpa. Por la alta prevalencia del dens evaginatus, es importante buscar un defecto de la fosa palatina e identificar la evidencia radiográfica de un cuerno pulpar central que parece extenderse hacia oclusal. Además, siempre se deben examinar los dientes contralaterales, ya que esta presentación suele ser bilateral y la necrosis pulpar se puede prevenir si se detecta tempranamente y se restaura de forma preventiva (30).

5.4. Evaluación histológica de los REP

La mayoría de los informes de casos clínicos han demostrado aumento de la longitud y engrosamiento de la pared radicular, así como disminución del tamaño del foramen apical en dientes inmaduros luego de ser tratados con REP (43).

Martin y col. en 2013 (44) publicaron un estudio cuyo objetivo fue describir los tejidos formados en el conducto radicular humano, luego de la revascularización/revitalización. Durante el procedimiento, generaron sangrado en el conducto e inyectaron plasma rico en plaquetas (PRP) como andamio biológico. La pieza se fracturó a los dos años del procedimiento, por lo cual se pudo llevar a cabo el análisis histológico (Fig. 7). Se observó formación de tejido mineralizado irregular, en ciertas áreas se bloqueó completamente el conducto y en otras el espacio fue ocupado por tejido conectivo fibroso. Los autores concluyeron que la hemorragia provocada y la formación del coágulo de fibrina son el inicio de la etapa de cicatrización (44).

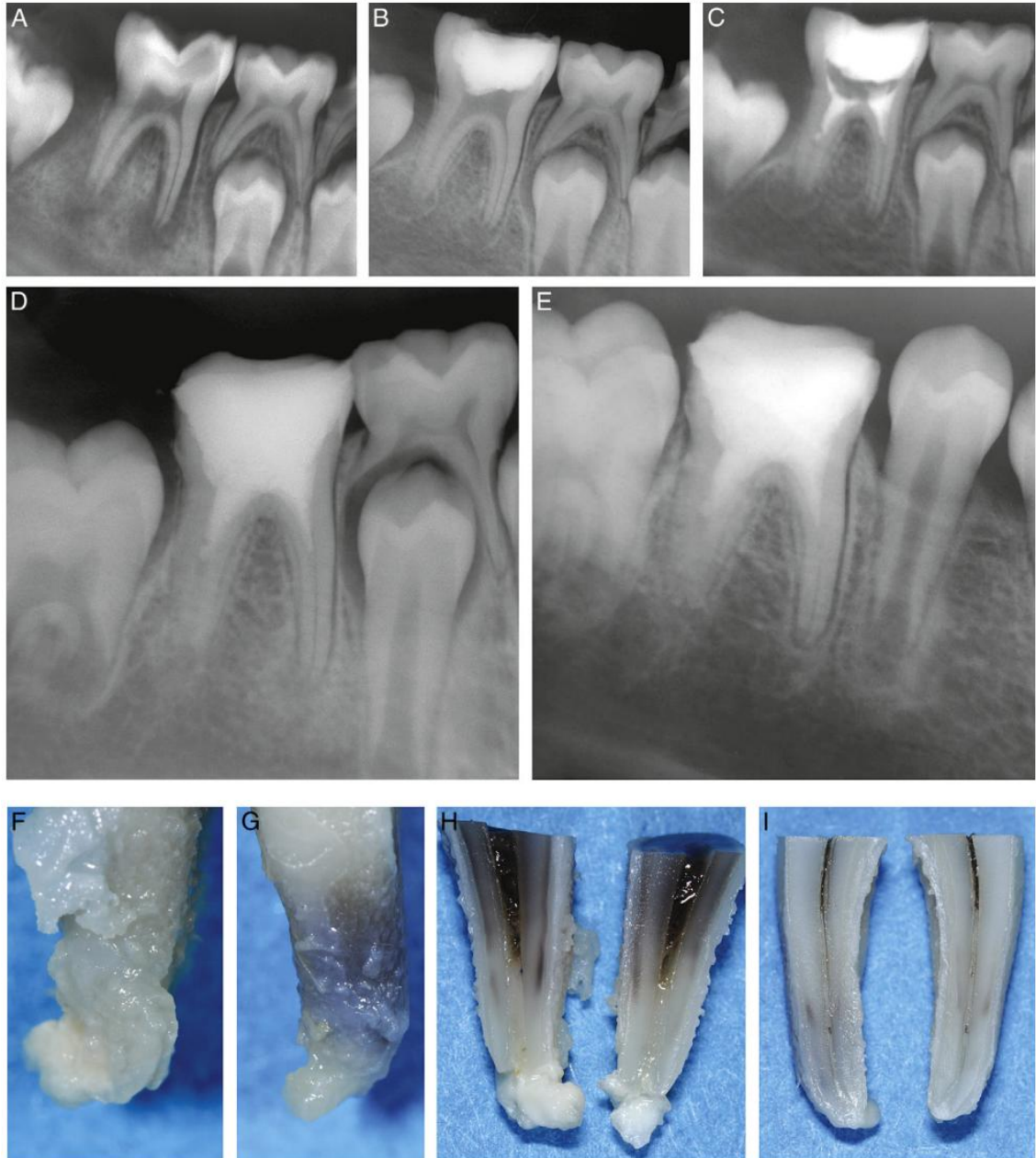


Fig. 7: (A) Radiografía preoperatoria. (B) Radiografía luego de 5 meses con pasta triantibiótica. (C) Radiografía posoperatoria luego de la revitalización. (D) Radiografía de seguimiento 14 meses después. (E) Radiografía tomada 2 años luego del procedimiento y en el momento de fractura de la pieza. (F-G) Imágenes de las raíces distal y mesial después de la extracción. (H-I) Raíces distales y mesiales separadas longitudinalmente en 2 porciones. Imágenes obtenidas de Martin y Col. 2013 (44).

El tejido formado que casi obliteró la luz del conducto fue tejido cementoide/osteóide. Las técnicas histológicas convencionales hacen difícil diferenciar entre cemento y tejido

óseo inmaduro. No se encontraron células similares a los odontoblastos. Los autores consideraron que el tejido duro depositado dentro del conducto y en apical podría haberse formado por cementoblastos/osteoblastos diferenciados de células madre del ligamento periodontal. No se logró la regeneración del tejido pulpar pero sí la reparación (44).

Estudios histológicos han demostrado que el nuevo tejido formado presentaba tejido óseo ectópico, cemento y ligamento periodontal, en lugar de pulpa dental o tejido similar a la pulpa (44,45). A su vez, otros trabajos con animales confirman los hallazgos anteriores (46). Los resultados de tinciones inmunohistoquímicas mostraron que la expresión de marcadores osteogénicos era mayor que la del tejido mineralizado, lo que indica que los REP promueven la reparación en lugar de inducir una verdadera regeneración. Sin embargo, Torabinejad y Col. 2018 informaron la posibilidad de regenerar el complejo dentino-pulpar cuando hay 1 a 4mm de pulpa apical vital en dientes inmaduros de hurones (46). Un caso clínico reportado demostró la formación de tejido conectivo fibroso sano con vasos sanguíneos en el conducto radicular y células similares a odontoblastos a lo largo de la pared dentinaria recién formada. Además, resultados inmunohistoquímicos mostraron una tinción positiva de marcadores vasculares y neuronales, lo que sugiere una regeneración parcial de los componentes del complejo dentino-pulpar (43).

En 2017, Nakashima logró la regeneración pulpar en dientes permanentes con pulpitis irreversible mediante el transplante de células madre de la pulpa dental movilizadas (MDPSC). En dicho estudio, las MDPSC se aislaron de dientes deciduos autólogos. Las evaluaciones clínicas y de laboratorio no demostraron efectos adversos y/o toxicidad. Luego de 4 semanas del procedimiento el test eléctrico fue positivo, la resonancia magnética a las 24 semanas fue similar a la del tejido pulpar normal y la tomografía computada de Cone Beam (CBCT) demostró formación dentinaria normal en tres de cinco pacientes. Los autores concluyeron que las MDPSC humanas son seguras y eficaces para la regeneración pulpar completa en humanos según este estudio clínico piloto (47).

Xuan y Col. (2018) realizaron un ensayo clínico aleatorizado y controlado. En dicho estudio, se extrajo el tejido pulpar de dientes deciduos para cultivar y posteriormente, implantar las hDPSC en los dientes permanentes inmaduros que habían sufrido necrosis

por traumatismo. Para evaluar la seguridad de la implantación de hDPSC, se realizó un seguimiento continuo de los pacientes durante 24 meses. Observaron histológicamente la reconstrucción tridimensional de tejido pulpar normal, con odontoblastos, vasos sanguíneos y nervios (48).

Siddiqui y Col. (2021) realizaron un estudio clínico utilizando hidrogeles dentro del conducto radicular. Dicho hidrogel llamado SLan, es un material acelular con una secuencia peptídica optimizada que favorece la revascularización tisular, sin factores de crecimiento añadidos. Los dientes rellenos de SLan mostraron la formación de un tejido blando con haces colágenos, vasos sanguíneos y fibras nerviosas y una capa de células similares a odontoblastos (49).

Chen y Col. (2012) observaron radiográficamente diferentes respuestas, describiendo 5 tipos:

- Tipo 1: Engrosamiento de las paredes del canal y maduración de la raíz.
- Tipo 2: No hay desarrollo de la raíz en longitud, pero si cierre apical.
- Tipo 3: Desarrollo radicular continuo, pero con el foramen apical abierto.
- Tipo 4: Severa calcificación/obliteración del espacio del canal.
- Tipo 5: Se forma una barrera de tejido duro en el canal entre el tapón coronal del MTA y el ápice de la raíz (50).

5.5. Selección de casos:

Indicaciones

Los REP se indican ante el cumplimiento de ciertos criterios:

- Dientes permanentes inmaduros con necrosis, con o sin lesión perirradicular
- Dientes que no requieren anclaje radicular para la restauración definitiva
- Pacientes y padres comprometidos
- Pacientes no alérgicos a medicamentos o antibióticos utilizados

Contraindicaciones

- Dientes exarticulados inmediatamente reimplantados
- Gran destrucción coronaria
- Imposibilidad de aislación absoluta
- Lesiones endoperiodontales (28,29)

Consideraciones para la indicación:

- Salud general:

Se utiliza el sistema de clasificación de la Salud de la Sociedad Americana de Anestesiólogos para valorar el estado de salud física del paciente. Los REP se indican en pacientes ASA 1 y ASA 2. En pacientes con diabetes no controlada, uso prolongado de corticoides, hipertensión no controlada o infarto agudo de miocardio reciente, es difícil controlar la infección intrarradicular. A su vez, hay que tener precaución en pacientes con problemas de salud mental o ansiedad excesiva; pacientes que no pueden cumplir con múltiples visitas y seguimiento prolongado (24).

- Edad:

Un estudio clínico descubrió que se conseguía mayor desarrollo radicular en pacientes más jóvenes (9 a 13 años) en comparación con grupos de mayor edad (14 a 18 años) (51). Esto posiblemente se asocia a una mayor capacidad de cicatrización o potencial regenerativo de las células madre, que estaría disminuido con el envejecimiento (24).

- Morfología radicular:

Al realizar REP en dientes con diámetro apical preoperatorio mayor o igual a 1mm, se logra un aumento del grosor radicular, aumento de la longitud y estrechamiento apical (51). A pesar de esto, Laureys y Col. 2013 encontraron tejido recién formado en conductos radiculares con un diámetro apical mínimo entre 0,14mm a 0,53mm (24,52).

Basándonos en la clasificación de desarrollo radicular según Cvek (1992)(Fig. 8)(3), estaría indicada la realización de REP en piezas permanentes inmaduras con necrosis, que presentan raíces cortas y ápice abierto. En la fase 1 el diente presenta menos de la mitad de la raíz formada y ápice abierto. La fase 2 presenta la mitad del desarrollo radicular y la fase 3 presenta 2/3 partes del desarrollo radicular y ápice abierto. En las 3 fases anteriores, sería adecuada la realización de REP, debido a que la técnica de apexificación no tiene el potencial para que se dé la maduración de la raíz. En la fase 4 la raíz muestra una formación prácticamente completa pero el ápice permanece abierto, lo que permite la realización de REP o apexificación con MTA ya que las paredes radiculares presentan suficiente grosor y resistencia (24).

En dientes maduros (fase 5) aunque el tratamiento convencional es la endodoncia, recientemente se ha realizado REP en casos con enfermedad pulpar y periapical, logrando resolución de síntomas clínicos y radiolucidez apical, logrando resultados exitosos (53).

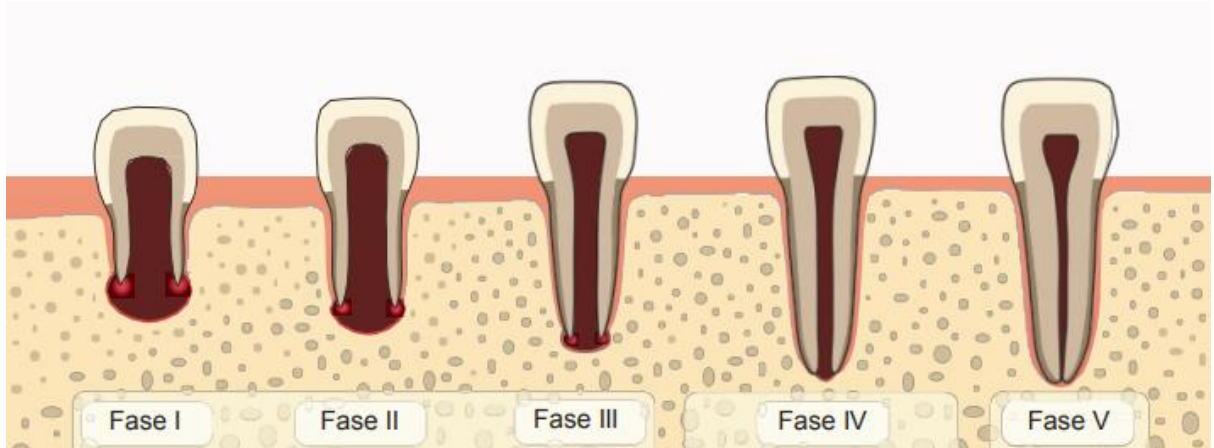


Fig. 8: Fases del desarrollo radicular según Cveck. Imagen obtenida de Wei y Col. 2022.

5.6. Procedimiento clínico

5.6.1. Historia clínica

Es un documento médico legal, único para cada paciente por la importancia que implica. Debe ser completa, precisa, legible y confiable. Es obligación del profesional realizarla. En base a la información recabada del examen general, regional y local, en búsqueda de signos y síntomas del paciente, es posible llegar a un diagnóstico, pronóstico y plan de tratamiento (24).

Para determinar el diagnóstico, la ESE, en su protocolo incluye una lista de verificación donde se valora clínicamente la respuesta al frío, test eléctrico, percusión, movilidad, palpación, presencia de fístula, decoloración coronaria, hinchazón, profundidad de sondaje y presencia de fisuras. Y radiográficamente, presencia o no de lesión perirradicular y ápice abierto. Si es necesario se indica una CBCT (28).

5.6.2. Consentimiento informado

Ante la realización de cualquier procedimiento clínico es necesario que el paciente, los padres o tutores legales reciban toda la información detallada sobre procedimiento a realizar, riesgos, alternativas, tiempos y costos. Dicho documento asienta la

comprensión mutua y la aceptación del paciente al procedimiento propuesto. Éste debe informar:

- Estado del diente afectado
- Duración del tratamiento
- Frecuencia y periodo de seguimiento a futuro
- Material e instrumentos a utilizar
- Efecto del tratamiento
- Costos
- Complicaciones tal como dolor, infección, decoloración del diente, calcificación del conducto, ausencia de respuesta al tratamiento
- Alternativas de tratamiento como apexificación o exodoncia (24,29)

5.6.3. Acceso, saneado del conducto y longitud de trabajo

Al realizar REP la primera sesión va a tener por objetivo la desinfección del conducto. A pesar de que son piezas necróticas, múltiples estudios recomiendan dar anestesia para comenzar el tratamiento. Al trabajar sobre piezas inmaduras éstas tardan mayor tiempo en necrosarse, puede haber sangrado o dolor al introducir la lima, molestias por el clamp y crecimiento interno de tejido de granulación a través del foramen (54).

Luego de dar anestesia y realizar aislación absoluta se continúa por el acceso, amplio abarcando todo el perímetro cameral, neutralización y desbridamiento por tercios y conductometría. La conductometría se realiza con métodos radiográficos y no electrónicos. Los últimos, nos pueden brindar medidas erróneas ya que para el correcto funcionamiento del localizador apical debe haber ajuste entre la pared dentinaria y la lima. Esto generalmente no se logra debido a la amplitud del conducto en piezas inmaduras (54).

5.6.4. Limpieza y conformación

Los dientes permanentes inmaduros presentan raíces delgadas y frágiles por lo que no se aconseja su instrumentación para no aumentar el riesgo a la fractura (55). La AAE y la ESE en sus directrices más recientes no recomiendan la instrumentación mecánica. Sin embargo, si no se realiza instrumentación mecánica, es probable que el biofilm permanezca dentro de los túbulos dentinarios, pudiendo actuar como causa de fracaso. Por eso, en los REP debe realizarse una instrumentación mínima, cepillando ligeramente

las paredes del conducto en forma circunferencial con el objetivo de desorganizar el biofilm sin eliminar dentina de forma agresiva. Por tanto, la desinfección del conducto radicular se basa principalmente en la utilización de irrigantes y medicación intraconducto, pero no en una conformación mecánica propiamente dicha (24).

5.6.5. Desinfección química

5.6.5.1. Irrigantes

Como se explicó anteriormente, en este procedimiento no se realiza una conformación mecánica propiamente dicha, por esto se debe hacer énfasis en la irrigación para eliminar la microflora dentro del conducto. La efectividad de una solución irrigante va a depender del volumen, de la naturaleza química, del tiempo de acción y del contacto, por lo que es fundamental la frecuencia de irrigación, la cantidad de irrigante utilizado y la profundidad de penetración de la aguja de irrigación en el conducto (54).

Las piezas permanentes inmaduras al presentar ápice abierto tienen mayor riesgo de extrusión del irrigante. Para evitar accidentes pueden utilizarse agujas con extremo cerrado y salida lateral. La aguja siempre debe colocarse a 1-3mm del ápice y ejercer suave presión para evitar la extravasación hacia los tejidos perirradiculares por diferencias de presión. A su vez, para mejorar la eficacia de la irrigación en los conductos radiculares, se pueden utilizar irrigación a presión negativa (EndoVac), irrigación ultrasónica, flujo fotoacústico inducido por fotones o láser (24)(32).

En REP deben tenerse en cuenta varios requisitos de los irrigantes, tales como efecto antibacteriano, menor citotoxicidad posible y la capacidad de estimular la liberación de factores de crecimiento (24).

Hipoclorito de sodio

El NaOCl pertenece al grupo de compuestos halogenados. En 1792 fue introducido en odontología y recibió el nombre de agua de Javel. En 1915, Dakin lo propuso para desinfección de manos y heridas durante la primera guerra mundial y posteriormente en el siglo XX se introduce en endodoncia (56).

Es una sal formada por la unión de dos compuestos químicos: el ácido hipocloroso (HOCl) y el hidróxido de sodio (NaOH).



El NaOCl es el irrigante más utilizado debido a su acción bactericida de amplio espectro, actúa contra bacterias, hongos y virus y tiene la propiedad de disolución tisular. Su acción es rápida pero no sostenida. Se neutraliza en presencia de compuestos orgánicos como suero, sangre o pus, por ello es necesario irrigar en forma frecuente promoviendo la disolución de materia orgánica en el canal. A su vez, es capaz de neutralizar los productos tóxicos presentes y su baja tensión superficial permite mayor penetración del irrigante en todo el sistema de conductos (57).

Su eficacia como agente antimicrobiano se debe a su elevado pH de 11, este interfiere en la integridad de la membrana citoplasmática, altera el metabolismo celular y degrada los fosfolípidos. Al ponerse en contacto con la membrana basal de la célula bacteriana se disocia en cloro y oxígeno nascente, siendo este el responsable de su acción. Por su pH alcalino neutraliza la acidez del medio evitando el desarrollo microbiano (54).

En REPs se recomienda utilizar el NaOCl en una baja concentración, ya que presenta un efecto concentración-dependiente sobre la supervivencia de las SCAP. A pesar de esto, tampoco es eficaz su utilización en concentraciones muy bajas como al 0,5%, debido a que no se logra una buena desinfección. Actualmente, para esta técnica se utiliza, según la AAE y ESE una concentración de 1,5-3% ya que es compatible con la supervivencia y proliferación de las células madre (58).

David y Col. en 2014 utilizaron conductos radiculares de dientes humanos extraídos donde se sembraron SCAP en una estructura a base de ácido hialurónico, para posteriormente, irrigar con NaOCl (0,5%, 1,5%, 3% o 6%), seguido de EDTA al 17% y cuantificar las células madre viables. Observaron que el acondicionamiento de la dentina con NaOCl al 1,5% promovió una mayor supervivencia y diferenciación de SCAP que el NaOCl al 3% o 6%, seguido de la irrigación con EDTA al 17%. Concluyendo que la irrigación con altas concentraciones de NaOCl (6%) tiene un efecto negativo sobre las SCAP (59).

En un estudio realizado por Trevino y col. 2011 se descubrió que la tasa de supervivencia de las SCAP fue de un 74% luego de ser expuestas a NaOCl al 6%, EDTA al 17% e

NaOCl al 6% nuevamente (Fig. 9). Se llegó a la conclusión que una concentración de NaOCl al 6%, si se usa asociado al EDTA al 17% revierte parcialmente el efecto nocivo sobre las células madre, promoviendo la supervivencia y la diferenciación. Más allá de esta investigación, las principales asociaciones mundiales prefieren usarlo a baja concentración (60).

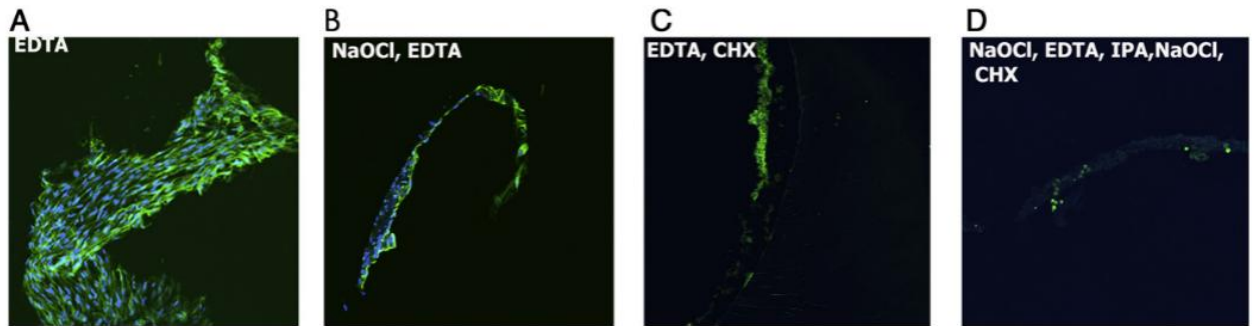


Fig. 9: Imagen de microscopía confocal de células madre viables luego de la exposición a diferentes irrigantes. La expresión de vimentina se visualiza en verde, mientras que la expresión del marcador nuclear TO-PRO-3 se visualiza en azul. Observándose la mayor supervivencia de células madre durante la irrigación con EDTA y en segundo lugar NaOCl y EDTA, disminuyendo notoriamente una vez que se utiliza clorhexidina. Imagen obtenida de Trevino y col. 2011 (60).

Acido Etilendiaminotetraacético (EDTA)

El EDTA es el quelante más utilizado como irrigante antes de colocar la medicación en conductos necróticos y previo a la obturación para mejorar la adaptación del material de relleno a las paredes dentinarias (61).

Este irrigante causa desmineralización de la dentina (62) proporcionando una limpieza que favorece la unión del tejido recién formado a las paredes dentinarias en REP (63). El tiempo adecuado para la eliminación del barrillo dentinario es 1 minuto, garantizando una correcta limpieza de las paredes sin erosionarlas (64). Presenta la capacidad de enviar señales moleculares por parte de las biomoléculas dentinarias liberadas, además, actúa sobre los componentes inorgánicos y sobre los radicales libres. Éstos se unen a iones metálicos, como el calcio, generando su captación y desmineralizando la dentina peri e intertubular (65), permitiendo la apertura de los túbulos (40).

La matriz de dentina es un reservorio de citoquinas solubles y factores de crecimiento. Éstos son liberados ante la desmineralización dentinaria, por tanto, la irrigación con

EDTA promueve la adhesión, migración y diferenciación de células madre a células similares a odontoblastos, presentando a su vez, un efecto antimicrobiano (66). Debe destacarse que el EDTA tiene que ser utilizado en todos los procedimientos de regeneración (60).

La irrigación con EDTA genera un acondicionamiento dentinario favorable para la adhesión y supervivencia de las SCAP. Estudios demuestran que mantienen la vitalidad de las células madre en un 89% (60).

La AAE establece en su protocolo la irrigación abundante y suave del conducto con 20ml de NaOCl a baja concentración (1,5%) por 5 minutos y luego con suero o EDTA (20ml por 5 minutos) (29). Divya y Col. en 2021 demostraron que, el uso de láser de diodo en la primera cita complementando el protocolo antes mencionado, contribuyó a mejorar la desinfección y cicatrización perirradicular (67).

Clorhexidina

La clorhexidina al 2% es un irrigante muy utilizado en casos de necrosis por su poder antimicrobiano. Sin embargo, varios estudios demostraron que el NaOCl al 2,5% tiene mayor poder antimicrobiano que la clorhexidina al 0,2 % y la mayor ventaja de éste es su poder para disolver materia orgánica (68,69).

En endodoncia regenerativa las principales asociaciones no lo recomiendan por su citotoxicidad para las células madre de la papila apical. La AAE y ESE recomiendan el uso de NaOCl de 1,5% - 3% seguido de EDTA al 17% en la primera consulta y EDTA al 17% en la segunda cita de REP (28,29,60).

5.6.5.2. Medicación intraconducto

En REP se han utilizado diferentes medicaciones para la desinfección del conducto radicular, como pasta triantibiótica con diferentes combinaciones, pasta biantibiótica e Ca(OH)₂ (24).

Pastas antibióticas

Los antibióticos surgieron para atacar con criterio selectivo a bacterias en casos de infecciones y no atacar a las propias células del huésped. Los fabricantes, describen el mecanismo de acción y los efectos secundarios de un agente antimicrobiano, pero cuando éstos se combinan, se desconoce su mecanismo de acción. Sin embargo, se

considera que la combinación de antibióticos genera efecto sinérgico, pero también puede aumentar el riesgo de antagonismo y resistencia bacteriana (40).

En 1972 Grossman comienza a incorporar antibióticos en forma tópica dentro del conducto radicular para lograr la desinfección en CRCT (70). Utiliza una pasta PBSC (penicilina, esreptomina, bacitracina y caprilato de sodio). La penicilina fue efectiva actuando sobre microorganismos grampositivos y la bacitracina para cepas resistentes a la penicilina (40,70,71). Posteriormente, Hoshino y Col. (1996) fueron los primeros en comenzar a estudiar la efectividad de la pasta triantibiótica para eliminar microorganismos de conductos radiculares. Conocían que había un predominio de microorganismos anaerobios, por esto en primera instancia utilizaron únicamente metronidazol, sin éxito. Ante esta situación, fabricaron una mezcla de antibióticos que individualmente cada uno, actuaba contra anaerobios obligados. Informaron en 1996 que la mezcla de ciprofloxacina, metronidazol y minociclina lograba la desinfección del conducto radicular (72,73).

En el año 2001 Iwaya y Col., ante el surgimiento de la endodoncia regenerativa, comenzaron a utilizar una mezcla de antibióticos para la desinfección del conducto radicular (6). Ésta, contenía ciprofloxacina y metronidazol en forma inicial. Posteriormente, en 2004 Banchs & Trope agregan a la mezcla minociclina, pasando a utilizar la pasta triantibiótica que había sido desarrollada inicialmente por Hoshino y Col. (74). Su composición presentaba 100mg de cada antibiótico. Se demostró que lograba una buena difusión y desinfección del sistema de conductos infectados (40).

El conducto se seca cuidadosamente, y luego se medica con una pasta recién mezclada de los antibióticos en una base de pomada de macrogol/propilenglicol (41). Con el uso de la minociclina como parte de la medicación intraconducto, se observaron pigmentaciones en el diente (75). Por ello, se buscó sustituir este antibiótico por una cefalosporina (76) o penicilina (77), como la amoxicilina.

Se ha demostrado en estudios, que al usar pasta triantibiótica en altas concentraciones, (10mg/ml) (78) si bien es más efectiva como desinfectante del conducto radicular, evita la supervivencia de un gran porcentaje de SCAP. Es por esto que, se recomienda la utilización de dosis bajas (79).

La AAE sugirió en un principio, la utilización de una pasta antibiótica mezclada con una relación 1:1:1 a base de ciprofloxacina, metronidazol y minociclina con concentraciones de 1 a 5 mg/ml que debían usarse durante 1 a 4 semanas. Estas concentraciones bajas evitaban daño a las SCAP (40) Se aconsejó previo a utilizar la pasta triantibiótica sellar la cámara pulpar con adhesivo para minimizar el riesgo de pigmentación (80). Posteriormente, se comenzó a utilizar una pasta biantibiótica sin minociclina o sustituyendo ésta por otro antibiótico (clindamicina, amoxicilina o cefaclor) y colocándola por debajo del límite amelocementario (29).

Hidróxido de calcio

El $\text{Ca}(\text{OH})_2$ fue introducido a la endodoncia por Hermann en 1920 (81). Su presentación comercial es en polvo. Al tomar contacto con un fluido acuoso (metilcelulosa, agua destilada, suero fisiológico) se disocia en iones calcio e hidroxilo, esto induce un depósito de tejidos duros y una alta actividad antimicrobiana. Es por ello que se utiliza como medicación intraconducto. Debido a su pH alto de 12,5 a 12,8 genera un ambiente poco propicio para que la mayoría de los microorganismos sobrevivan. El $\text{Ca}(\text{OH})_2$ es capaz de hidrolizar los restos lipídicos de los lipopolisacáridos de las bacterias gram negativas. Los iones hidroxilos liberados, son muy oxidantes y reactivos, dañándolas (82). Cvek (1976) estudió su capacidad antimicrobiana, obteniendo como resultado que en el 90% de las piezas con conductos infectados tratados con $\text{Ca}(\text{OH})_2$ por 3 meses, no presentaron desarrollo microbiano (83).

Luego del surgimiento de la técnica de revitalización en el año 2001, el $\text{Ca}(\text{OH})_2$ comienza a utilizarse en la misma debido a sus buenas propiedades antimicrobianas. Gougousis, Giannakoulas, Taraslia y Col. (2019) realizaron un estudio donde buscaban evaluar la viabilidad de las células madre de dientes exfoliados. Esto se realizó en la superficie dentinaria tratada con pasta triantibiótica o $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Como resultado obtuvieron una mayor supervivencia de las células madre al exponer la dentina al $\text{Ca}(\text{OH})_2$ en comparación al uso de antibióticos (78).

Posterior a la colocación de la medicación intraconducto, se procede a realizar doble sellado coronario con un material provisorio como Cavit, material restaurador intermedio u otro material temporario y luego cemento ionómero de vidrio (CIV). Debe quedar un espesor de 3 a 4 mm para evitar microfiltraciones (84).

La segunda sesión clínica se realiza en 2-4 semanas de la primera, inicialmente se debe valorar si los signos de infección han disminuido para evaluar si requiere cambio de medicación o no. La ESE indica que se pueden administrar antibióticos sistémicos en caso que el paciente presente una alteración general, tal como fiebre (28).

5.6.6. Formación del andamio biológico

Las células para formar tejidos y sobrevivir requieren de interacciones con su microambiente para proliferar y funcionar. Naturalmente, este microambiente está formado en gran parte por compuestos de proteínas de la matriz extracelular, pero en la Ingeniería tisular se requieren andamios biodegradables y biocompatibles.

Durante los REP, el objetivo de inducir una hemorragia intracanal es crear un coágulo de sangre como andamio biológico, promoviendo la entrada de células madre desde la región perirradicular para promover la formación de un tejido tridimensional dentro del conducto. Diferentes estudios revelan que el coágulo de sangre sirve como una matriz para la migración de las células progenitoras hacia el canal, posiblemente desde la papila apical y que presenta una concentración muy alta de células madre mesenquimáticas, hasta 600 veces más en comparación con la sangre de la periferia (7,85).

Durante la práctica clínica, si al sobrepasar el foramen apical, el sangrado intraconducto es insuficiente o nulo, esto interferirá en el éxito del REP. A su vez, el coágulo de sangre no presenta muchas propiedades que correspondan al soporte ideal, tal como, biodegradación controlable, liberación simple, propiedades mecánicas apropiadas e incorporación de factores de crecimiento. Además, contiene numerosas células hematopoyéticas, que al morir liberan moléculas intercelulares tóxicas al microentorno, pudiendo afectar la supervivencia de las células madres. La destrucción de los tejidos periapicales, reacción inflamatoria por el uso de pastas antibióticas y el uso de anestésico local con vasoconstrictor, son las posibles razones de que no se logre hemorragia suficiente. La AAE y ESE indican evitar los anestésicos locales con vasoconstrictor en la segunda sesión clínica. Si la hemorragia es insuficiente podría inyectarse localmente lidocaína (sin epinefrina) ya que actúa como un gran vasodilatador, promoviendo el sangrado perirradicular (24,54).

Para utilizar el coágulo de sangre como andamio biológico, una vez que el conducto está limpio, seco y sin exudado, con una lima K con la punta ligeramente doblada N° 20 o 25, se sobrepasa el ápice 2 mm y se rota para crear un sangrado en el conducto (86). Luego, se detiene la hemorragia 3mm por debajo del límite cemento-esmalte y se espera 15 minutos para que se forme el coagulo. Posteriormente, se puede colocar una matriz de colágeno por encima del coágulo de sangre, permitiendo que ésta se moje con el líquido para evitar la formación de un espacio hueco. Por último, se pone sobre la matriz de colágeno, una capa delgada de material de obturación cervical, por ejemplo: biodentine o MTA. Esta capa se ubica 2 mm por debajo de la unión cemento-esmalte. Debe tenerse cuidado con la posible decoloración después del contacto del material con sangre (7,28,29).

Otro de los andamios más utilizados luego del coágulo de sangre es el PRP. Fue introducido en la odontología en 1997 por Whitman y Col., donde describieron sus primeras aplicaciones en cirugía bucomaxilofacial. Posteriormente, en el año 2011 Torabinejad & Turman fueron los pioneros en comenzar a utilizarlo en endodoncia regenerativa, describiéndolo como una fuente de factores de crecimiento y un andamio potencialmente ideal para el tratamiento de revitalización. Este andamio promueve el crecimiento celular y el transporte de factores de crecimiento en un ambiente desinfectado (87,88).

El PRP contiene factores de crecimiento concentrados, como el derivado de las plaquetas, el transformante, el endotelial vascular, el epidérmico y el factor de crecimiento similar a la insulina. Se ha demostrado que, utilizando este andamio, se puede generar un tejido similar a la pulpa en un diente necrótico con ápice abierto (44). La ventaja está en que es autólogo, no genera rechazo. Como desventajas debe considerarse que requiere extracción de sangre del paciente que generalmente es niño y la cantidad de factores de crecimiento no es controlable (89,90). A pesar de esto, Torabinejad y col. plantean que se considera un andamio potencialmente ideal para técnicas de endodoncia regenerativa ya que contiene factores de crecimiento, estimula la producción de colágeno, recluta otras células en el sitio de la lesión y produce agentes antiinflamatorios. A su vez, favorece el crecimiento vascular y la diferenciación celular, controlando la respuesta inflamatoria local y mejorando la curación de heridas de tejidos blandos y duros (88).

En la segunda sesión clínica se procede a la preparación del PRP. Este se prepara con 10 ml de sangre extraída del paciente, y vertidos en tubos de vidrio esterilizados de 10ml, junto con un anticoagulante, como citrato de sodio. El frasco debe ser centrifugado a 2500 revoluciones por minuto (RPM) durante 10 minutos, para separar el PRP de su unión con el plasma pobre en plaquetas (PPP) a partir de la división de glóbulos rojos. La capa más superficial de ambos, se introduce en otro tubo de ensayo y se centrifuga nuevamente, pero a 3000 RPM durante 15 minutos. Al término de ese ciclo, cuando ya el PRP se ha precipitado y se separa del PPP, se mezcla con volúmenes iguales de solución salina estéril, que contiene 10% de cloruro de calcio y trombina bovina estéril 100 U/ml para lograr la coagulación (91,92).

El proceso de centrifugado es utilizado para separar una mezcla biológica dentro de una fase líquida. Se basa en la fuerza centrífuga, la cual es mayor a la fuerza de la gravedad. Por ello, este procedimiento hace que las partículas migren de acuerdo a su tamaño, masa y densidad (54).

Una vez que el PRP está preparado, se produce el sangrado intracanalicular con un instrumento, por medio del cual se laceran los tejidos periapicales. Posteriormente, se coloca dentro del conducto, por debajo del límite amelocementario, una esponja de colágeno estéril embebida en el PRP. Consecutivamente se realiza el sellado con material biocerámico. A pesar de que el PRP y PRF han demostrado ser ricos en factores de crecimiento, utilizándose en combinación con el coágulo de sangre, no se ha demostrado que puedan mejorar la regeneración del complejo dentino-pulpar (40,92).

El PRF es un biomaterial autógeno del propio paciente que se obtiene inmediatamente antes del procedimiento clínico a partir de la extracción venosa de sangre, eliminando el riesgo de rechazo y/o contaminación cruzada. Este se obtiene de forma natural mediante el centrifugado de sangre, no requiere la utilización de anticoagulantes ni trombina bovina y cloruro de calcio para la activación de plaquetas y polimerización de fibrina. La sangre venosa extraída del paciente se coloca en tubos de 10 ml y se centrifuga inmediatamente a aproximadamente a 3000 rpm durante 10 minutos. Luego de este procedimiento se obtienen tres capas en el tubo: plasma acelular en la parte superior, glóbulos rojos en su parte inferior y un coágulo de PRF en medio de ambos (93,94).

Estudios han demostrado que tanto el PRP como el PRF contienen factores de crecimiento responsables de la regeneración del tejido. Si bien el PRP indujo niveles

más altos de proliferación celular, el PRF generó una mayor migración celular y expresión de ácido ribonucleico mensajero del TGF- β , el factor de crecimiento derivado de plaquetas y el gen COL1a2 (54,89).

Aunque el uso de los concentrados de plaquetas tiene muchas ventajas, hay autores que resaltan como desventaja que requiere de un equipo especializado y procedimientos desarrollados adecuadamente para su utilización. Además, una problemática que hay que tener en cuenta es el hecho de trabajar con niños, por lo que conlleva la necesidad de extraer sangre del paciente y preparar rápidamente el PRF o PRP (89).

5.6.7. Materiales de obturación cervical

Los materiales biocerámicos utilizados en la odontología moderna, se clasifican como bioactivos, bioinertes y biodegradables. Que sean bioactivos indica que son capaces de inducir una respuesta en los distintos tejidos. Bioinertes refiere a la falta de interacción con los sistemas biológicos, y biodegradables son los materiales solubles o reabsorbibles, que pueden ser reemplazados o pasar a formar parte del tejido en formación. En la odontología actual son utilizados para reparar defectos óseos, base cavitaria, sellado de perforaciones y a nivel canalicular, se utiliza como tapón apical y como parte de los procedimientos regenerativos. Como ventajas presentan biocompatibilidad, capacidad osteoinductora, sellado hermético, radioopacidad y acción antibacteriana (95).

MTA

El MTA es un material biocerámico introducido en la década de los 90 por Torabinejad. Clínicamente es utilizado para sellado de perforaciones y reabsorciones, como base cavitaria, matriz apical en técnicas de apexificación y como material de obturación cervical en tratamientos regenerativos. Está formado por silicato tricálcico ($3\text{CaO}\cdot\text{SiO}_2$) y silicato dicálcico ($2\text{CaO}\cdot\text{SiO}_2$) que forman el núcleo. El material de relleno consiste en carbonato de calcio (CaCO_2), óxido de zirconio (ZrO_2) que es el radioopacificador, y óxido de hierro como agente colorante (96)(97).

La primera marca comercial fue ProRoot® (Dentsply-Tulsa Dental Specialties, Johnson City, TN, USA). Este primer MTA que surgió en el mercado era de color gris (GMTA), por su color oscuro causaba decoloración de los dientes, por esto más tarde se desarrolló el MTA blanco (WMTA) que tenía propiedades clínicas similares al GMTA pero producía mejores resultados estéticos. La diferencia entre estos radica en el contenido de óxidos

metálicos, tal como óxidos de hierro, aluminio y magnesio que son la principal causa de la decoloración. Sin embargo, el WMTA también puede provocar cierta decoloración aunque el contenido de óxidos metálicos (óxido de bismuto) es bajo. Posteriormente fabricantes reemplazan el óxido de bismuto por ZrO_2 como radioopacificador alternativo ya que no genera decoloración. Esto fue comprobado en un estudio en 2015 por Kang y Col donde se compara la tinción que producen diferentes marcas comerciales de MTA según el radioopacificador que presentan (Fig. 10)(98).

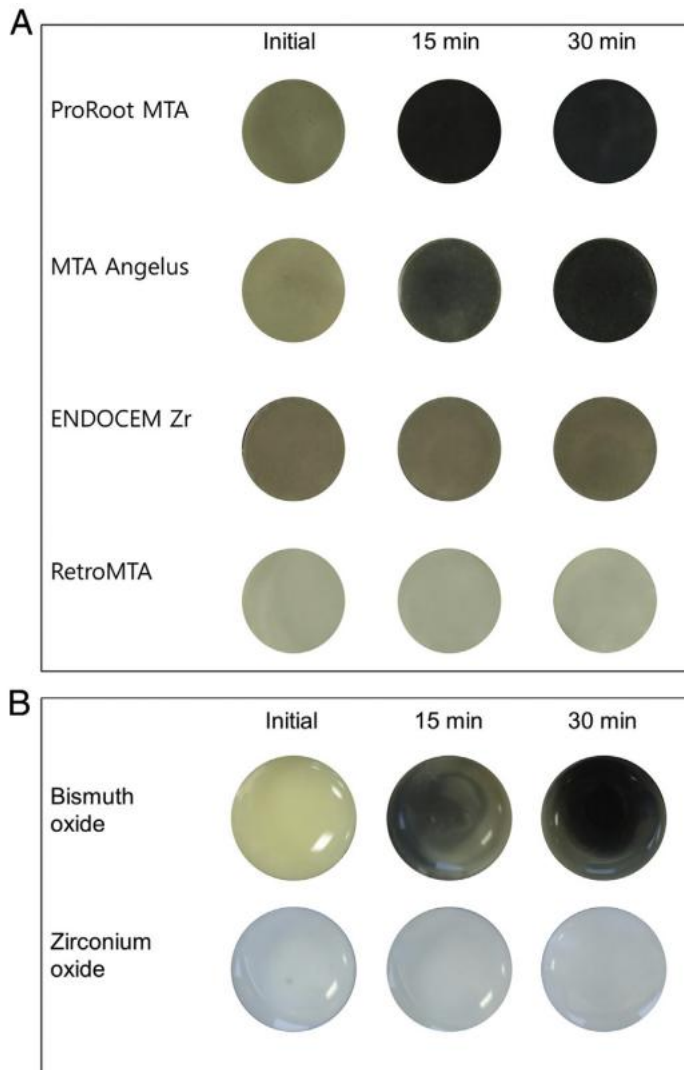


Fig. 10: Imagen lo cual demuestra la tinción dentinaria de diferentes marcas comerciales de MTA disponibles en el mercado (A) y la tinción según el radioopacificador presente en la composición. Imagen obtenida del estudio de Kang y Col. 2015 (99).

La presentación comercial es en polvo y por otro lado, agua estéril. El polvo, al estar en contacto con partículas hidrofílicas forma un gel coloidal con pH de 12,5 lo que le da su efecto antimicrobiano y la capacidad de inducir la formación de tejido mineralizado. Según las instrucciones del fabricante, se mezcla 1 gramo (g) de MTA con 0,32 g del líquido sobre una loseta de vidrio para lograr una consistencia manejable y puede ser colocado en el conducto con un portador de MTA, atracador pequeño o punta de papel. Endurece en 3 horas aproximadamente en presencia de humedad y al fraguar se expande, promoviendo un buen sellado marginal (100,101).

Como ventajas se destacan, buen sellado, formador de tejidos duros, baja toxicidad y resistencia a la compresión, considerando que el espesor adecuado para que se cumplan sus propiedades debe ser entre 3-4 mm. Las desventajas de este material eran el tiempo de fraguado final largo, resistencia flexural y a la compresión inferior a la dentina, compleja manipulación, elementos tóxicos en su composición, alto costo y la pigmentación dentaria. Se ha demostrado que la decoloración en los dientes es causada por el movimiento de óxido de bismuto en los túbulos dentinarios, los aminoácidos del colágeno de la dentina parecen desestabilizar la molécula de óxido de bismuto resultando en el cambio de color (97,99).

Actualmente surgen nuevas fórmulas como el MTA Repair HP, lo cual sustituyen el óxido de bisumuto por ZrO_2 , evitando la coloración. Otra ventaja que ofrece el mismo es la reducción del tiempo de fraguado a 15 minutos. Este cemento, es un reparador biocerámico de alta plasticidad, formulado con óxidos minerales, además es libre de metales pesados y contaminantes. Debido a su liberación de iones calcio induce la biomineralización, y por su alta alcalinidad previene el crecimiento y desarrollo bacteriano. Se puede utilizar en presencia de humedad debido a su baja solubilidad, sin alterar sus propiedades (102).

Biodentine

Otro tipo de material existente es el Biodentine, es un biomaterial de tercera generación y es utilizado como sustituto de dentina. Es introducido en 2009 por Septodont. Se presenta en forma de cápsula con un polvo en su interior y una pipeta con el líquido, facilitando su manipulación. El polvo contiene: $2CaO.SiO_2$ y $3CaO.SiO_2$, aluminato tricálcico, tetracalciumaluminoferrite, sulfato de calcio, óxido de bismuto, calcio silicio y aluminio. El líquido presenta: cloruro de calcio como acelerador del fraguado y un polímero hidrosoluble a base de policarboxilato utilizado como “reductor de agua” para

reducir su contenido total. Se mezcla el polvo con el líquido en un amalgamador durante 30 segundos. El cemento pasa por dos fases, primero, la de mezcla que dura 6 minutos en la cual el cemento es colocado en la cavidad. Posteriormente la fase de endurecimiento, en la cual el cemento no debe tomar contacto con humedad ni ser manipulado porque se puede destruir la red cristalina generando disminución de la resistencia del Biodentine y no endurece a causa de esto. El tiempo de fraguado inicial es de 10 minutos, en este tiempo el Biodentine forma Ca(OH)_2 , lo que genera un pH de 12,5 y por tanto, un ambiente alcalino inhibiendo el crecimiento bacteriano (103).

Tiene excelente sellado marginal ya que causa corrosión alcalina sobre la dentina y a su vez porque difunde a través de los túbulos dentinarios penetrando en ellos de 10-20 nanomicras. Estos dos mecanismos le proporcionan anclaje micromecánico y químico al diente y el composite, que le otorgan la adhesión y alta fuerza de unión. Como tiene propiedades similares a la dentina se puede utilizar como sustituto de la misma, presentando buena resistencia compresiva y flexural y al entrar en contacto con tejidos pulpaes y periapicales, su biocompatibilidad es de suma importancia (104,105).

Este nuevo material biológicamente activo, se crea usando tecnología de cemento basada en MTA, y por lo tanto, enriquece sus propiedades, así como sus cualidades físicas y manejo del mismo. A su vez, se descubrió que aumenta la secreción de TGF-B1 de las células pulpaes, siendo este un factor de crecimiento que presenta un importante papel en la angiogénesis, reclutamiento de células progenitoras, diferenciación celular y mineralización (103,106).

Endosequence

Es un biocerámico de tercera generación, a base de nanopartículas, altamente bioactivo y promueve eficientemente la biomineralización. Presenta buenas propiedades de manipulación, tiempo de fraguado reducido (20 minutos) y alta resistencia. Es biocompatible, osteogénico, al presentar un pH mayor a 12 presenta acción antibacteriana. Es resistente al lavado y no produce decoloraciones. Está compuesto por Silicatos de calcio, fosfato de calcio monobásico, Ca(OH)_2 , ZrO_2 , óxido de tantalio y agentes de relleno y espesantes. Es utilizado en endodoncia en el sellado de perforaciones radiculares, reparación de reabsorciones, en la técnica de apexificación y como protector pulpar. También se usa como sellador en cirugía apical.

Este biocerámico presentaba inicialmente dos presentaciones clínicas: en pasta premezclada inyectable para utilizarse como cemento o como masilla condensable para

el sellado de perforaciones, barrera apical, etc. La presentación en forma de masilla condensable tenía como desventaja la posibilidad de contaminación cruzada. Actualmente surge una nueva fórmula llamada EndoSequence® BC RRM-Fast Set que tiene una nueva química de fraguado rápido y una administración mejorada de jeringa, no requiere mezclas y se encuentra en una consistencia adecuada para su aplicación (Fig. 11)(107,108).



Fig. 11: presentaciones comerciales de Endosequence (108).

Bio-C® Repair

En 2021 Angelus introduce un nuevo biocerámico llamado Bio-C Repair. Este nuevo material se presenta en jeringa roscada listo para usar, lo que ofrece mejoras en el manejo e inserción, facilitando la práctica clínica y ahorrando tiempo (Fig. 12). Es utilizado para el sellado de perforaciones, reabsorciones internas, apexificación, retroobtención en cirugías endodónticas y recubrimiento pulpar en pulpotomías. Sus principales propiedades son alta alcalinidad (pH 12) y liberación de iones calcio, induciendo la regeneración celular y acción antimicrobiana, a su vez, es hidrofílico durante su fraguado y adhiere químicamente a la dentina evitando filtraciones (109).

Este material presenta biocompatibilidad y biomineralización similares al MTA HP y WMTA. En contacto con las células madre del ligamento periodontal mostró una gran viabilidad y adhesión celular, demostrando su alta bioactividad. A su vez, se observó excelente citocompatibilidad similar al Biodentine cuando se utilizó en células de la pulpa dental (110).

En el protocolo establecido por la AAE luego de la formación del andamio biológico se recomienda la utilización de MTA para la obturación cervical, o biocerámicos de otras generaciones, por ejemplo, cementos de $3\text{CaO}\cdot\text{SiO}_2$ (como Biodentine o EndoSequence) en piezas que exista una preocupación estética (29).



Fig. 12: Presentación comercial Bio-C Repair (109).

5.6.8. Controles de la técnica regenerativa:

Luego de la obturación cervical y rehabilitación definitiva se debe realizar un seguimiento clínico y radiográfico del caso. El protocolo de la AAE establece controles (6, 12 y 24 meses) y la ESE añade anualmente por 5 años, observando ausencia de dolor, hinchazón de tejidos blandos o presencia de fístula. Radiográficamente debe observarse resolución de la radiolucidez apical lo cual suele verse entre los 6 y 12 meses luego del tratamiento, y aumento del ancho y/o longitud de las paredes de la raíz lo cual ocurre entre los 12 y 24 meses. Se espera que haya una mayor longitud de la raíz y respuesta positiva a la prueba de vitalidad pulpar. Después de los primeros 2 años se recomienda hacer seguimiento anual.

La CBCT es muy recomendable para la evaluación inicial y las visitas de seguimiento post tratamiento. El grado de éxito de la endodoncia regenerativa se mide en si se alcanzan o no los objetivos establecidos por AAE lo cual serán desarrollados posteriormente (29).

Se aconseja añadir controles cada 3 meses en casos de infección de larga data, difícil eliminación de signos de infección o reabsorción inflamatoria de la raíz. Debe considerarse que piezas revitalizadas pueden ser más perceptibles a la inflamación y a

la reabsorción radicular si recibieran tratamiento de ortodoncia. En estos casos se debe esperar a la cicatrización después de la revitalización, realizar fuerzas suaves y controladas y acortar los intervalos de seguimiento durante la ortodoncia (28).

5.6.9. Resultados de la endodoncia regenerativa

La AAE y la ESE establecen directrices para evaluar la eficacia de los REP.

La AAE establece que existen tres medidas del éxito:

- Objetivo principal: desaparición de signos y síntomas clínicos, así como la radiolucidez apical.
- Objetivo secundario: aumento de la longitud y grosor de las paredes radiculares.
- Objetivo terciario: test de vitalidad pulpar positivo (84).

En relación al test de vitalidad pulpar, clínicamente nos valemos de pruebas pulpares como eléctricas/térmicas. Éstas, en caso de dar positivas demuestran la presencia de un tejido organizado en el interior del conducto, aunque los dispositivos que realmente controlarían certeramente la vitalidad pulpar son el oxímetro de pulso o laser Doppler, al medir el flujo sanguíneo (24).

Otro indicador de posible éxito va de la mano del grado de desarrollo y apertura del foramen que presente la pieza. A mayor tamaño de la apertura del ápice, más posibilidad de crecimiento de nuevos vasos y células madre (20).

Por otra parte, según la ESE se considera exitoso el tratamiento cuando no hay dolor, signos ni síntomas de inflamación, existe curación de la lesión periapical, aumento del grosor y longitud radicular, respuesta positiva a las pruebas de sensibilidad, sin cambios de color en la pieza y nuevo ligamento periodontal alrededor de toda la raíz (111).

Los criterios anteriormente mencionados apuntan a un pronóstico ideal, sin embargo, los objetivos difícilmente pueden alcanzarse simultáneamente. De acuerdo a dos revisiones sistemáticas, la resolución de signos/síntomas y la reparación perirradicular es alcanzable en una probabilidad de 91-94%. Sin embargo, no siempre se observó aumento del ancho y longitud radicular, con una amplia gama de cambios porcentuales de 2,7-71,3% y 4-72,6% (112,113). Los factores causantes de esta falta de respuesta podrían ser, persistencia de biofilm bacteriano, características de la etiología, efecto de los irrigantes y diferencias en la angulación de la película radiográfica (24).

En las revisiones sistemáticas previamente citadas, se observó respuesta positiva a los test de vitalidad pulpar luego del tratamiento en un 50-60% de los casos publicados (24). Científicos establecen que no es un factor determinante para considerar exitoso el tratamiento ya que los tejidos blandos periodontales podrían responder a las pruebas pulpares al estar vascularizados e innervados (24).

5.7. Complicaciones en los REP

- Dolor

La respuesta dolorosa puede producirse durante o luego de los REP. Cuando se desarrolla en forma intraoperatoria, causada por la estimulación mecánica del tejido periapical, puede asociarse al bajo efecto anestésico y/o errores en la longitud de trabajo. Debe considerarse la utilización de anestésicos con buena permeabilidad, como mepivacaína al 3%, para mejorar el control del dolor durante el tratamiento.

El dolor entre sesiones suele ser causado por infección dentro del conducto o reinfección, en estos casos se debe nuevamente irrigar con abundante NaOCl y EDTA, medicar y sellar herméticamente la cavidad entre sesiones. Si el dolor continúa o se agrava y no se logra resolver, deben considerarse tratamientos alternativos, como la apexificación o exodoncia (24).

- Decoloración dentaria

La decoloración de los dientes tras procedimientos regenerativos puede deberse a distintas fases del tratamiento, como uso de pastas antibióticas, inducción de hemorragia perirradicular o colocación de materiales biocerámicos.

Como se detalló anteriormente, la minociclina se incorpora al tejido dentinario y sintetiza productos de oxidación. Por esto, si se utilizan pastas antibióticas se debe eliminar o sustituir la minociclina por otros antibióticos, o puede sellarse la cámara pulpar con adhesivo previo a la medicación, para minimizar el riesgo de tinción (114) .

Por otra parte, la inducción de una hemorragia periapical es un paso necesario en REP. La hemoglobina, la hematina o los eritrocitos de la sangre, penetran en los túbulos dentinarios y modifican el índice de refracción del diente. Para evitar

esto se debe colocar una matriz reabsorbible sobre el coagulo de sangre, manteniendo el sangrado debajo del límite amelocementario (114).

Los materiales utilizados como barrera coronal como el MTA pueden ser causantes de la decoloración dental debido a su composición, tal como óxidos de hierro, aluminio, magnesio y el óxido de bismuto. Las porosidades de los materiales a base de silicato de calcio atrapan pigmentos sanguíneos presentando elevado potencial de tinción, esto se previene modificando la composición de los biomateriales, reduciendo el óxido de bismuto o sustituyéndolo por ZrO_2 , que es lo que han realizado los fabricantes en los últimos años. Existen nuevos materiales, como Biodentine y Endosequence, que evitan la decoloración dentaria en comparación con el MTA (99,104).

- Calcificación

La calcificación del conducto en dientes tratados con REP es un problema común y ha sido definida como calcificación intracanal asociada a la revascularización (RAIC) (115). Este suceso se asocia a la formación de hueso ectópico y cementogénesis dentro de los conductos radiculares. Los cuerpos calcificados que se hallaron en los conductos radiculares se clasificaron en dos tipos: barrera calcificada u obliteración del conducto. En la primera, el tejido mineralizado se ubica a lo largo de la zona media de la raíz, dejando el resto del espacio del conducto visible, mientras que la segunda oblitera totalmente la luz del conducto (Fig. 13). Aunque la calcificación del conducto radicular no se considera un estado patológico, la calcificación excesiva impediría la vitalidad y/o función de los tejidos revascularizados y complicaría el tratamiento endodóntico si así estuviera indicado en el futuro. Su prevención continúa siendo incierta, no hay forma de controlar qué tipo de tejido forman las células madres provenientes de la zona perirradicular. Cuando ocurre, su tratamiento es innecesario a menos que el diente sea sintomático. Si no hay signos de alivio puede realizarse la endodoncia con acceso guiado, microcirugía endodóntica o incluso reimplante intencional. De lo contrario podría considerarse la extracción del diente (116).



Fig. 13: Caso clínico del estudio de Minju y Col. 2017 donde se observa que la RAIC es una condición progresiva. En la visita de seguimiento a los 8 meses se observa resolución de la radiolucidez apical, cierre del ápice y aparición de RAIC en el 1/3 medio del conducto radicular (flecha). En los seguimientos sucesivos a los 16 y 52 meses, el nivel de RAIC aumentó hasta llenar todo el espacio del conducto radicular, lo que resultó en obliteración total del espacio canalicular (116).

5.8. Causas del fracaso

Los tratamientos regenerativos presentan una tasa de éxito de 83,3-100%. Sin embargo, cuando ocurre el fracaso, generalmente se asocia al control inadecuado de la infección y/o reabsorción radicular post tratamientos.

Las piezas inmaduras presentan paredes dentinarias delgadas y foramen apical abierto, por tanto, al realizarse tratamientos regenerativos la limpieza del conducto se basa principalmente en la desinfección química. No se realiza una conformación mecánica propiamente dicha con el fin de evitar la eliminación excesiva de dentina, minimizando la resistencia y aumentando el riesgo a fractura. Sin embargo, debe considerarse que una preparación mecánica reducida puede dejar biopelícula bacteriana en los túbulos dentinarios y causar una infección persistente.

Otro motivo de reinfección es la falta de un sellado coronario adecuado, que no solo permite la filtración de microorganismos desde la cavidad oral al sistema de conductos, sino que perjudica la proliferación y diferenciación de las células madre, provocando inhibición de la reparación periapical y desarrollo radicular (24).

La reabsorción radicular es otra de las principales causas de fracaso de REP. Ésta, se asocia a casos de traumatismos. Los traumatismos graves del periodonto inducen

reabsorción radicular inflamatoria y pueden causar daño en la vaina epitelial de Hertwig y la papila apical, comprometiendo el resultado de tratamientos regenerativos (117).

5.9. Revisión sistemática de fracasos de REP

Recientemente, Almutairi y Col. 2019 publicaron una de las primeras revisiones sistemáticas de endodoncia regenerativa, donde analizan específicamente casos clínicos de REP que fracasaron. En este estudio, definen a un REP fallido como cualquier caso que requirió una intervención endodóntica adicional o extracción después de completar el procedimiento de REP inicial.

Entre los casos que fracasaron, y en relación a la etiología, los autores informan que el traumatismo dental comprometió el 59% de los casos, seguido de la presencia de dens evaginatus (30%). Se sugiere que el trauma dental causaba reabsorción radicular y puede inducir daño a la papila apical y a la vaina epitelial de de Hertwig, lo que puede conducir al fracaso del REP.

Por otra parte, la gran mayoría de los casos de REP fallidos fueron diagnosticados con necrosis y algún cuadro patológico perirradicular. La presencia de patología periapical establecida en casos de pulpa necrótica con un ápice inmaduro puede hacer que la desinfección de estos casos sea más desafiante y menos predecible. Este estudio indica que los signos y/o síntomas de infección persistente fue la principal demostración de falla de REP (79% de los casos).

Debe considerarse que múltiples casos de REP recibieron tratamiento de endodoncia debido a la incapacidad de lograr el sangrado dentro del conducto radicular. Estos casos no se consideraron REP fallidos y no se incluyeron en la revisión, sino como casos que fueron excluidos antes de completar el REP.

En resumen, esta revisión sistemática mostró que el 63% de los casos de REP fallidos se identificaron después de más de 1 año de seguimiento. La infección persistente fue la presentación principal en el 79% de los casos. Además, la apexificación con MTA fue el tratamiento endodóntico de elección en los casos que fracasaron y por tanto, requerían una intervención endodóntica adicional (118).

En 2022 Meschi y Col. realizaron una revisión sistemática y metaanálisis evaluando la efectividad de la revitalización en el tratamiento de dientes con periodontitis apical. Las tasas de supervivencia y éxito fueron favorables en todos los estudios incluidos y para todos los grupos; sin embargo, estos resultados no son confiables debido al bajo nivel

de certeza. Las tasas de éxito y supervivencia de los dientes permanentes revitalizados y tratados con endodoncia convencional no difirieron significativamente. La evidencia es escasa y de baja calidad, no puede formar una base sólida para respaldar la afirmación de que la revitalización es eficaz para tratar la periodontitis apical en dientes permanentes inmaduros. Desde la investigación, se necesita con urgencia ensayos clínicos de alta calidad realizados meticulosamente para aumentar la credibilidad clínica y de investigación en la revitalización del complejo dentinopulpar. Hasta que se disponga de evidencia confiable, éstos investigadores determinan que la revitalización sólo debe realizarse en casos correctamente indicados, con el consentimiento de los pacientes y debe verse como un último recurso para preservar los tejidos dentoalveolares (119).

5.10. REP en el diente permanente maduro

Inicialmente los tratamientos regenerativos surgieron como estrategia para ser aplicados en dientes inmaduros con la finalidad de lograr el desarrollo radicular interrumpido. Actualmente múltiples autores consideran que las indicaciones de los REP se extiendan a los dientes permanentes maduros para obtener todos los beneficios de los dientes vitales, como la inmunidad pulpar innata, reparación pulpar mediante la formación de dentina terciaria y la sensación de presión y dolor oclusal (120).

En 2019 Arslan y Col. realizaron un estudio que buscó comparar el éxito entre REP y CRCT en dientes permanentes maduros con necrosis. Los REP son una opción de tratamiento viable para dientes inmaduros necróticos con o sin periodontitis apical. Actualmente los resultados clínicos y radiográficos de este procedimiento en dientes maduros con radiolucidez periapical, han demostrado ser una opción de tratamiento. La evidencia que lo apoya es beneficiosa, aunque es limitada y se basa en casos clínicos (53).

En el estudio anteriormente mencionado, se utilizaron 46 dientes maduros necróticos con gran radiolucidez periapical. De éstos, 20 dientes se utilizaron para CRCT y 26 dientes para REP, seguidos de un correcto seguimiento clínico y evaluación radiográfica. Se encontraron resultados exitosos en 92.3% y 80% en los grupos de REP y CRCT, respectivamente. De los dientes tratados con REP, la mitad respondió positivamente al test eléctrico. Se concluyó que tienen el potencial de ser utilizados como una opción de tratamiento para los dientes maduros con grandes lesiones periapicales. Esto se debe a que presentan una tasa de éxito similar a CRCT (121).

Meza y Col. en 2019 reportaron el primer caso clínico de REP en un diente permanente maduro y asociado a un cuadro pulpar irreversible, utilizando células madre autólogas de la pulpa dental y fibrina rica en plaquetas leucocitarias (L-PRF). En la primera sesión clínica se procedió a la extracción del tejido pulpar propiamente dicho acompañado de la limpieza conformación y medicación de la pieza. En la segunda sesión clínica se utilizó la técnica de sangrado (estimulación del sangrado perirradicular) complementada con DPSCs autólogas inyectadas en el conducto y matriz L-PRF. A los 36 meses el examen radiológico mostró un área periapical normal, respuesta retardada a la prueba de frío y la prueba pulpar eléctrica positiva (120).

Para la aplicación de REP debe considerarse que el diente permanente maduro tiene condiciones diferentes a un diente inmaduro, dificultando la realización de tipos tradicionales de este tratamiento mediante técnica de sangrado. En primer lugar, a nivel perirradicular hay menos progenitores de células madre y el menor diámetro del foramen genera dificultad en la migración celular (120).

5.11. Otras indicaciones de REP

Saoud, Mistry, Kahler y Col. (2016) publicaron un artículo donde se realizó REP en dientes permanentes maduros traumatizados y con perforaciones radiculares. En este trabajo el procedimiento regenerativo se realizó en 3 casos clínicos. El primero presentaba fractura radicular horizontal, el segundo avulsión traumática con reabsorción radicular inflamatoria y posterior fractura radicular, y el tercero perforación radicular (122).

Tradicionalmente, el tratamiento aplicado en dientes traumatizados que resultaban en necrosis pulpar y reabsorciones inflamatorias era CRCT. Actualmente debido a los resultados de la Endodoncia Regenerativa, se ha comenzado a aplicar REP en estos dientes (122).

En dicho estudio, los 3 casos mostraron resolución de los signos/síntomas clínicos y reparación de las lesiones osteolíticas inflamatorias observadas radiográficamente. Por tanto, en estos casos se logra cumplir el objetivo principal establecido por la AAE. Ninguno de los dientes durante los controles mostró respuesta positiva a los test térmicos y eléctricos. Debe considerarse que dientes traumatizados pueden presentar daños en la vaina epitelial de Hertwig, dificultando el éxito y generando una respuesta al REP incierta. A pesar de esto, los autores concluyen por los resultados obtenidos, que los

REP tienen el potencial de tratar dientes con fracturas radiculares horizontales, avulsiones y reabsorción radicular inflamatoria (122).

6. Discusión

Anteriormente en piezas permanentes inmaduras con necrosis se utilizaba la técnica de apexificación con Ca(OH)_2 . En 1992 Cvek comprueba que la utilización de Ca(OH)_2 por tiempo prolongado dentro del conducto, generaba riesgo a fractura y debilitamiento dentinario. Es así que Torabinejad en los años 90 introduce el MTA como material biocerámico para la conformación de la barrera apical en la técnica de apexificación, logrando un mayor éxito (3,96,100). Este procedimiento logra un cierre apical, pero no estimula el desarrollo radicular en ancho o largo, interrumpiendo y no permitiendo la apexogénesis. Las limitaciones de la apexificación hacen que en el año 2001 surja la técnica de revitalización y endodoncia regenerativa (24,40).

La revitalización es un tratamiento que requiere de tres componentes básicos; células madre, señales moleculares y andamios biológicos. Este procedimiento permite el desarrollo radicular en dientes inmaduros que presentan necrosis. Busca la estimulación y creación de un microambiente apto, para que las células madre se puedan diferenciar, proliferar, crecer y formar un tejido tridimensional. Con este tratamiento se fomenta la apexogénesis, a diferencia de la apexificación en donde únicamente se forma una barrera apical (24,54).

Los REP presentan un resultado favorable en la resolución de signos/sintomas y en el desarrollo radicular en dientes permanentes inmaduros con necrosis. Sin embargo, la maduración radicular impredecible es una de las principales preocupaciones actuales en este tratamiento, así como la ausencia de regeneración del complejo dentinopulpar. Actualmente hay un sin número de casos clínicos reportados en donde se logra el éxito del tratamiento (24).

De acuerdo a lo observado en la mayoría de estudios histológicos debe destacarse que en la revitalización se da la reparación y no la regeneración, ya que dentro del conducto se forma un tejido que difiere al inicial (44,123). Múltiples autores han encontrado presencia de tejido conjuntivo fibroso, osteoide y cemento, pero ausencia de odontoblastos. A pesar de lo demostrado anteriormente, los estudios de Nakashima y Col. (2017) y Xuan y Col. (2018) (47,48) han demostrado la completa regeneración del

tejido pulpar. Estas terapias basadas en células enfrentan muchos retos al trasladarla a la clínica debido a la complejidad de procedimientos, tal como extirpación pulpar, cultivo celular, clasificación de poblaciones celulares, etc. generando limitaciones para su aplicación (24).

Las principales asociaciones de endodoncia a nivel mundial recomiendan un protocolo para el tratamiento de REP que requiera como mínimo dos sesiones clínicas, para permitir la acción antimicrobiana de un medicamento intraconducto (40). Múltiples autores destacan que el uso de medicación entre sesiones aumenta el tiempo de tratamiento y el número de visitas, aumentando el costo. Se ha observado que en una única sesión y sin medicación, también se logró el éxito del tratamiento (124–126). Se conoce que la clave del éxito para estos tratamientos es la correcta desinfección, debido a que la invasión bacteriana no permite la reparación de tejidos, diferenciación de las células madre y genera riesgo de reinfección. Por esto, la infección debe estar bajo control para asegurar el éxito del tratamiento (24).

El NaOCl es el irrigante más utilizado en endodoncia por sus propiedades y se presenta en diferentes concentraciones. En los REP debe utilizarse a baja concentración para evitar el daño a las células madre. La AAE recomienda la irrigación con NaOCl al 1,5%, ya que logra una correcta desinfección y es compatible con la supervivencia y proliferación de las SCAP (58).

Para lograr el saneamiento y desinfección del conducto se requiere la utilización de medicación intraconducto. La AAE recomienda el uso de pasta triantibiótica en una concentración no mayor a 1mg/ml para disminuir el daño a nivel de las células madre. Sin embargo, Gougousis y Col (2019) demuestran mediante un estudio in vitro que el Ca(OH)₂ es menos tóxico para las SCAP que la utilización de pastas antibióticas (127).

Las células utilizadas en la ingeniería de tejidos requieren un andamio biológico que proporcione integridad estructural hasta que el nuevo tejido sea autosustentable (42). En la mayoría de los casos de REP se ha utilizado el coágulo de sangre como andamio. Este es un enfoque sencillo y que no requiere aparatología específica o costosa, a diferencia del PRP o FRP, lo cual requieren extracción venosa de sangre del paciente y maquinaria particular para su centrifugado (24).

Inicialmente el MTA como material de obturación cervical presentaba desventajas, tal como complicaciones en su manipulación y decoloración coronaria. Los fabricantes

comienzan a reemplazar el óxido de bismuto (radioopacificador) por ZrO_2 , obteniendo mejores resultados estéticos (98). A pesar de esta mejora, continúa presentando desventajas, tal como el tiempo de fraguado prolongado (3-4hs). Hoy en día surge una nueva fórmula, el MTA Repair HP, en el cual reducen el tiempo de endurecimiento a 15 minutos (102). Por otra parte el Biodentine, tiene un tiempo de fraguado de 12 minutos aproximadamente y facilita su manipulación ya que se obtiene mediante la utilización de un amalgamador (128).

Otro biocerámico muy utilizado a base de nanopartículas, altamente bioactivo y que promueve la biomineralización es el EndoSequence. Inicialmente tenía una presentación comercial en masilla pronta para su utilización. Los autores destacaron como desventaja la contaminación cruzada ante la apertura del frasco en cada uso. Actualmente surge una nueva fórmula denominada EndoSequence® BC RRM-Fast, que tiene como ventaja fraguado rápido y administración en jeringa, sin requerir mezclas ni riesgo de contaminación cruzada. Este material puede utilizarse en el tratamiento de revitalización para la obturación cervical, aunque como desventaja no está presente en nuestro mercado nacional (129).

Inicialmente los tratamientos regenerativos surgieron para ser aplicados en dientes inmaduros con necrosis, con la finalidad de lograr el desarrollo radicular interrumpido. A pesar de esto, múltiples autores consideraron ampliar sus indicaciones y aplicarlo a dientes permanentes maduros para obtener ventajas tales como, inmunidad innata, reparación pulpar mediante formación de dentina terciaria y percepción sensorial (120). Es por esto que en 2019 Arslan y Col. realizaron un estudio donde comparan el éxito entre REP y CRCT en dientes maduros con necrosis, concluyendo que presentan un porcentaje de éxito similar y por tanto los REP son una opción de tratamiento para dientes maduros con grandes lesiones perirradicales (53).

7. Conclusiones

- El tratamiento de revitalización forma parte de la endodoncia regenerativa y es una opción de tratamiento para piezas permanentes inmaduras que han sufrido necrosis.
- La revitalización surge como un nuevo procedimiento que evita las desventajas de la apexificación y busca reestablecer el desarrollo radicular interrumpido.

- Este procedimiento requiere una primera cita para el saneado y medicación del conducto radicular. Y una segunda, para la formación de un andamio biológico que junto con las células madre y los factores de crecimiento, permitan el desarrollo radicular en longitud y ancho.
- La desinfección del conducto es uno de los pilares principales para el éxito del tratamiento. Se utilizan irrigantes como EDTA y NaOCl al 1,5% ya que son los menos citotóxicos.
- La medicación intraconducto más utilizada y recomendada por el menor daño a las células madre es el Ca(OH)_2 .
- Actualmente no existe un protocolo único y estandarizado para el tratamiento de revitalización. La guía para los endodoncistas es lo que establecen las principales asociaciones mundiales de endodoncia como la AAE y la ESE.
- En zonas estéticas debe considerarse utilizar como material de obturación cervical tal como Biodentine, Bio-C repair o endosequence en lugar de MTA, para disminuir el riesgo de tinción coronaria.
- Esta técnica no puede aplicarse en caso de requerir anclaje radicular.
- Este procedimiento es simple, puede realizarse fácilmente ya que no requiere aparatología costosa y evita riesgos de rechazo, aunque requiere un profesional capacitado.
- La revitalización resuelve los signos y síntomas de dolor, inflamación y las lesiones periapicales. Pero la mayoría de las técnicas no ha logrado regenerar el tejido pulpar, ya que el tejido que se forma dentro del conducto radicular es tejido conjuntivo similar al cemento, tejido óseo o ligamento periodontal.
- Hasta ahora únicamente se ha constatado la auténtica regeneración del tejido pulpar ante la extracción de células madre autólogas de dientes deciduos, y su posterior implantación en dientes traumatizados.
- La sólida evidencia científica que respalda el tema proporciona un mayor fundamento y confianza a los profesionales al aplicar la técnica en su práctica odontológica.

8. Referencias

1. Liu Q, Gao Y, He J. Stem Cells from the Apical Papilla (SCAPs): Past, Present, Prospects, and Challenges. *Biomedicines*. 2023 Jul 1;11(7).
2. Lin LM, Shimizu E, Gibbs JL, Loghin S, Ricucci D. Histologic and histobacteriologic observations of failed revascularization/revitalization therapy: A case report. *J Endod* [Internet]. 2014;40(2):291–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2013.08.024>
3. Cvek M. Prognosis of luxated non-vital maxillary incisors treated with calcium hydroxide and filled with gutta-percha. A retrospective clinical study. *Dent Traumatol*. 1992;8(2):45–55.
4. Lin LM, Ricucci D, Huang GTJ. Regeneration of the dentine-pulp complex with revitalization/revascularization therapy: Challenges and hopes. *Int Endod J*. 2014;47(8):713–24.
5. Staffoli S, Plotino G, Torrijos BGN, Grande NM, Bossù M, Gambarini G, et al. Regenerative endodontic procedures using contemporary endodontic materials. *Materials*. 2019;16(6):1–28.
6. Iwaya S, Ikawa M, Kubota M. Revascularization of an immature permanent tooth with apical periodontitis and sinus tract. *Dent Traumatol*. 2001;17(17):185–7.
7. Banchs F, Trope M. Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: New treatment protocol? *J Endod*. 2004;30(4):196–200.
8. Grant MJ, Booth A. A typology of reviews: An analysis of 14 review types and associated methodologies. *Health Info Libr J*. 2009 Jun;26(2):91–108.
9. Araújo PR de S, Silva LB, Neto AP dos S, Almeida de Arruda JA, Álvares PR, Sobral APV, et al. Pulp Revascularization: A Literature Review. *Open Dent J*. 2017;10(1):48–56.
10. Nygaard-Östby B, Hjortdal O. Tissue formation in the root canal following pulp removal. *Eur J Oral Sci*. 1971;79(3):333–49.
11. Ostby BN. The role of the blood clot in endodontic therapy. An experimental histologic study. *Acta Odontol Scand* [Internet]. 1961;19:324–53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14482575>
12. Rule DC, Winter GB. Root growth and apical repair subsequent to pulpal necrosis in children. *Br Dent J*. 1966 Jun;120(12):586–90.
13. Cvek M, Hollender L, Nord CE. Treatment of non-vital permanent incisors with calcium hydroxide. A clinical, microbiological and radiological evaluation of treatment in one sitting of teeth with mature or immature root. *Odontol Revy*. 1976;27(2):93–108.
14. Kandemir Demirci G, Kaval ME, Güneri P, Çalışkan MK. Treatment of immature teeth with nonvital pulps in adults: a prospective comparative clinical study comparing MTA with Ca(OH)₂. *Int Endod J*. 2020 Jan 1;53(1):5–18.

15. Soares y Goldberg. *Endodoncia Técnica y Fundamentos*. 2da ed. Buenos Aires, Argentina.: Editorial Médica Panamericana; 2012. 526 p.
16. Murray PE. Review of guidance for the selection of regenerative endodontics, apexogenesis, apexification, pulpotomy, and other endodontic treatments for immature permanent teeth. *Int Endod J*. 2023 Mar 1;56(S2):188–99.
17. Nör JE. Tooth regeneration in operative dentistry. *Oper Dent*. 2006;31(6):633–42.
18. Jo A, Mk B, He J, Andreasen FM, Andreasen\ J O, Jacobsen^ MKHL, et al. Endodontics & Dental Traumatology Replantation of 400 avulsed permanent incisors. 4. Factors related to periodontal ligament healing. *Endod Dent Traumatol*. 1995;11:76–89.
19. Lin LM, Ricucci D, Huang GTJ. Regeneration of the dentine-pulp complex with revitalization/revascularization therapy: Challenges and hopes. *Int Endod J*. 2014;47(8):713–24.
20. Staffoli S, Plotino G, Torrijos BGN, Grande NM, Bossù M, Gambarini G, et al. Regenerative endodontic procedures using contemporary endodontic materials. *Materials*. 2019;16(6):1–28.
21. Murray PE, Garcia-Godoy F, Hargreaves KM. Regenerative Endodontics: A Review of Current Status and a Call for Action. *J Endod*. 2007;33(4):377–90.
22. Nör JE. Tooth regeneration in operative dentistry. *Oper Dent*. 2006;31(6):633–42.
23. Diogenes A, Henr MA, Teixeira FB, Hargreaves KM. An update on clinical regenerative endodontics. *Endod Topics*. 2013;28:2–23.
24. Wei X, Yang M, Yue L, Huang D, Zhou X, Wang X, et al. Expert consensus on regenerative endodontic procedures. *Int J Oral Sci*. 2022 Dec 1;14(1).
25. Sedgley CM, Botero TM. Dental Stem Cells and Their Sources. *Dent Clin North Am*. 2012;56(3):549–61.
26. Thalakiriyawa DS, Dissanayaka WL. Advances in Regenerative Dentistry Approaches: An Update. *Int Dent J*. 2023;
27. Ducret M, Fabre H, Celle A, Mallein-Gerin F, Perrier-Groult E, Alliot-Licht B, et al. Current challenges in human tooth revitalization. *Biomed Mater Eng*. 2017;28(s1):S159–68.
28. Galler KM, Krastl G, Simon S, Gorp G, Van Meschi N, Lambrechts P. European Society of Endodontology Position Statement: Revitalization Procedures. *Int Endod J*. 2016;49(8):717–23.
29. American Association of Endodontists. AAE Clinical Considerations for a Regenerative Procedure. *Aae*. 2018. p. 1–6.
30. Wiley J, Sons AS, Diogenes A, Y MAH, Teixeira FB, Hargreaves KM. An update on clinical regenerative endodontics. *Br Dent J*. 2013;215(6):289–289.

31. Sedgley CM, Botero TM. Dental Stem Cells and Their Sources. *Dent Clin North Am.* 2012;56(3):549–61.
32. Gutmann James L LPE. Solución de problemas en Endodoncia. 5^a. Barcelona, España: Elsevier; 2012. 497 p.
33. Misako N, Koichiro I, Masashi M. Dental pulp stem cells and regeneration. *Endod Topics.* 2013;38–50.
34. Nakashima M, Nagasawa H, Yamada Y, Reddi AH. Regulatory role of transforming growth factor- β , bone morphogenetic protein-2, and protein-4 on gene expression of extracellular matrix proteins and differentiation of dental pulp cells. *Dev Biol J.* 1994;162(1):18–28.
35. Torabinejad M, Turman M. Revitalization of tooth with necrotic pulp and open apex by using platelet-rich plasma: A case report. *J Endod.* 2011;37(2):265–8.
36. Smith AJ, Murray PE, Sloan AJ, Matthews JB, Zhao S. Trans-dentinal stimulation of tertiary dentinogenesis. *Adv Dent Res.* 2001;15:51–4.
37. Smith AJ, Scheven BA, Takahashi Y, Ferracane JL, Shelton RM, Cooper PR. Dentine as a bioactive extracellular matrix. *Arch Oral Biol.* 2012;57(2):109–21.
38. Finkelman RD, Mohan S, Jennings JC, Taylor AK, Jepsen S, Baylink DJ. Quantitation of growth factors IGF-I, SGF/IGF-II, and TGF- β in human dentin. *J Bone Miner Res.* 1990;5(7):717–23.
39. Zhujiang A, Kim SG. Regenerative Endodontic Treatment of an Immature Necrotic Molar with Arrested Root Development by Using Recombinant Human Platelet-derived Growth Factor: A Case Report. *J Endod.* 2016 Jan 1;42(1):72–5.
40. Kim SG, Malek M, Sigurdsson A, Lin LM, Kahler B. Regenerative endodontics: a comprehensive review. *Int Endod J.* 2018;51(12):1367–88.
41. Raddall G, Mello I, Leung BM. Biomaterials and Scaffold Design Strategies for Regenerative Endodontic Therapy. *Front Bioeng Biotechnol.* 2019;7(November):1–13.
42. Casagrande L, Cordeiro MM, Nör SA, Nör JE. Dental pulp stem cells in regenerative dentistry. *Odont.* 2011;99(1):1–7.
43. Austah O, Joon R, Fath WM, Chrepa V, Diogenes A, Ezeldeen M, et al. Comprehensive Characterization of 2 Immature Teeth Treated with Regenerative Endodontic Procedures. *J Endod.* 2018 Dec 1;44(12):1802–11.
44. Martin G, Ricucci D, Gibbs JL, Lin LM. Histological findings of revascularized/revitalized immature permanent molar with apical periodontitis using platelet-rich plasma. *J Endod.* 2013;39(1):138–44.
45. Nosrat A, Kolahdouzan A, Hosseini F, Mehrizi EA, Verma P, Torabinejad M. Histologic outcomes of uninfected human immature teeth treated with regenerative endodontics: 2 case reports. *J Endod.* 2015 Oct 1;41(10):1725–9.

46. Torabinejad M, Alexander A, Vahdati SA, Grandhi A, Baylink D, Shabahang S. Effect of Residual Dental Pulp Tissue on Regeneration of Dentin-pulp Complex: An In Vivo Investigation. *J Endod.* 2018 Dec 1;44(12):1796–801.
47. Nakashima M, Iohara K, Murakami M, Nakamura H, Sato Y, Aiji Y, et al. Pulp regeneration by transplantation of dental pulp stem cells in pulpitis: a pilot clinical study. *Stem Cell Res Ther.* 2017 Mar 9;8(1).
48. Xuan K, Li B, Guo H, Sun W, Kou X, He X, et al. Deciduous autologous tooth stem cells regenerate dental pulp after implantation into injured teeth [Internet]. Vol. 10, *Sci. Transl. Med.* 2018. Available from: <http://stm.sciencemag.org/>
49. Siddiqui Z, Acevedo-Jake AM, Griffith A, Kadincesme N, Dabek K, Hindi D, et al. Cells and material-based strategies for regenerative endodontics. *Bioact Mat.* 2022 Aug 1;14:234–49.
50. Chen MYH, Chen KL, Chen CA, Tayebaty F, Rosenberg PA, Lin LM. Responses of immature permanent teeth with infected necrotic pulp tissue and apical periodontitis/abscess to revascularization procedures. *Int Endod J.* 2012;45(3):294–305.
51. Estefan BS, El Batouty KM, Nagy MM, Diogenes A. Influence of Age and Apical Diameter on the Success of Endodontic Regeneration Procedures. *J Endod.* 2016 Nov 1;42(11):1620–5.
52. Laureys WGM, Cuvelier CA, Dermaut LR, De Pauw GAM. The critical apical diameter to obtain regeneration of the pulp tissue after tooth transplantation, replantation, or regenerative endodontic treatment. *J Endod.* 2013 Jun;39(6):759–63.
53. Arslan H, Ahmed HMA, Şahin Y, Doğanay Yıldız E, Gündoğdu EC, Güven Y, et al. Regenerative Endodontic Procedures in Necrotic Mature Teeth with Periapical Radiolucencies: A Preliminary Randomized Clinical Study. *J Endod.* 2019 Jul 1;45(7):863–72.
54. Kenneth M. Hargreaves LouisHerman. *Vías de la pulpa.* 11^a. Barcelona, España: Elsevier; 2016. 1118 p.
55. Lin LM, Shimizu E, Gibbs JL, Loghin S, Ricucci D. Histologic and histobacteriologic observations of failed revascularization/revitalization therapy: A case report. *J Endod.* 2014;40(2):291–5.
56. Carlos Estrella. *Ciencia Endodóntica.* 1er ed. Vol. 1. 2005. 415–55 p.
57. Estrela C, Estrela CRA, Barbin EL, Spanó JCE, Marchesan MA, Pécora JD. Mechanism of action of sodium hypochlorite. *Braz Dent J.* 2002;13(2):113–7.
58. Chrepa BV. Regenerative Endodontic Therapy : A Treatment With Substantial Benefits. *AAE.* 2019;1:5–9.
59. Martin DE, De Almeida JFA, Henry MA, Khaing ZZ, Schmidt CE, Teixeira FB, et al. Concentration-dependent effect of sodium hypochlorite on stem cells of apical papilla survival and differentiation. *J Endod.* 2014 Jan;40(1):51–5.

60. Trevino EG, Patwardhan AN, Henry MA, Perry G, Dybdal-Hargreaves N, Hargreaves KM, et al. Effect of irrigants on the survival of human stem cells of the apical papilla in a platelet-rich plasma scaffold in human root tips. *J Endod.* 2011 Aug;37(8):1109–15.
61. Von der Fehr F, Östby N. Effect of edtac and sulfuric acid on root canal dentine. *OS, OM & OP* . 1963;16(2):199–205.
62. Serper A, Çalt S. The demineralizing effects of EDTA at different concentrations and pH. *J Endod.* 2002;28(7):501–2.
63. Wiley J, Sons AS, Diogenes A, Y MAH, Teixeira FB, Hargreaves KM. An update on clinical regenerative endodontics. *Br Dent J.* 2013;215(6):289–289.
64. Martinelli S, Alburquerque G, Silva L. Efecto del EDTAC y del ácido cítrico sobre la pared dentinaria. Variación del tiempo de exposición y la edad dentaria. *Odontoestomatología.* 2019;21(34):5–15.
65. Dds S, Dds A. Smear Layer Removal by EGTA. *J Endod.* 2000;26(August):459–61.
66. Ring KC, Murray PE, Namerow KN, Kuttler S, Garcia-Godoy F. The Comparison of the Effect of Endodontic Irrigation on Cell Adherence to Root Canal Dentine. *J Endod.* 2008;34(12):1474–9.
67. D. Divya, Saraswathi V. Naik, O. S. Raju, Bellal Shivani, N. Basappa, Archana P. Betur. Conceptual combination of disinfection in regenerative endodontics: Conventional versus laser-assisted disinfection. *J Conserv Dent.* 2021 Dec 8;24(3):252–9.
68. Haapasalo M, Shen Y, Wang Z, Gao Y. Irrigation in endodontics. *Br Dent J.* 2014;216(6):299–303.
69. Li YC, Kuan YH, Lee SS, Huang FM, Chang YC. Cytotoxicity and Genotoxicity of Chlorhexidine on Macrophages In Vitro. *Far Eastern Entomologist.* 2006;165:16.
70. Grossman LI. Sterilization of infected root canals. *Journal of the American Dental Association* . 1972;85(4):900–5.
71. Parhizkar A, Nojehdehian H, Asgary S. Triple antibiotic paste: momentous roles and applications in endodontics: a review. *Restor Dent Endod.* 2018;43(3):1–16.
72. Hoshino E, Kurihara-Ando N, Sato I, Uematsu H, Sato M, Kota K, et al. In-vitro antibacterial susceptibility of bacteria taken from infected root dentine to a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline. *Int Endod J.* 1996;29(2):125–30.
73. Sato I, Ando-Kurihara N, Kota K, Iwaku M, Hoshino E. Sterilization of infected root-canal dentine by topical application of a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline in situ. *Int Endod J.* 1996;29(2):118–24.
74. Banchs F, Trope M. Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: New treatment protocol? *J Endod.* 2004;30(4):196–200.

75. Kim JH, Kim Y, Shin SJ, Park JW, Jung IY. Tooth discoloration of immature permanent incisor associated with triple antibiotic therapy: A case report. *J Endod.* 2010;36(6):1086–91.
76. Kenneth M. Hargreaves LouisHBerman. *Vías de la pulpa.* 11^a. Editorial Elsevier España. 2016. 1118 p.
77. Kahler B, Mistry S, Moule A, Ringsmuth AK, Case P, Thomson A, et al. Revascularization outcomes: A prospective analysis of 16 consecutive cases. *J Endod.* 2014;40(3):333–8.
78. Gougousis K, Giannakoulas DG, Taraslia V, Agrafioti A, Anastasiadou E, Kontakiotis EG. Number of Dental Stem Cells on Root Canal Dentin after Application of Triple Antibiotic Paste or Calcium Hydroxide: An in Vitro Study. *Eur J Dent.* 2019;13(2):161–5.
79. Ruparel NB, Teixeira FB, Ferraz CCR, Diogenes A. Direct effect of intracanal medicaments on survival of stem cells of the apical papilla. *J Endod.* 2012;38(10):1372–5.
80. Žižka R, Šedý J, Gregor L, Voborná I. Discoloration after regenerative endodontic procedures: A critical review. Vol. 13, *Iranian Endodontic Journal.* Iranian Association of Endodontics; 2018. p. 278–84.
81. Jr JFS, Lopes HP. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide : a critical review. 1999;361–9.
82. Mohammadi Z, Dummer PMH. Properties and applications of calcium hydroxide in endodontics and dental traumatology. *Int Endod J.* 2011;44(8):697–730.
83. Cvek M, Hollender L, Nord CE. Treatment of non-vital permanent incisors with calcium hydroxide. VI. A clinical, microbiological and radiological evaluation of treatment in one sitting of teeth with mature or immature root. *Odontol Revy.* 1976;27(2):93–108.
84. American Association of Endodontists. *AAE Clinical Considerations for a Regenerative Procedure.* Aae. 2018. p. 1–6.
85. Lovelace TW, Henry MA, Hargreaves KM, Diogenes A. Evaluation of the delivery of mesenchymal stem cells into the root canal space of necrotic immature teeth after clinical regenerative endodontic procedure. *J Endod* [Internet]. 2011;37(2):133–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2010.10.009>
86. Saoud TM, Martin G, Chen YHM, Chen KL, Chen CA, Songtrakul K, et al. Treatment of Mature Permanent Teeth with Necrotic Pulps and Apical Periodontitis Using Regenerative Endodontic Procedures: A Case Series. *J Endod.* 2016 Jan 1;42(1):57–65.
87. Whitman DH, Berry RL, Green DM. Platelet gel: An autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery.* 1997;55(11):1294–9.

88. Torabinejad M, Turman M. Revitalization of tooth with necrotic pulp and open apex by using platelet-rich plasma: A case report. *J Endod* [Internet]. 2011;37(2):265–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2010.11.004>
89. Metlerska J, Fagogeni I, Nowicka A. Efficacy of Autologous Platelet Concentrates in Regenerative Endodontic Treatment: A Systematic Review of Human Studies. *J Endod* [Internet]. 2019;45(1):20-30.e1. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2018.09.003>
90. Bezgin T, Yilmaz AD, Celik BN, Kolsuz ME, Sonmez H. Efficacy of platelet-rich plasma as a scaffold in regenerative endodontic treatment. *J Endod* [Internet]. 2015;41(1):36–44. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2014.10.004>
91. Alejandra P, Guevara C, Rojas HS. Revascularización pulpar mediante la utilización de plasma rico en plaquetas autólogo o en combinación con una matriz colágena, como posibilidades terapéuticas para dientes con ápice abierto, pulpa necrótica y/o patología periapical. *Acta Odontológica Colombiana*. 2014;4(1):113–29.
92. Alagl A, Bedi S, Hassan K, AlHumaid J. Use of platelet-rich plasma for regeneration in non-vital immature permanent teeth: Clinical and cone-beam computed tomography evaluation. *Journal of International Medical Research*. 2017;45(2):583–93.
93. Laurens N, Koolwijk P, De Maat MP. Fibrin structure and wound healing. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2006;4:932–9.
94. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part I: Technological concepts and evolution. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*. 2006;101(3).
95. Sanz JL, Rodríguez-Lozano FJ, Llena C, Sauro S, Forner L. Bioactivity of bioceramic materials used in the dentin-pulp complex therapy: A systematic review. *Materials*. 2019;12(7):1–30.
96. Torabinejad M, Hong CU, McDonald F, Pitt Ford TR. Physical and chemical properties of a new root-end filling material. *J Endod*. 1995;21(7):349–53.
97. Parioikh M, Torabinejad M, Dummer PMH. Mineral trioxide aggregate and other bioactive endodontic cements: an updated overview – part I: vital pulp therapy. *Int Endod J*. 2018;51(2):177–205.
98. Kang SH, Shin YS, Lee HS, Kim SO, Shin Y, Jung IY, et al. Color Changes of Teeth after Treatment with Various Mineral Trioxide Aggregate-based Materials: An Ex Vivo Study. *J Endod*. 2015 May 1;41(5):737–41.
99. Kang SH, Shin YS, Lee HS, Kim SO, Shin Y, Jung IY, et al. Color Changes of Teeth after Treatment with Various Mineral Trioxide Aggregate-based Materials: An Ex Vivo Study. *J Endod*. 2015 May 1;41(5):737–41.

100. Torabinejad M, Watson TF, Pitt Ford TR. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate when used as a root end filling material. *J Endod.* 1993;19(12):591–5.
101. Torabinejad M, Parirokh M, Dummer PMH. Mineral trioxide aggregate and other bioactive endodontic cements: an updated overview – part II: other clinical applications and complications. *Int Endod J.* 2018;51(3):284–317.
102. Guimarães BM, Prati C, Duarte MAH, Bramante CM, Gandolfi MG. Physicochemical properties of calcium silicate-based formulations MTA repair HP and MTA vitalcem. *Journal of Applied Oral Science.* 2018;26:1–8.
103. Daltoé MO, Paula-Silva FWG, Faccioli LH, Gatón-Hernández PM, De Rossi A, Silva LAB. Expression of mineralization markers during pulp response to biodentine and mineral trioxide aggregate. *J Endod.* 2016;42(4):596–603.
104. Shokouhinejad N, Nekoofar MH, Pirmoazen S, Shamshiri AR, Dummer PMH. Evaluation and Comparison of Occurrence of Tooth Discoloration after the Application of Various Calcium Silicate-based Cements: An Ex Vivo Study. *J Endod.* 2016 Jan 1;42(1):140–4.
105. Koubi G, Colon P, Franquin JC, Hartmann A, Richard G, Faure MO, et al. Clinical evaluation of the performance and safety of a new dentine substitute, Biodentine, in the restoration of posterior teeth - a prospective study. *Clin Oral Investig.* 2013;17(1):243–9.
106. Laurent P, Camps J, About I. Biodentine TM induces TGF- β 1 release from human pulp cells and early dental pulp mineralization. *Int Endod J.* 2012;45(5):439–48.
107. Al-Haddad A, Aziz ZACA. Bioceramic-Based Root Canal Sealers: A Review. Vol. 2016, *International Journal of Biomaterials.* Hindawi Limited; 2016.
108. www.brasselerusadental.com.
109. www.angelus.ind.br.
110. dos Reis-Prado AH, Abreu LG, Fagundes RR, Oliveira S de C, Bottino MC, Ribeiro-Sobrinho AP, et al. Influence of ethylenediaminetetraacetic acid on regenerative endodontics: A systematic review. Vol. 55, *International Endodontic Journal.* John Wiley and Sons Inc; 2022. p. 579–612.
111. Galler KM, Krastl G, Simon S, Gorp G, Van Meschi N, Lambrechts P. European Society of Endodontology Position Statement: Revitalization Procedures. *Int Endod J.* 2016;49(8):717–23.
112. Tong HJ, Rajan S, Bhujel N, Kang J, Duggal M, Nazzal H. Regenerative Endodontic Therapy in the Management of Nonvital Immature Permanent Teeth: A Systematic Review—Outcome Evaluation and Meta-analysis. Vol. 43, *Journal of Endodontics.* Elsevier Inc.; 2017. p. 1453–64.
113. Torabinejad M, Nosrat A, Verma P, Udochukwu O. Regenerative Endodontic Treatment or Mineral Trioxide Aggregate Apical Plug in Teeth with Necrotic Pulp

- and Open Apices: A Systematic Review and Meta-analysis. Vol. 43, *Journal of Endodontics*. Elsevier Inc.; 2017. p. 1806–20.
114. P. D. Marin, P. M. Bartold, G. S. Heithersay. Tooth discoloration by blood: an *in vitro* histochemical study. *Dental Traumatology*. 1997;13(3):132–8.
 115. Song M, Cao Y, Shin SJ, Shon WJ, Chugal N, Kim RH, et al. Revascularization-associated Intracanal Calcification: Assessment of Prevalence and Contributing Factors. *J Endod*. 2017 Dec 1;43(12):2025–33.
 116. Song M, Cao Y, Shin SJ, Shon WJ, Chugal N, Kim RH, et al. Revascularization-associated Intracanal Calcification: Assessment of Prevalence and Contributing Factors. *J Endod*. 2017 Dec 1;43(12):2025–33.
 117. Wikström A, Brundin M, Lopes MF, El Sayed M, Tsilingaridis G. What is the best long-term treatment modality for immature permanent teeth with pulp necrosis and apical periodontitis? Vol. 22, *European Archives of Paediatric Dentistry*. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH; 2021. p. 311–40.
 118. Almutairi W, Yassen GH, Aminoshariae A, Williams KA, Mickel A. Regenerative Endodontics: A Systematic Analysis of the Failed Cases. *J Endod*. 2019 May 1;45(5):567–77.
 119. Meschi N, Palma PJ, Cabanillas-Balsera D. Effectiveness of revitalization in treating apical periodontitis: A systematic review and meta-analysis. Vol. 56, *International Endodontic Journal*. John Wiley and Sons Inc; 2023. p. 510–32.
 120. Meza G, Urrejola D, Saint Jean N, Inostroza C, López V, Khoury M, et al. Personalized Cell Therapy for Pulpitis Using Autologous Dental Pulp Stem Cells and Leukocyte Platelet-rich Fibrin: A Case Report. *J Endod*. 2019 Feb 1;45(2):144–9.
 121. Arslan H, Ahmed HMA, Şahin Y, Doğanay Yıldız E, Gündoğdu EC, Güven Y, et al. Regenerative Endodontic Procedures in Necrotic Mature Teeth with Periapical Radiolucencies: A Preliminary Randomized Clinical Study. *J Endod*. 2019;45(7):863–72.
 122. Saoud TMA, Mistry S, Kahler B, Sigurdsson A, Lin LM. Regenerative Endodontic Procedures for Traumatized Teeth after Horizontal Root Fracture, Avulsion, and Perforating Root Resorption. *J Endod* [Internet]. 2016;42(10):1476–82. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2016.04.028>
 123. Austah O, Joon R, Fath WM, Chrepa V, Diogenes A, Ezeldeen M, et al. Comprehensive Characterization of 2 Immature Teeth Treated with Regenerative Endodontic Procedures. *J Endod*. 2018 Dec 1;44(12):1802–11.
 124. Shin SY, Albert JS, Mortman RE. One step pulp revascularization treatment of an immature permanent tooth with chronic apical abscess: A case report. *Int Endod J*. 2009;42(12):1118–26.
 125. McCabe P. Revascularization of an immature tooth with apical periodontitis using a single visit protocol: A case report. *Int Endod J*. 2015;48(5):484–97.

126. Chaniotis A. The use of a single-step regenerative approach for the treatment of a replanted mandibular central incisor with severe resorption. *Int Endod J.* 2016;49(8):802–12.
127. Gougousis K, Giannakoulas DG, Taraslia V, Agrafioti A, Anastasiadou E, Kontakiotis EG. Number of Dental Stem Cells on Root Canal Dentin after Application of Triple Antibiotic Paste or Calcium Hydroxide: An in Vitro Study. *Eur J Dent.* 2019;13(2):161–5.
128. Malkondu Ö, Kazandağ MK, Kazazoğlu E. A review on biodentine, a contemporary dentine replacement and repair material. *Biomed Res Int.* 2014;2014:10–20.
129. Rodríguez-Lozano F, López-García S, García-Bernal D, Tomás-Catalá C, Santos J, LLena C, et al. Chemical composition and bioactivity potential of the new Endosequence BC Sealer formulation HiFlow. *Int Endod J.* 2020;20–41.

9. Agradecimientos

- Agradezco a mi familia por siempre alentarme a superarme y acompañarme.
- A mi pareja por la paciencia que tuvo en el proceso de realización de este trabajo.
- A mi tutora Prof. Adj. Dra. Sylvia Martinelli por el tiempo dedicado, la paciencia, cada aporte y enseñanza brindada. Por acompañarme y guiarme en el camino desde mi trabajo final de grado, un año de ampliación de conocimientos, docente de especialidad y como compañera de cátedra.
- A mis profesoras: Adriana, Beatriz, Diana, Ines y Mariana por cada enseñanza y por acompañarme en todo el transcurso de la especialidad.
- A la docente Dra. María Noel Martínez por su tiempo y conocimientos en el área Histológica.
- A todo el equipo docente de endodoncia.
- A mis compañeros de especialidad.

Gracias a todos.