



**“ EVALUAR LA TASA DE ÉXITO DE LA TERAPIA DE
REGENERACIÓN PULPAR EN DIENTES MADUROS EN
COMPARACIÓN CON LA ENDODONCIA CONVENCIONAL:
UNA REVISIÓN SISTEMÁTICA DE LA LITERATURA”**

Trabajo de investigación

Requisito para optar al título de Especialista en Endodoncia

Residentes: Dra. Florencia Corvalán Miranda

Dra. Silvia Tapia Barraza

Directora de programa: Dra. Alicia Caro Molina

Docente guía: Dra. Alicia Caro Molina

Valparaíso- Chile

Diciembre 2021

ÍNDICE

MARCO TEÓRICO	5
Introducción	5
Marco teórico	6
1. Biología del complejo dentino-pulpar	6
2. Afección y respuesta general del complejo dentino- pulpar	11
3. Patologías pulpares y periapicales(21)	14
4. Tratamiento endodóntico convencional en diente permanente maduro	18
5. Terapias de endodoncia regenerativa	21
6. Ingeniería tisular	25
7. Terapia endodóntica regenerativa aplicada a dientes maduros	42
8. Desafíos en la terapia de endodoncia regenerativa en Adultos	44
9. Objetivos en procedimientos endodónticos regenerativos	46
10. Ventajas y desventajas de la terapia de revascularización	47
PRESENTACIÓN DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	49
Problema de investigación	49
Pregunta de investigación	50
Relevancia	51
OBJETIVOS DE INVESTIGACIÓN	52
Objetivo general	52
Objetivos específicos	52
MATERIALES Y MÉTODOS	53
Diseño de investigación	53

Búsqueda de la literatura	53
Selección de las bases de datos	53
Estrategias de búsquedas	53
Criterios de selección	55
Proceso de selección de los estudios	56
Evaluación del riesgo de sesgo, calidad y heterogeneidad de los estudios seleccionados	57
Evaluación de calidad	57
Riesgo de sesgo	58
Síntesis de resultados según heterogeneidad	58
Proceso de recolección / extracción de datos	59
RESULTADOS	60
Riesgo de sesgo	62
Número perdido durante el seguimiento	63
Resultados de la resolución de la sintomatología clínica y disminución de la imagen de la lesión periapical (resultado primario)	63
Resultado de la recuperación de la sensibilidad post tratamiento (resultado secundario)	64
Otros Resultados	65
DISCUSIÓN	66
CONCLUSIÓN	71
BIBLIOGRAFÍA	72

MARCO TEÓRICO

Introducción

Las causas de pérdida dentaria son diversas, pero las más prevalentes están asociadas a enfermedad periodontal, caries y traumatismos(1,2). Los dientes afectados por caries y trauma dentoalveolar, además de sufrir la pérdida de tejidos duros por desmineralización o fractura, se acompañan de un proceso infeccioso y/o inflamatorio que puede afectar irreversiblemente la pulpa dental.

Ante una lesión irreversible de la pulpa en el diente maduro, el tratamiento convencional es la endodoncia, tratamiento que consiste en la eliminación del tejido pulpar dañado con o sin restos necróticos, desinfección y sellado del sistema de conductos, permitiendo que el diente tratado se mantenga en boca asintomático pero desvitalizado, perdiendo las funciones fisiológicas (nutrición, inmunidad, sensibilidad, defensa dentinaria) que le confiere la pulpa dental. Mientras que en diente inmaduro estaba indicado hasta hace unos años la apexificación, tratamiento que ofrece limitada capacidad para continuar el desarrollo radicular, quedando un diente asintomático con raíz corta y de paredes frágiles. Por lo cual en el año 2001 Iwaya et al.(3) propone como alternativa la revascularización pulpar o endodoncia regenerativa, la cual es definida como los procedimientos biológicos diseñados para reemplazar fisiológicamente estructuras dañadas del diente, incluyendo la dentina y la raíz, así como las células del complejo pulpodentinario(4,5). Luego de unos años y debido al éxito reportado de esta terapia, la asociación americana (AAE) y europea (AEUE) la han propuesto como la primera opción de tratamiento en el diente permanente inmaduro(5,6). Y considerando sus ventajas, como relleno biológico y el desarrollo de nuevas estrategias clínicas a partir de la ingeniería tisular se ha ampliado su aplicación también en dientes maduros(7).

La evidencia emergente muestra que la aplicación de esta terapia en dientes maduros con pulpas necróticas puede ser exitoso, sin embargo, es necesario contar con evidencia basada en diseños de investigación clínica que valide el éxito de esta nueva propuesta terapéutica. Es por esto que en el presente trabajo tiene por objetivo identificar el éxito de la terapia de endodoncia regenerativa versus la endodoncia convencional en dientes permanentes maduros con necrosis pulpar en base al mejor nivel de evidencia disponible.

Marco teórico

1. Biología del complejo dentino-pulpar

Odontogénesis

La odontogénesis se define como el proceso embriológico que dará lugar a la formación del germen dental. En este proceso intervienen los tejidos embrionarios del mesodermo y ectodermo derivados de la cresta neural los que dan origen a la papila dental y consecuentemente, a los odontoblastos, cementoblastos y fibroblastos, mientras que el ectodermo da origen al órgano del esmalte y los ameloblastos(8).

El esmalte se forma a partir de los ameloblastos, estas células desaparecen tras la formación completa del tejido duro. Por otro lado, la dentina que también corresponde a uno de los mayores componentes mineralizados del tejido dentario, es producida por odontoblastos, sus células continúan existiendo durante toda la vida, así como también ocurre con el tejido pulpar(9) (Fig. 1). La pulpa se forma a partir de la papila dental que aporta células de tipo mesenquimáticas que se van diferenciando en los distintos tipos celulares (odontoblastos, fibroblastos, neuronas, glías, células dendríticas, entre otros) que componen el tejido pulpar tanto a nivel coronario como radicular(8).

Las fases de formación del diente se han separado en tres etapas: fase de brote, fase de caperuza y fase de campana. La fase de brote es aquella en que las células epiteliales de la lámina dental proliferan y producen una proyección con forma de brote en el ectomesénquima adyacente. (Fig.1a) La fase de caperuza o capuchón se alcanza cuando las células de la lámina dental han proliferado para formar una concavidad que produce un aspecto similar a una caperuza. Las células externas constituyen el epitelio externo del esmalte, mientras las de la parte interna corresponden al epitelio interno del esmalte. La zona interna corresponde a retículo estrellado y zona de papila dental(10) (Fig.1b).

En la fase de campana el ectomesénquima condensado que rodea el órgano de esmalte y al complejo de la papila dental queda rodeado por epitelio invaginado(11). (Fig.1c)

Desde la papila dental se induce la formación de dentina, esta papila se va poblando con vasos sanguíneos y fibras nerviosas, los que aportan nutrientes a los odontoblastos. Estos cambios celulares hacen que se forme una lámina dura alrededor de la papila dental, generándose finalmente el complejo dentinopulpar(8,12). (Fig. 2) (Fig.3)

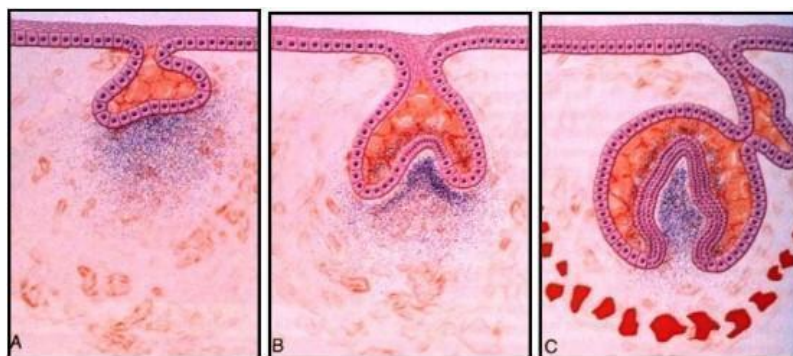


Fig. 1: Formación de los tejidos dentarios. (a) Fase de brote. (b) Fase de caperuza. (c) Fase de campana(11).

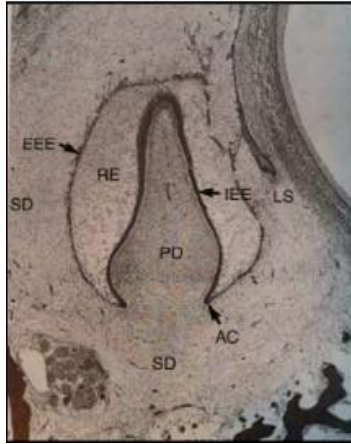


Fig. 2: Fase de campana del desarrollo dental que muestra epitelio externo del esmalte (EEE), retículo estrellado (RE), epitelio interno del esmalte (IEE), papila dental (PD) y otros elementos de la formación dentaria(11).

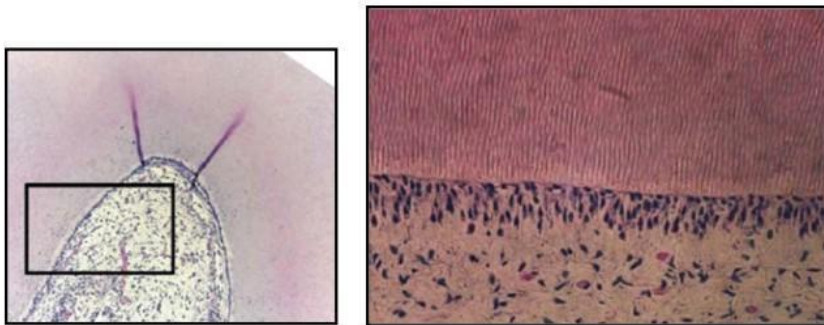


Fig. 3: (A) Imagen general de zona radicular relacionando complejo dentinopulpar. (B) Empalizada de odontoblastos, dentina y predentina. Zona más externa pulpar(12).

El desarrollo radicular comienza después de que la formación del esmalte y la dentina han alcanzado la futura unión cemento–adamantina. La raíz está formada por dentina y cubierta por cemento. Es necesaria la presencia de células epiteliales para iniciar la diferenciación de los odontoblastos que darán lugar a la dentina radicular(13). Las células epiteliales del epitelio dental interno y externo proliferan a partir del lazo cervical del órgano del esmalte para formar una capa doble de células conocida como la vaina radicular epitelial de Hertwig, que

determina el número, tamaño y forma de las raíces. El resto de las células epiteliales se extienden alrededor de la pulpa dental, dejando libre la zona basal de la pulpa, que posteriormente dará lugar al foramen apical(8).

Complejo dentinopulpar

La pulpa es un tejido conjuntivo laxo altamente innervado y vascularizado con funcionalidad neuro-inmunológica, que mantiene íntima relación con la dentina, la que la rodea y con la que conforma una unidad denominada complejo dentino-pulpar. La pulpa, que ocupa la cavidad central del diente, cámara pulpar y conducto radicular, se comunica con el ligamento periodontal a través del foramen apical o foraminas apicales, así como también por medio de eventuales conductos laterales, por los que pasan los elementos vasculares y nerviosos(14). (Fig.3)

Desde el punto de vista histológico, se asemeja a otros tejidos conjuntivos del cuerpo con funciones especializadas como es la síntesis de dentina. En la superficie de la pulpa, encontramos la capa de odontoblastos que corresponde a células especializadas en la producción de dentina. En condiciones de normalidad, la capacidad de síntesis de dentina de un odontoblasto maduro es limitada, activándose como respuesta a procesos patológicos, con la cual la pulpa puede reaccionar y protegerse frente a diferentes estímulos, así como para compensar las pérdidas de tejido(15).

Presenta una rica microvascularización que proporciona un alto flujo sanguíneo, constituyendo la base morfológica de la nutrición y de la capacidad reactiva del complejo dentino-pulpar. Encontramos además nervios sensitivos, mayormente a nivel pulpar, que permiten la recepción de los estímulos internos o externos. Se localizan a lo largo de toda la pulpa, principalmente en el plexo de Raschkow. La innervación es considerada doble, sensitiva y autónoma, a cargo de las fibras tipo A delta (amielínicas) y C (mielínicas), respectivamente; las fibras C son las fibras nerviosas que acompañan a las arteriolas. Las fibras A delta que

responden a estímulos de diferente origen, se ubican y acompañan principalmente la zona periférica de la pulpa. La respuesta de la pulpa frente a estímulos siempre es con dolor por la presencia de terminales nerviosas denudadas(8,9,11-14).

En la pulpa coronaria, la microcirculación e inervación más profusas, la mayor cantidad de células y el volumen mayor de odontoblastos, revelan un tejido más metabólico, por lo cual, corresponde a una zona más reactiva que la pulpa radicular(14).

A medida que avanza la edad, el volumen pulpar se reduce debido a la producción de dentina secundaria y generación eventual de dentina terciaria. El contenido de células disminuye, mientras aumenta en forma proporcional, la cantidad de colágeno. La circulación se reduce debido al estrechamiento de los accesos a través de los forámenes y procesos degenerativos vasculares.

La degeneración nerviosa y el aumento de calcificaciones distróficas completan el cuadro de envejecimiento del órgano dentino-pulpar, con disminución de su capacidad metabólica y de su potencial de reparación(14).

Anatómicamente, la pulpa dental está casi completamente cubierta por dentina. La única conexión entre la pulpa dental y el tejido adyacente es a través del pequeño foramen apical radicular. Todos los vasos sanguíneos de mayor calibre y los vasos linfáticos de la pulpa dental pasan a través de los ápices radiculares, lo que convierte al ápice en la vía principal de intercambio de nutrientes y desechos. En algunos casos, encontramos también pequeñas salidas laterales, localizadas cerca del foramen. Este acceso limitado y el ambiente cerrado de la pulpa dental hacen difícil controlar la inflamación una vez que esta ocurre(16).

2. Afección y respuesta general del complejo dentino- pulpar

Existen diversos factores que alteran al complejo dentino pulpar, siendo el más frecuente la invasión bacteriana. Estos agentes irritantes pueden producir modificaciones de los tejidos como inflamación e incluso pueden alcanzar la muerte pulpar.

La pulpa presenta algunos mecanismos de defensa asociados que le permiten limitar el daño ocasionado por los irritantes, entre éstos, la aposición de dentina terciaria y esclerótica. Pero, además, existen ciertos procedimientos que preservan la salud pulpar e intentan proveer una barrera contra los irritantes externos como la colocación de un protector pulpar. La protección dentinopulpar involucra todas las maniobras, sustancias y materiales que se utilizan durante la preparación y restauración cavitaria con la finalidad de preservar la vitalidad del diente(17).

Dentro de los irritantes pulpares encontramos los agentes bacterianos, químicos y físicos.

- Bacterianos: Los microorganismos que se han aislado de dientes que presentan caries dentales y sus subproductos actúan como agentes locales de afección del tejido dentino-pulpar.
- Químicos: Se describen dentro de este grupo los agentes antisépticos, desecantes, desensibilizantes cavitarios, materiales de protección y restauración.
- Físicos: Dentro de estos encontramos el calor friccional, desecación de la dentina, presión al condensar, contracción de polimerización de materiales restauradores, trauma inducido por sobrecarga oclusal, traumatismo dentoalveolar, láser, impresiones, cementación, entre otros.

La pulpa dental lesionada tiene un potencial limitado para la auto-recuperación. Si los estímulos son leves o progresan lentamente, como ocurre en los casos de caries leve, desgaste moderado, erosión o fractura superficial, los

odontoblastos generalmente pueden sobrevivir y continuar produciendo la barrera dentinaria debajo de la lesión, permitiendo que el tejido pulpar blando subyacente retenga su función. La estrategia esencial en estas situaciones es proteger los odontoblastos restantes(16).

Conceptualmente, se pueden producir dos tipos de dentina terciaria en respuesta a caries e irritaciones ambientales: "dentina reaccionaria" que es secretada por los odontoblastos primarios existentes y "dentina reparadora", formada después de la muerte de los odontoblastos por proliferación y diferenciación de células progenitoras en células parecidas a odontoblastos(18).

La evidencia histológica presentada por Ricucci et al. indica que la dentinogénesis reparadora no puede considerarse como un proceso regenerativo ya que el tejido duro así formado carece de características tubulares características de la dentina genuina. Más bien, este proceso representa una respuesta de reparación que produce tejidos cicatriciales calcificados por los fibroblastos pulpares (18).

Cuando los estímulos son fuertes y / o progresan rápidamente, como ocurre en caries de dentina profunda, abrasión severa y fractura, los odontoblastos primarios serán destruidos. En estos casos, los odontoblastos postmitóticos diferenciados terminalmente carecen de la capacidad de proliferar para reemplazar a los odontoblastos lesionados o de producir nueva dentina. En estas circunstancias, las células mesenquimales indiferenciadas dentro de la pulpa dental pueden diferenciarse en odontoblastos y secretar dentina reparadora(19). En estas circunstancias, las células mesenquimales indiferenciadas dentro de la pulpa dental pueden diferenciarse en odontoblastos y secretar dentina reparadora. Estas descripciones se ajustan al perfil de las células madre. Las células mesenquimales indiferenciadas dentro de la pulpa también tienen el potencial de diferenciarse en otros tipos de células, incluidos los fibroblastos, para reparar el tejido dañado de la pulpa blanda. La capacidad de estimular la diferenciación de las células madre en células similares a los odontoblastos, en lugar de los fibroblastos, es crítica en la reparación de la dentina(16).

La capacidad de estimular las células madres (células mesenquimáticas indiferenciadas), llevándolas a desarrollar odontoblastos, en vez de fibroblastos, es crítico en la reparación dentinaria(16), sin embargo es limitada.

La respuesta inflamatoria pulpar se compone de diversas reacciones vasculares y linfáticas, así como trastornos tisulares locales. Esta respuesta comprende el aumento de la permeabilidad capilar, deterioro tisular y necrosis. Puede presentarse de dos formas:

a) Respuesta inflamatoria aguda

Encontramos tres componentes principales: modificación del calibre de los vasos con una vasoconstricción local inicial y luego, vasodilatación, alteraciones en la estructura de la microvasculatura que modifican la permeabilidad y emigración de leucocitos al foco de lesión. Dentro del fenotipo celular, predominan los polimorfonucleares. Se produce liberación de mediadores químicos de la inflamación: histamina, serotonina, prostaglandinas, leucotrienos y otros(15).

b) *Respuesta inflamatoria crónica*

Si la inflamación no se resuelve en un lapso breve ésta se vuelve crónica. Comienza el proceso de reparación al mismo tiempo que se está produciendo el proceso inflamatorio. Si el irritante no se elimina completamente, entra en equilibrio con las defensas del cuerpo produciéndose el estado de cronicidad, que se caracteriza por la presencia de células distintas a las de la inflamación aguda, entre éstas encontramos linfocitos, macrófagos y células plasmáticas. El pH se torna más ácido y ya se puede observar la producción de anticuerpos. Por lo tanto, una inflamación crónica se caracteriza por infiltración de células mononucleares, destrucción tisular, intentos de reparación(15-17,20).

Tanto en caso de inflamación aguda como crónica, se produce un aumento de la presión intrapulpar, debido al edema por cierre de vasos linfáticos pudiendo llegar a la necrosis pulpar; deteniendo cualquier posibilidad de recuperación.

3. Patologías pulpaes y periapicales(21)

Pulpitis reversible

Es una inflamación leve del tejido pulpar, que puede revertirse con la eliminación de la causa.

Puede estar asintomático o sintomático, este último se caracteriza por dolor intenso pero pasajero, detonado por estímulos producto de los cambios térmicos. Su duración no perdura más allá del estímulo. El tratamiento se basa en el sellado o aislamiento de la dentina. Como maniobra preventiva, deben realizarse procedimientos operatorios o periodontales de forma cuidadosa(21).

Pulpitis irreversible

En este tipo de inflamación los signos y síntomas son más claros, y suelen ser severos, aunque también puede cursar asintomática, (pulpitis irreversible asintomática), y se asume que hubo una pulpitis irreversible cuando ya progresa a necrosis.

Cuando se presentan los pick de dolor, éste es intenso, sordo, localizado o difuso, que no cede a analgésicos, además cuando el diente se somete a cambios térmicos la respuesta es intensa y prolongada; puede presentarse con dolor a la percusión

El tratamiento convencional es la endodoncia; sin embargo, hoy en día se está evaluando como opción los tratamientos regeneradores(21).

Necrosis pulpar

Esta patología es cuando se destruye, tejido conjuntivo, vascular, nervioso, linfático y también componente celular; con esta descomposición la capacidad de reacción desaparece.

Esta patología es asintomática. El tratamiento de esta patología consiste en la endodoncia o bien, las terapias de regeneración si el caso lo amerita(21).

Periodontitis apical asintomática

Es una inflamación crónica de larga duración, que se manifiesta en el tejido apical por ensanchamiento del ligamento periodontal hasta la reabsorción de la lámina dura y hueso periapical. Ocurre por la progresión de la necrosis pulpar hacia los tejidos periapicales. Esta patología no presenta síntomas, Solo se observa radiográficamente en algunos casos y se comprueba con los test pulpares que nos arrojan resultados negativos.

Al realizar el tratamiento de endodoncia se eliminan todas las noxas del conducto y la patología desaparece(21).

Periodontitis apical sintomática

Esta patología también es consecuencia de la necrosis pulpar que con sus toxinas bacterianas inflama los tejidos periapicales, también puede ser causa de irritantes químicos, sobre instrumentación, trauma oclusal.

Puede presentar dolores moderados a intensos al palpar o percutir y dolor al morder. Solo podemos saber si es producto de una pulpitis o de una necrosis a través de aplicación de test pulpares.

Radiográficamente, se observa ensanchamiento del ligamento periodontal o no se observa ninguna alteración. El tratamiento va desde el alivio oclusal hasta la supresión de los irritantes provenientes de la pulpa(21).

Absceso apical agudo

Esta condición se debe a una lesión por licuefacción localizada o difusa, también se presenta a consecuencia de los irritantes bacterianos provenientes de la pulpa.

Ocurre una aparición violenta de la sintomatología dolorosa, básicamente dolor a la palpación y percusión muy agudo, acompañado en muchos casos por hinchazón facial; ésta no está presente si la inflamación se limita a los tejidos óseos. Como es una inflamación de gran envergadura puede acompañarse de sintomatología sistémica, como hiperemia, malestar y desviación del hemograma que nos indica infección.

Radiográficamente, puede observarse desde solo un aumento en la línea del ligamento periodontal hasta una gran zona radiolúcida.

El tratamiento es una endodoncia que elimine los irritantes que ha producido la necrosis, acompañado de un drenaje vía conducto si es posible, o un drenaje quirúrgico si es necesario(21).

Absceso apical crónico

Patología ocasionada por la licuefacción apical causada por necrosis pulpar, que se ha mantenido en el tiempo con un drenaje activo hacia la cavidad oral, vía fístula o drenaje a través del ligamento periodontal, asintomática.

El tratamiento suele ser solamente ortógrado, o incluso ser acompañado de cirugía apical debido a la extensión de la lesión que ha permitido destruir suficiente tabla ósea para ello(21).

Osteítis condensante

Condición causada por inflamación o necrosis de los tejidos pulpares, que al igual que las otras patologías anteriormente señaladas se debe al ingreso al ápice de irritantes proveniente de la pulpa, se observa una disminución en el trabeculado óseo apical.

Radiográficamente se puede observar un aumento en la radiopacidad apical en forma concéntrica, a veces puede cursar con sintomatología dolorosa leve presente a la percusión y palpación. Suele desaparecer cuando se realiza la endodoncia(21).

Diagnóstico

Diagnosticar en odontología debe necesariamente incluir una buena anamnesis, un buen examen clínico y exámenes complementarios que permitan al odontólogo llegar a establecer lo que es o no es normal para un determinado tejido. Lo anterior es extrapolable al diagnóstico pulpar.

Dentro de los exámenes para determinar la sensibilidad pulpar, el examen complementario primordial es el test de sensibilidad o vitalidad. Estos test de sensibilidad solo miden la capacidad de respuestas de un diente desde el punto de vista nervioso, en cambio los que miden vitalidad, miden flujo sanguíneo. Las pruebas de sensibilidad proveen de una precisión diagnóstica aceptable, aunque en algunos casos se obtienen falso positivos o falsos negativos(22).

Dentro de los test de sensibilidad existen los térmicos y eléctricos, y dentro de los de vitalidad están los test de flujometría láser doppler y los de oximetría de pulso. Los más utilizados son los test térmicos y eléctricos a pesar de sus limitaciones. Dentro de las limitaciones encontramos:

- No existe correlación con el estado histológico de la pulpa, pues miden respuesta nerviosa y no flujo sanguíneo.
- La falta de reproductividad debido a la diferencia en las respuestas de distintos días o incluso de diferentes horas del día, entre otros.

Ante las pruebas térmicas y eléctricas el diente puede responder en forma normal, aumentada, disminuida o no tener respuesta. La decisión de utilizar el test frío o de calor se debe basar en el motivo de consulta del paciente. Por ejemplo, si un paciente no relata dolor a los cambios de temperatura, el test más confiable para estos casos sería el test de frío; en cambio, las pruebas de calor nos serán útiles cuando el motivo de consulta del paciente es un dolor dental intenso al ingerir alimentos calientes, o también cuando el paciente es incapaz de localizar el dolor(23).

4. Tratamiento endodóntico convencional en diente permanente maduro

La endodoncia dentro de su ámbito incluye el diagnóstico diferencial y diferentes tratamientos como por ejemplo: mantener la vitalidad del complejo pulpar, actos quirúrgicos en los que eliminan los tejidos inflamatorios del periápice que aparecen producto de la patología pulpar, resección apical, hemisección, radicectomía, afectación pulpar a causa de traumatismos, reimplante de dientes avulsionados, blanqueamiento dental, retratamiento de dientes que han mostrado fracaso a un tratamiento endodóntico previo y restaurar la corona dental con el uso de pernos y muñones(10).

El objetivo de la endodoncia convencional es prevenir futuras lesiones pulpares y periodontales tratando las ya instauradas. Este procedimiento consiste en la extirpación de la pulpa presente en la cavidad dentaria cameral y sistema de canales radiculares, luego la desinfección y conformación de estos canales, para finalmente ser rellenados con un material biocompatible e inerte, con el fin de mantener el diente en la cavidad oral. La gutapercha, el material central más popular, usado para la obturación, tiene como mayor desventaja la falta de adhesión a la dentina. Es de suma importancia restaurarlo adecuadamente posterior a la endodoncia, para asegurar su sellado coronal e impedir la filtración bacteriana(24).

El éxito del tratamiento de los conductos radiculares se basa en principios que incluyen el diagnóstico y la planificación del tratamiento, el conocimiento de la anatomía y la morfología, los conceptos tradicionales de desbridamiento, desinfección exhaustiva y obturación, y la restauración coronal(25). Con un tratamiento endodóntico exitoso, los cambios inflamatorios perirradiculares se resuelven y las estructuras óseas y periodontales se regeneran alrededor del ápice del diente. Para que estos cambios sean radiográficamente aparentes, debe haber una remineralización adecuada del hueso que puede ocurrir durante un período prolongado de tiempo. Reconociendo esto, la AAE tomó la iniciativa de revisar los

criterios existentes utilizados en endodoncia y los comparó con las medidas de resultado utilizadas por otras especialidades. Posteriormente, la organización definió los términos para la evaluación de resultados utilizando medidas válidas que son apropiadas para la endodoncia. Como alternativa a los criterios de Strindberg ampliamente utilizados, se aprobaron las nuevas definiciones(26).

- Sanado - Funcional: Dientes asintomáticos con mínima o sin patología perirradicular radiográfica.
- No sanado - No funcional: Diente sintomático con o sin patología periradicular radiográfica.
- Sanado: Dientes con patología periradicular que son asintomáticos y funcionales, o dientes que tienen o no patología periradicular radiográfica, que son sintomáticos pero su funcionalidad no está alterada.
- Funcional: un diente o raíz tratada que cumple el propósito previsto por la dentición.

A pesar de que el éxito en la endodoncia es alto, debido a avances técnicos en la terapia y en los materiales dentales(27), pudiendo llegar al 97%(28), cabe destacar que el hecho de eliminar el tejido del complejo pulpar implica consecuencias indeseables:

- Imposibilidad de percibir el avance de la caries por pérdida de sensibilidad pulpar.
- Imposibilidad de producir dentina reparativa.
- Supresión del desarrollo radicular del diente (dientes inmaduros)
- El diente es más sensible a las fuerzas masticatorias debido a una alteración en la sensibilidad dentaria.

Existe un porcentaje no menor en el que se requerirá retratamiento, cirugía apical o extracción debido al fracaso del tratamiento convencional. Debe reconocerse que el resultado de la terapia del conducto radicular no es solo una cuestión de qué tan bien se manejan tecnológicamente los conductos radiculares. De hecho, la terapia endodóntica es principalmente un problema de

infección(29,30). La constatación de que la infección endodóntica a menudo está mediada por biopelículas ha subrayado los difíciles problemas microbianos que enfrentan los endodoncistas en la terapia del conducto radicular(31,32). Si bien el procedimiento de instrumentación puede alcanzar la longitud total de un conducto radicular, los elementos infecciosos pueden dejarse en áreas donde no es posible acceder a instrumentos y soluciones desinfectantes. Con frecuencia se ha demostrado que la circunferencia del canal no se limpiará en su totalidad y que se pueden dejar áreas sustanciales, especialmente apicalmente, sin que se aborde adecuadamente el procedimiento de preparación(33-35). Por lo tanto, dicho mecanismo puede explicar por qué incluso los conductos radiculares que parecen estar bien preparados no siempre logran un resultado de tratamiento exitoso.

Numerosos estudios han resaltado que las bacterias no solo se adhieren a las paredes de los conductos radiculares, sino que también existen en aletas, ramificaciones, canales laterales y túbulos dentinarios donde pueden resistir las medidas destinadas a su eliminación. La tecnología para llenar los conductos radiculares además no es perfecta, y pueden aparecer espacios a lo largo del relleno de la raíz que son lo suficientemente grandes como para permitir la comunicación de las bacterias del conducto radicular con el tejido periapical para provocar lesiones inflamatorias periapicales posteriores al tratamiento.

Es por lo anterior que nace la necesidad de buscar una alternativa de tratamiento para lograr conservar las características fisiológicas y mecánicas de un diente vital con un relleno biológico del sistema de conductos radiculares y así mejorar el pronóstico del diente en boca.

5. Terapias de endodoncia regenerativa

La endodoncia regenerativa o revascularización del complejo pulpo dentinario se ha definido como el “*Proceso basado en la biología designado para reemplazar estructuras dañadas, incluyendo dentina y raíz dentaria, así como también células del complejo dentino-pulpar*” a través de tejidos viables, preferentemente del mismo origen, que permiten restaurar las funciones fisiológicas normales del complejo dentino-pulpar(36).

El concepto de revascularización *per se* no es nuevo. Por más de 50 años, los clínicos han evaluado métodos basados en la biología para restaurar el tejido dentinopulpar dañado de dientes que presentan diagnóstico de necrosis provocado por traumatismo dentoalveolar o caries(37,38).

Este término de “revascularización” ha sido utilizado justificando la posibilidad de una neoformación de vasos sanguíneos y tejido nervioso a nivel periapical y dentro del sistema de conductos radiculares, favoreciendo la respuesta de células pulpares vitales remanentes en la porción apical del conducto radicular, capaces de migrar al interior de éste, restableciendo un tejido pulpar funcional y llevando a la progresión de la formación radicular(39,40).

Sin embargo, en la actualidad, se sabe que los tejidos regenerados pueden originarse a partir de cemento, ligamento periodontal, hueso, dentina, e incluso, nuevo tejido pulpar, restaurando las propiedades funcionales del diente y permitiendo el desarrollo completo radicular, resolviendo, además, cuadros periodontales. Por lo anterior se ha sugerido utilizar el término de “madurogénesis”(41).

Esta técnica fue introducida por Ostby en el año 1961 que mostró que podría promoverse nueva vascularización en casos de dientes con necrosis pulpar y lesión periapical a través de la inducción de la formación de un coágulo en el

tercio apical del conducto radicular desinfectado, sobrepasando una lima antes de obturarlo(42).

En el año 1966 Rule y Winter, documentaron el desarrollo radicular y la formación de una barrera apical en casos de necrosis pulpar en dientes permanentes jóvenes. En 1972, Ham y colaboradores, demostraron desarrollo apical completo en dientes inmaduros despulpados en monos. Se cree que para lograr la revascularización se necesita desarrollar un tejido de granulación normal y estéril, con el fin de estimular a las células mesenquimáticas del periápice, buscando la aposición de material calcificado tanto a nivel del ápice como en las paredes laterales dentinarias(11,37,43).

En el año 2001, Iwaya y colaboradores describió la revascularización en casos con pulpa necrótica y absceso apical crónico, mostrando radiográficamente, después de 30 días, un engrosamiento de las paredes del conducto radicular con tejido mineralizado, una respuesta positiva a pruebas de sensibilidad y conformación completa de la raíz después de 30 meses(7).

En el 2004, Banchs y Trope, basados en el tratamiento de un premolar inferior inmaduro con ápice abierto y lesión amplia, señalaron que era posible la regeneración del tejido pulpar en un diente necrótico infectado con periodontitis apical(43).

La base de la terapia está fundamentada en la preservación del potencial de las células madre pulpares y las células mesenquimáticas de la papila apical. Lo anterior se definió a partir de la documentación de supervivencia de células madre vitales a pesar de la existencia de cuadros necróticos pulpar e incluso, frente a presencia de infección perirradicular(11).

En el 2011, un estudio mostró que un número substancial de células madre mesenquimáticas indiferenciadas, son liberadas dentro del sistema de conductos luego de los procedimientos regenerativos endodónticos (REPs). Este hallazgo representa un punto crucial, ya que los protocolos de REPs anteriores, apuntaban

a proveer el máximo de desinfección, sin considerar el impacto sobre las células madre(44).

En 2012, Shimizu realizó el procedimiento de revascularización en un incisivo central superior; a las tres semanas y media extrajo la pieza debido a fractura para valorarla por técnica histológica e inmunohistoquímica, encontrando tejido conectivo laxo con pocas fibras colágenas dentro del conducto, ausencia de células inflamatorias y presencia de fibroblastos jóvenes o células mesenquimatosas fusiformes en el conducto y el periápice; cierta cantidad de vasos sanguíneos y ausencia de fibras nerviosas. El tejido laxo era similar a un tejido pulpar inmaduro(45).

Ese mismo año, un estudio retrospectivo tuvo como objetivo comparar directamente los resultados clínicos de la apexificación y los REPs, este estudio fue el primero en comparar ambos procedimientos realizados bajo protocolos estandarizados e incluyó procedimientos de apexificación realizado con MTA como tapón apical o con terapias a largo plazo de hidróxido de calcio. La resolución del proceso de la enfermedad (sin dolor, hinchazón o sinusitis) se encontró en el 100% de los REPs, el 95% de la apexificación de la MTA y el 77% de los casos de apexificación con hidróxido de calcio(46). Por otra parte, otro estudio retrospectivo que no incluyó la normalización de los protocolos de tratamiento encontró que los REPs promovían la cicatrización en el 79% de los pacientes tratados, mientras que los procedimientos de apexificación promovieron la cicatrización en el 100% de los pacientes(47).

En 2013, Martin, en un primer molar inferior extraído debido a fractura después de dos años de la revascularización, encontró histológicamente en los conductos un tejido mineralizado de naturaleza cementoide u osteoide, sin observar tejido pulpar caracterizado por células odontoblasticas polarizadas a lo largo del tejido mineralizado(48).

La endodoncia regenerativa contemporánea reconoce y sigue los principios de la bioingeniería con respecto a la interacción entre células madre, andamiajes

y factores de crecimiento(49). Se cree que estas células madre logran diferenciarse en odontoblastos que permiten la aposición de tejido dentinario. Además, se han documentado casos en que se han encontrado células pulpares vitales viables en la zona más apical del conducto a pesar de contar con un diagnóstico de necrosis pulpar(49,50).

Los procedimientos endodónticos regenerativos han nacido como un tratamiento alternativo a la endodoncia convencional, en donde además de curar la periodontitis apical, busca promover las funciones fisiológicas normales de la pulpa. Esto incluye el desarrollo radicular continuo, inmuno competencia y una nocicepción normal(52). La mantención de la viabilidad de las células remanentes pulpares y las células madre se considera como un punto crítico para alcanzar la maduración apical(38). El estudio de estas células y su utilización se ha llevado a cabo a través de la ingeniería tisular, que hoy en día es un área de mucha investigación(51).

Si bien el objetivo final de la revascularización es restablecer la vitalidad en dientes no vitales, la preocupación principal es reparar y regenerar los tejidos para mejorar el pronóstico, mediante la obtención de una matriz estéril en la cual las nuevas células puedan crecer, restableciéndose la vitalidad pulpar y logrando un crecimiento espacial completo y controlado del complejo dentinopulpar con un tamaño, morfología y funcionalidad apropiada(53).

6. Ingeniería tisular

Generalidades

Para poder comprender los fundamentos de la terapia de revascularización, es necesario conocer los principios básicos de la ingeniería tisular.

Ésta se define como un “campo multidisciplinario que involucra los conceptos de ingeniería y ciencias de la vida, hacia el desarrollo de principios biológicos que buscan restaurar, mantener o mejorar la función del tejido”(44). Y fue concebido por Langer y Vacanti a principios de los años 90 describiendo la técnica para la regeneración tisular biológica.

Se fundamenta en tres componentes básicos(16,54):

- Células madre que respondan a los factores de crecimiento.
- Matriz de andamiaje.
- Factores de crecimiento (moléculas de señalización)

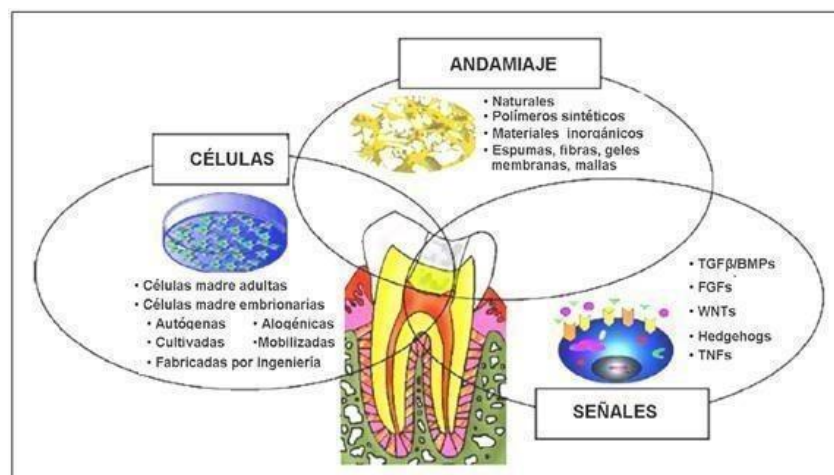


Fig.4 Componentes de la Regeneración Tisular(55).

Células Madre

Las células madre se definen como “Células indiferenciadas capaces de autorrenovarse y diferenciarse en múltiples linajes con varios grados de potencialidad y plasticidad”(48). Siendo uno de los elementos claves de la triada de la ingeniería tisular(16,36,51-57).

Las células madre tienen el potencial de renovarse a sí mismas durante largos períodos, a través de la división celular, y bajo ciertas condiciones fisiológicas o experimentales, pudiendo ser inducidas para convertirse en células con alguna función especial(54).

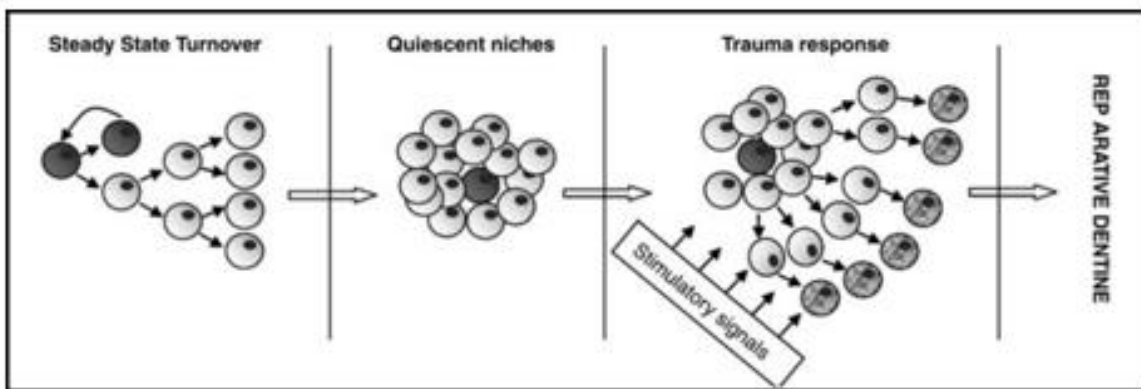


Fig.5: El nicho de células madre consiste en las verdaderas células madre rodeadas de células transitorias en amplificación. Las primeras tienen la capacidad de autorrenovarse cuando es necesario, las segundas son altamente proliferativas, pero requieren de estímulos de mayor intensidad y se limitan al tejido que comenzaron a formar(55).

El conjunto de células indiferenciadas representa como máximo el 1% de la población de células encontradas en la pulpa, sin embargo, son capaces de producir múltiples células diferenciadas como respuesta a señalización específicas extracelulares. Esta cantidad se reduce en la medida en que envejecemos, lo que refleja que los pacientes más jóvenes presenten una mayor tasa de reparación y regeneración(15,51,57-59).

Las células madre pueden ser clasificadas según su plasticidad y según su origen.

Según su plasticidad (capacidad o potencial de diferenciación)(64,67):

1. *Células madre totipotentes*: Pueden ser obtenidas y observadas en las primeras etapas del desarrollo embrionario, cuando el óvulo fecundado está en el proceso de segmentación o clivaje(68). Estas tienen la capacidad de constituir o crear nuevos embriones y formar un organismo completo, ya que pueden diferenciarse en cualquiera de los tipos celulares: tejido embrionario (ectodermo, mesodermo y endodermo) y tejido extraembrionario (placenta, amnios, saco vitelino, alantoides y corion)(69).
2. *Células madre pluripotentes*: Poseen la capacidad de diferenciarse en cualquiera de los tejidos o tipo de célula correspondiente a los 3 linajes embrionarios (endodermo, ectodermo y mesodermo), incluyendo las células sexuales o germinales, que componen un organismo adulto por consiguiente no pueden formar un organismo completo(69,70) y sólo pueden encontrarse en el desarrollo embrionario o por medio de inducción génica de las células somáticas(71).
3. *Células madre multipotentes*: Son aquellas capaces de generar células de su propia capa embrionaria, es decir, tejidos del endodermo, ectodermo y mesodermo(69,70,72). También se les denomina células madre órgano-específicas y pueden generar un órgano en su totalidad, sea en el embrión o en el individuo adulto Este tipo de células puede obtenerse de una gran variedad de fuentes(68).
4. *Células madre unipotentes*: A diferencia de los demás tipos de células madre, las unipotenciales, también llamadas oligopotenciales, presentan la menor potencialidad debido a que solo pueden especializarse a un solo linaje celular(73).

Según su lugar de origen o procedencia. (60,61,62)

1. *Células madre embrionarias*: Se encuentran en las primeras fases del desarrollo embrionario y son capaces de producir cualquier clase de célula del cuerpo; en otras palabras, son células pluripotenciales, ya que tienen la habilidad de transformarse en cualquier tipo funcional de los 3 linajes embrionarios(61).
2. *Células madre adultas o postnatales*: Se clasifican como células madre multipotenciales y unipotenciales(62). El papel de estas células es conservar y restaurar el tejido donde se encuentren; tienen la capacidad de autorenovarse y diferenciarse en la mayoría de los tejidos y órganos del cuerpo. Se ha demostrado que éstas migran al área de la lesión y se diferencian según necesidad(63).
3. *Células madre pluripotenciales inducidas (iPS)*: Este tipo de células madre pueden ser obtenidas de tejidos fetales o adultos. En la actualidad existen 2 procedimientos de reprogramación celular, que han permitido desarrollar células madre con características similares a las CME. La primera técnica desarrollada es conocida como *somatic cell nuclear transfer*, también denominada clonación. Esta consiste en trasplantar un núcleo de una célula somática o célula diferenciada en un óvulo ya desnucleado(64). La segunda técnica consiste en reprogramar células somáticas a iPS, introduciendo 4 genes específicos de células madre (Oct3/4, Sox2, Klf4, y c-Myc), que son los responsables de controlar el proceso de diferenciación y de esta manera reprogramar la célula diferenciada a una célula madre pluripotente(65,66).

Debido a que el uso e investigación de células madre embrionarias humanas es controversial(74) y presenta un componente de tipo ético y legal complejo, muchos investigadores se han enfocado en el desarrollo de células postnatales obtenidas a partir de los mismos pacientes o sus parientes. Éstas se clasifican a partir de su origen en(36,54) :

- Células autólogas: obtenidas del individuo mismo que será intervenido.

- Células alogénicas: obtenidas a partir de un individuo de la misma especie.
- Células xenogénicas: obtenidas de individuos de otra especie.

Para la regeneración endodóntica, las células madre más prometedoras son las posnatales dentales autólogas debido a que presentan menor posibilidad de rechazo, muestran una mayor capacidad de desarrollo odontogénico al compararlo con células no dentales y existen varias fuentes para su obtención(11,54,58,75) (Fig.6).

Fuentes de Células madre de tejido oral (11,54,58,75)

- Células pulpares dentales de dientes permanentes (DPSC) (terceros molares, supernumerarios, extraídos por ortodoncia)

Son clonogénicas y proliferan rápidamente. Pueden diferenciarse en odontoblastos, por lo cual son bastante prometedoras en cuanto a la regeneración del complejo dentinopulpar. Debido a su migración desde la cresta neural, se cree que también son candidatas para la regeneración nerviosa(16,76).

- Células del ligamento periodontal (PDLSC)

Indicadas en estudios clínicos como principal fuente de células madres, ya que presentarían capacidades de diferenciación similares a las SCAP (células de la papila apical), y además se encontrarían en mayor número al momento de estimular el sangrado de los tejidos adyacentes(77).

- Células de la papila apical (SCAP)

Poseen una excelente capacidad de diferenciación en odontoblastos(78). Serían las principales responsables del desarrollo de dientes inmaduros, esto debido a su alta viabilidad de supervivencia en tejidos necróticos pulpares, incluso si existe infección(75,76,79,80).

La papila apical es un depósito denso de células madre mesenquimáticas indiferenciadas, de gran proliferación y capacidad de diferenciación odontogénica(76).

Además, la proximidad de la papila apical al ápice del diente, hace que esta fuente rica en células madre esté fácilmente disponible para la terapéutica en la Endodoncia Regenerativa del diente inmaduro(81).

- Células del folículo dental:

Fueron descubiertas por primera vez por Morsczeck y cols. en el año 2005. Al trasplantar estas células por vía subcutánea a ratones inmunocomprometidos, se observó la formación de tejido fibroso similar al ligamento periodontal, o tejido rígido similar al cemento. Sin embargo, no se identificó dentina ni hueso en formación. Diferentes autores han explicado la posibilidad de que ello sea debido al reducido recuento celular en los cultivos de este tipo de células.

- Células pulpares de dientes temporales exfoliados humanos (SHED)

Fueron identificadas en 2003 por Miura y cols. en la cámara pulpar de dientes temporales. Presentan un nivel de proliferación mucho más alto que las células madre mesenquimales derivadas de médula ósea. Tiene capacidad para diferenciarse en odontoblastos y osteoblastos, siendo muy útiles en regeneración ósea.

Se ha probado el potencial de las SHED para diferenciarse en células angiogénicas, cuya capacidad de inducción se considera fundamental para cualquier tipo de regeneración con tejido conjuntivo.

- Células de la pulpa dental natal (hNDP):

En el año 2009, Karaöz y cols. estudiaron la pulpa de un diente natal humano vital, es decir, de un recién nacido. Describiendo el primer aislamiento y caracterización exitosos de hNDP-SC. Donde no hubo diferencias significativas en comparación con otras hBM-MS. Pero se observó que las

hNDP-MSC poseen una mayor capacidad de proliferación que las hBM-MSC y una tendencia intrínseca de diferenciación hacia odontoblastos(82).

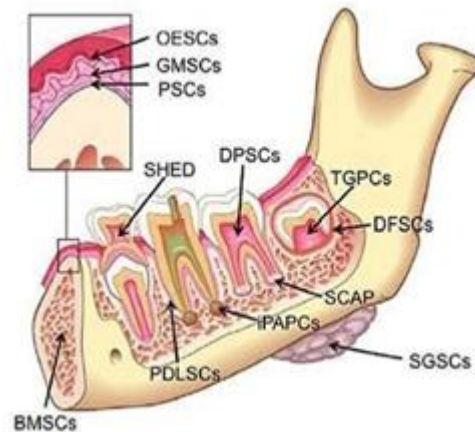


Fig.6 Fuentes potenciales de células madre en el ambiente oral. Células progenitoras obtenidas desde germen dentario (TGPCs), folículo dentario (DFSCs), glándulas salivales (SGSCs), papila apical (SCAP), pulpa dentaria (DPSCs), periápice inflamado (iPAPCs), dientes temporales exfoliados (SHED), ligamento periodontal (PDLSCs), hueso esponjoso (BMSCs) y, como se ilustra en la zona con aumento, células madre del epitelio oral (OESCs), células madre gingivales derivadas de células mesenquimáticas (GMSCs) y células madre periósticas (PSCs)(11).

Otra fuente de células madres, pero no odontogénicas son las células madre mesenquimales de cordón umbilical (MSC) normalmente se diferencian en las células del tejido donde reside, por lo que la introducción del tipo de células madre no odontogénicas exógenas en el espacio del conducto radicular, en los tejidos periodontales y periapicales, pueden tener el potencial para convertirse en células odontoblásticas y conducir a la regeneración del tejido pulpar(134,135).

Las células autólogas son relativamente fáciles de cultivar para posteriormente inyectarlas en las zonas deseadas. El problema de esta técnica es que las células pueden presentar una baja tasa de supervivencia y pueden migrar

hacia otras localizaciones provocando la producción de una matriz de mineralización alterada. La solución a lo anterior corresponde a la segunda base de la ingeniería tisular, el uso de una matriz de andamiaje(54).

Matriz De Andamiaje

Corresponde al componente de la triada que actúa como una guía para el crecimiento celular, diferenciación y organización en un sitio específico, además de permitir la adherencia de las células.

Estas estructuras pueden ser, naturales (colágeno, ácido hialurónico, quitosano y quitina) o sintéticas (ácido poliláctico, ácido poliglicólico, fosfato tricálcico, hidroxiapatita)(83).

El colágeno es el andamio natural más estudiado(84). Mientras que los andamios sintéticos más utilizados son polímeros de lactida y glicolida.

Para lograr la adherencia, debe ser poroso, siendo a la vez biocompatible con el tejido receptor. Tiene que ser biodegradable y debe hacerlo en forma gradual para que sea reemplazado paulatinamente por el tejido regenerado. Debe ser efectivo para el transporte de nutrientes y desechos, además de permitir el secuestro de factores de crecimiento y señales de migración celular para diferenciarse y proliferar a través de las vías de señalización mediada por receptores(11,85).

En endodoncia regenerativa no es necesario el uso de una matriz estructural firme, ya que, el diente es capaz de contener los elementos pudiendo aplicar matrices de menor resistencia(54). Para lograr la regeneración pulpar, la matriz ideal corresponde a una que soporte la revascularización e inervación de los tejidos. El lograr una buena vascularización rodeada de tejido duro como sellado debiese tener un buen pronóstico(16).

Los procedimientos regenerativos en endodoncia han utilizado coágulo sanguíneo(14), plasma rico en plaquetas(86) o fibrina rica en plaquetas(87) para proporcionar andamios en el canal radicular.

El más antiguo usado en endodoncia regenerativa es el coágulo de sangre propio del paciente. A principios del siglo XX ya se reconocían varias funciones plaquetarias, como su participación en la hemostasia y en la formación del tapón plaquetario. Esto dio paso a la investigación de los mediadores encargados de tales acciones, reconociendo la presencia de variados factores de crecimiento con funciones específicas(88). Dentro de los carriers que permiten concentrar una gran cantidad de estos factores encontramos los sellantes de fibrina, plasma rico en plaquetas y fibrina rica en plaquetas.

a) **Coágulo de sangre**

Diversos estudios revelan el uso de sangre o sustitutos como andamiaje con los diferentes factores de crecimiento para ayudar al crecimiento del nuevo tejido en el canal vacío desde Ostby BN en 1961(89).

Para inducir el sangrado, se introduce en el canal una lima estéril como puede ser del número 40-50, uno o dos milímetros más allá de foramen apical (90).

Tras producir el sangrado, se debe esperar unos 15 minutos a que se forme el coágulo a unos 3 mm por encima de la unión amelocementaria (91). Podemos ayudarnos de una bolita de algodón en la entrada del conducto para que se produzca el coágulo a ese nivel (10).

Una limitación de este método es que la concentración y la composición de las células atrapadas en el coágulo son impredecibles además de observarse degradación de sus eritrocitos, lo que va en desmedro de las propiedades de esta matriz(92,93).

b) **Sellantes de fibrina.**

Fueron los primeros aditivos quirúrgicos utilizados, disponibles en el comercio Europeo desde 1970. Son agentes quirúrgicos y hemostáticos,

derivados del plasma humano que imitan las últimas etapas de la coagulación sanguínea, formando un coágulo de fibrina. Se utilizó por mucho tiempo como hemostático tópico. Debido a que eran preparados con materiales alogénicos, existía mucho riesgo de infección cruzada y dejaron de fabricarse(94).

c) Plasma rico en plaquetas (Primera generación de plaquetas).

El plasma rico en plaquetas (PRP) es un componente sanguíneo con alto contenido de plaquetas en un volumen limitado de plasma(94,95).

Este plasma autólogo es una fuente rica en factores de crecimiento, alcanzando hasta un 38% más en las zonas en que se utiliza, se cree que su aplicación es una forma efectiva para inducir la reparación y regeneración tisular(86,88,96).

La técnica utilizada para obtener PRP, es la venopunción del paciente a intervenir, donde se almacena la sangre del paciente junto al anticoagulante para evitar la coagulación. El proceso consiste en dos centrifugaciones, la primera a baja velocidad que separa la sangre en tres partes, donde transferirá la parte rica en plaquetas a un nuevo tubo sin anticoagulante, para centrifugar nuevamente, pero a mayor velocidad, depositando al fondo del tubo el contenido a utilizar, que junto al cloruro de calcio y trombina permiten su gelificación(94).

Las membranas de plaquetas han demostrado estimular la actividad mitótica de las células osteoblásticas.

El PRP contiene factores de crecimiento que estimulan la producción de colágeno, reclutan otras células en las zonas de afección tisular, producen agentes antiinflamatorios, inician la neoformación de vasos sanguíneos, inducen la diferenciación celular, controlan la respuesta inflamatoria local y mejoran la reparación de tejidos duros y blandos. Ha sido ampliamente utilizado en el campo de la odontología, principalmente en cirugía e implantología, endodoncia y periodoncia(86).

Las ventajas del PRP son que entrega mayor soporte para la reparación de tejidos, mineralización más rápida, ayuda a dar estabilidad en caso de utilizar injertos, se logra localizar las citoquinas y factores de crecimiento que contiene, formación de un coágulo firme, ausencia de transmisión de enfermedades, alto grado de osteoconducción y osteoinducción(97,98).

La limitación mayor de este agente se asocia a los problemas que puede implicar el uso de trombina de bovino para la gelificación(94).

El plasma rico en plaquetas satisface muchos de los criterios requeridos para una matriz de andamiaje. Es autólogo, de fácil obtención y preparación, rico en factores de crecimiento, se degrada en el tiempo y forma una matriz tridimensional(11,97).

c) Fibrina rica en plaquetas (Segunda generación de plaquetas).

La fibrina rica en plaquetas fue desarrollada en Francia por Choukroun y sus colaboradores en el año 2001. Corresponde a un concentrado plaquetario de segunda generación, eliminando el riesgo asociado al uso de trombina o cualquier otro anticoagulante. Es de fácil preparación y no requiere manipulación bioquímica de la sangre(94,99).

El FRP presenta ciertas ventajas claras sobre PRP, como costo-efectividad, no hay riesgo de contaminación viral, sin necesidad de trombina bovina, por lo tanto, su preparación es simplificada y la falta de manipulación bioquímica de la sangre hace menos complicada su fabricación(100). Técnicamente, FRP se define como un concentrado de plaquetas inmune y que contiene todos los constituyentes de una muestra de sangre que son favorables para la curación e inmunidad. El coágulo de FRP puede ser fácilmente comprimida en membranas y se utiliza ampliamente como un agente de curación sobre las heridas(101).

Otra de sus ventajas es que no se disuelve rápidamente después de la aplicación; la liberación de los factores de crecimiento ocurre dentro de 4 a 7 días

en comparación con PRP, cuya liberación ocurre entre 7 a 14 horas. Se puede considerar un biomaterial favorable para el desarrollo de una microvascularización, que es capaz de guiar la migración y actividad celular(94).

Durante los fenómenos hemostáticos y de cicatrización, el coágulo de fibrina atrapa a las células madre que, mediante la circulación sanguínea, son llevadas al sitio de la herida gracias a la neo-vascularización inicial. Sirve como red para las células madre, especialmente cuando esta neo-vascularización acelerada se desarrolla en la membrana de fibrina. La diferenciación inicial de las células madre se produce en una matriz cicatricial transitoria formada por fibrina y fibronectina(102).

El protocolo de preparación es bastante simple: se obtiene una muestra de sangre mediante venopunción, se almacena en un tubo sin anticoagulante (aproximadamente 10 ml) que se lleva inmediatamente a centrifugación en una relación de 3000 rpm (aproximadamente 400 g) por 10 minutos. La ausencia de anticoagulante implica la activación de las plaquetas en algunos minutos tras su contacto con las paredes del tubo de vidrio, activando la cascada de la coagulación. El fibrinógeno inicialmente se ubica en la parte más alta del tubo, antes de que la trombina circulante se transforme en fibrina. Luego se obtiene un coágulo de fibrina en el medio del tubo, entre los tejidos rojos y el plasma pobre en plaquetas de la superficie. El manejo rápido y preciso permite obtener un coágulo adecuado con una cantidad de activación plaquetaria aceptable(94,99) (Fig. 7).

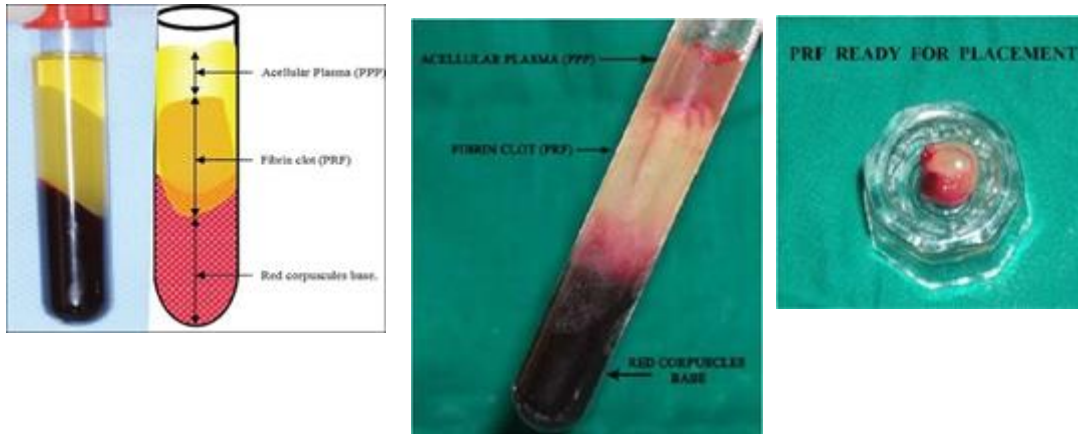


Fig. 7: Diagrama y muestra de sangre procesada con una centrifuga de mesa que permite la formación de la fibrina en el medio del tubo. Coágulo de fibrina lista para ser aplicado en la zona deseada(94,99).

El interés del empleo de esta fibrina es doble, por un lado, aporta estabilidad y una matriz de soporte y, por otro lado, entrega sustancias mediadoras capaces de acelerar o mejorar los procesos regenerativos(103).

Tanto para el plasma como para la fibrina es importante realizar en forma adecuada el procedimiento de centrifugación ya que esto produce una variación en la concentración y grado de activación de las plaquetas. Está demostrado que la activación prematura plaquetaria conlleva a la pérdida de factores que se eliminan o degradan antes de alcanzar la zona donde serán utilizados. Todo proceso de manipulación de la sangre conlleva a algún grado de variación ultraestructural que puede modificar su funcionalidad(99,103).

Factores de Crecimiento

Los factores de crecimiento corresponden a proteínas que se unen a los receptores celulares con el fin de inducir proliferación y/o diferenciación. Muchos de estos factores son capaces de estimular la división celular de numerosos tipos celulares, mientras otros son célula-específico(16,76) juegan un importante rol en la *señalización* de varios eventos de la regeneración dentino pulpar.

Son capaces de promover y dirigir la migración, proliferación y diferenciación de células madres.

En la región periapical coexisten dos líneas de células madre, las hematopoyéticas (*HSCs Hematopoietic Stem Cells*) que derivan de la médula ósea; que son precursoras de los “clastos”, es decir monocitos-macrófagos, neutrófilos, células dendríticas, línea linfóide, osteoclastos y las ectomesenquimáticas (*MSCs Mesenchymal Stem Cells*) que derivan del mesodermo embrionario, que son capaces de diferenciarse en “blastos” que incluyen entre otras, a células del estroma, adipocitos y osteoblastos. Según el linaje al cual pertenezcan las células, la respuesta celular a los mediadores inflamatorios y factores tróficos variará(11).

El principal mecanismo en la potenciación de la reparación de heridas son las señales paracrina de las células madre, que presentan en el mecanismo reparativo un efecto similar a la utilización de las células mismas. Esto cambia el paradigma centrado en la diferenciación celular, a una visión en donde las células madre pueden ser terapéuticas, incluso si no son implantadas ni se diferencian en células específicas dentro de un tejido. Estas señales paracrina o factores de inducción, están constituidos por los Factores de crecimiento, como el TGF- β y los BMP-2 y 4, y los factores de transcripción como el NF-kB (Activador central del TNF), RANK y OPG (Receptor señuelo homólogo al RANK-L)(49,104).

Para la diferenciación odontoblástica son relevantes los factores TGF- β_1 y β_3 que actúan en la diferenciación y secreción de dentina. BMP induce a una formación mayor y más homogénea de dentina reparativa(15,54,76).

Se hace relevante la acción de moléculas angiogénicas como el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) y factor de crecimiento endotelial (EGF)(15,75).

Principales factores de crecimiento utilizados durante la regeneración:

- *PDGF (factor de crecimiento derivado de las plaquetas)*, está implicado en la glucogénesis, la regulación del crecimiento y diferenciación

celular. Además aumenta la regeneración periodontal. Produce mitosis y quimiotaxis en células de linaje odontoblástico, estimula la síntesis de colágeno tipo I por los osteoclastos. Disminuye los efectos de los lipopolisacáridos sobre los fibroblastos. También estimula la fagocitosis en los neutrófilos y monocitos(105-107).

- *VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular)*, es un mitógeno selectivo para células endoteliales, su importancia queda de manifiesto por su acción angiogénica in vivo(105).
- *TGFbeta (factor de crecimiento transformado)*, regulan la proliferación, apoptosis, diferenciación y la migración celular, estimulan la quimiotaxis y la mitosis de las células osteoprogenitoras, mejoran la aposición de matriz extracelular, aumentando la síntesis e inhibiendo la degradación(105).
- *IGF-I (factor de crecimiento insulínico tipo I)*, es el más abundante en el tejido óseo, lo producen los osteoblastos y estimula la formación del hueso induciendo la proliferación celular, la diferenciación y la biosíntesis de colágeno tipo I (Ogata N, 2000); también se encuentra en cantidades importantes en las plaquetas. Cuando es liberado por éstas, es un agente quimiotáctico potente para las células vasculares endoteliales, originando un aumento de la neovascularización de la herida.
- *EGF (factor de crecimiento epidérmico)*, sus niveles plasmáticos no son detectables, pero en las plaquetas se encuentra en cantidades importantes. Tras la activación plaquetaria, se libera en cantidad suficiente para inducir la mitosis y la migración celular(105).

La regeneración integral del cemento dental, periodonto y cortical alveolar de una lesión perirradicular consecuencia de una necrosis pulpar, puede lograrse mediante la inducción de células del estroma por estimulación de las células madre del nicho periapical(108). Para que lo anterior ocurra debe cumplirse previamente

una serie de requisitos esenciales, como ausencia de infección, ausencia de todo elemento extraño y nocivo, resolución del proceso inflamatorio, presencia de factores de crecimiento y factores de transcripción, factores tróficos que condicionen el microambiente local y una matriz que de soporte estructural y permita el crecimiento celular(104,108).

El reconocimiento de células apoptóticas por parte del macrófago, produce potentes reacciones antiinflamatorias y antiinmunogénicas, y la estimulación de factores de crecimiento para las células del tejido. Disminuye el Factor de Necrosis Tumoral- α (TNF- α) y aumenta entre otras la Interleucina-10 (IL-10), que estimula la producción de TGF- β , favoreciendo la reparación de los tejidos(108).

Mecanismos que permiten la revascularización:

En la literatura se describen diferentes mecanismos asociados a la terapia de revascularización. Cada uno de ellos indica el posible origen de las células que permiten obtener un nuevo desarrollo radicular.

Un mecanismo posible, se atribuye a la presencia de células madre pulpares multipotenciales que se encuentran en dientes permanentes. Estas células podrían aponerse en las paredes dentinarias preexistentes y diferenciarse en odontoblastos, secretando dentina terciaria o atubular(37,43).

El segundo mecanismo se atribuye a la presencia de células madre en el ligamento periodontal, las que pueden proliferar y crecer dentro del tercio apical radicular, depositando tejido duro, tanto en la zona apical como en las paredes de la dentina, interviniendo principalmente las fibras de Sharpey(37,41) (Fig.8).

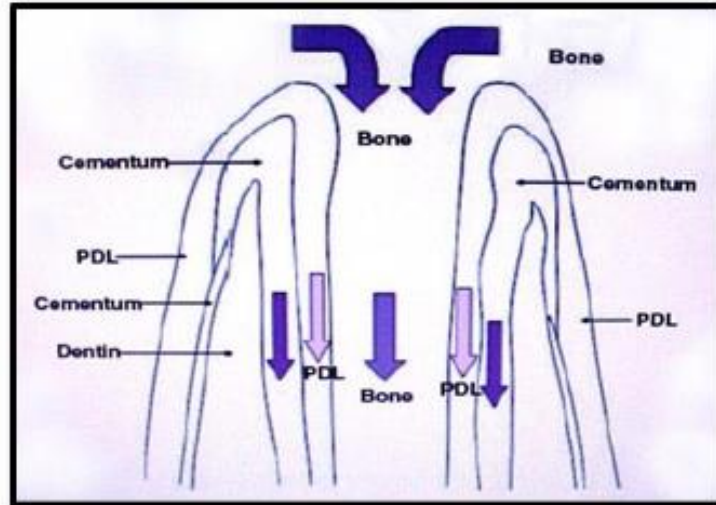


Figura 8. Crecimiento de tejido periodontal y óseo hacia la zona interna del conducto radicular vacío(11).

El tercer mecanismo está asociado a la presencia de células madre a nivel de la médula ósea. La instrumentación más allá del foramen para inducir sangramiento en la zona apical puede trasplantar células madre mesenquimáticas desde el hueso esponjoso al interior del conducto radicular, las que tienen una capacidad proliferativa elevada(15,37,41,76).

El último posible mecanismo es el uso de un coágulo sanguíneo o matriz de andamiaje debido a su alto contenido de factores de crecimiento, los que pueden ser: factor de crecimiento epitelial derivado de plaquetas y factor de crecimiento tisular. Estas moléculas pueden estimular la diferenciación, crecimiento y maduración de fibroblastos, odontoblastos y cementoblastos, entre otros, a partir de células inmaduras indiferenciadas que encontramos en la nueva matriz formada(37,41).

7. Terapia endodóntica regenerativa aplicada a dientes maduros

Los dientes permanentes maduros con pulpas necróticas se tratan tradicionalmente con la endodoncia convencional. El principal factor que contribuye al éxito del tratamiento del conducto radicular es el control efectivo de la infección del conducto radicular. Se ha realizado de forma adecuada y exitosamente la terapia de endodoncia durante muchas décadas (109,110), sin embargo, aunque la tecnología, los dispositivos y los materiales utilizados en la terapia del conducto radicular han mejorado mucho, las tasas de éxito del tratamiento endodóntico no ha mejorado significativamente en las últimas 4 a 5 décadas(111). En consecuencia, es necesario un cambio conceptual, en lugar de mejoras técnicas incrementales basadas en la filosofía endodóntica existente, para mejorar las tasas de éxito endodóntico y promover aún más la longevidad de los dientes naturales.

La terapia de endodoncia regenerativa se ha comenzado a utilizar en el tratamiento de dientes permanentes maduros con pulpas necróticas y periodontitis apical, basada en los resultados (eliminación de síntomas / signos clínicos y la resolución de la periodontitis apical) observados en dientes permanentes inmaduros con pulpas necróticas después de la terapia endodóntica regenerativa(112-114).

La diferencia entre la terapia del conducto radicular convencional y la regenerativa, es que los canales desinfectados se llenan con tejido vital, autólogo y materiales biocompatibles. Cuando realizamos la terapia de endodoncia convencional, los conductos radiculares son rellenos con un material extraño, como es la gutapercha(113,114).

La terapia endodóntica regenerativa tiene una base biológica y está destinada a promover el proceso natural de curación de heridas del huésped para restaurar la vitalidad, la inmunidad y la sensibilidad del tejido en el espacio del canal destruido por infección o trauma. En general, se acepta que algunas bacterias o colonias bacterianas se quedan después de la desinfección e instrumentación del conducto radicular(116). Si la pulpa dental se regenera, las células asesinas naturales, los linfocitos y los macrófagos son restaurados por los vasos

sanguíneos(117) y representan un sistema inmunitario innato. La inmunidad innata dentro del conducto radicular, que se deshabilita después del tratamiento endodóntico convencional y se puede restaurar después de la endodoncia regenerativa, puede ofrecer el potencial de reducir las reinfecciones. Además, los tejidos regenerados pueden ser estructuralmente más resistentes a las fracturas.

El tamaño del agujero apical es también un factor importante a considerar en las terapias regenerativas. Se sugirió, en dientes inmaduros, que un foramen apical de al menos 1,1 mm de diámetro es necesario para la revascularización exitosa del tejido pulpar(118). Por lo anterior, se consideró que dientes permanentes maduros con pulpas necróticas y ápices cerrados no eran adecuados para este tipo de terapias. Sin embargo, un estudio utilizando un modelo animal mostró que un agujero apical de 0,32 mm de diámetro no impidió la revascularización y el crecimiento de nuevo tejido dentro de los canales(119).

Investigaciones de regeneración en dientes humanos permanentes maduros con necrosis pulpar y periodontitis apical, utilizaron técnicas de apicoplastía con el fin de simular un ápice abierto. Estudios de Shah & Logani en 2012(37), agrandaron el foramen apical hasta una lima K # 30, Paryani & Kim en 2013(11) hasta una lima K # 60 y Saoud & Sigurdson en 2014(120), hasta una lima K # 35. Considerando la evidencia anterior, se puede concluir que el tamaño del agujero apical no tiene que ser de 1 mm de diámetro naturalmente para que el tejido nuevo crezca en los canales; sino que la ampliación del foramen apical en dientes maduros fabricada con limas puede facilitar el crecimiento del nuevo tejido en el interior del canal radicular desde el área periapical, tras la aplicación de técnicas regenerativas.

8. Desafíos en la terapia de endodoncia regenerativa en Adultos

En términos generales, existen 2 estrategias distintivas para la regeneración de la pulpa dental y / o la dentina en dientes permanentes maduros infectados o traumatizados en adultos(121):

- 1) Trasplante celular de células madre / progenitoras cultivadas ex vivo o
- (2) Cell Homing por moléculas que reclutan las células residentes del paciente.

Desde un punto de vista terapéutico, las células madre de la pulpa dental (DPSC) no son las principales células de elección para la regeneración de la pulpa dental en adultos. Las fuentes celulares clínicamente viables para la regeneración de la pulpa dental son las que se encuentran fuera del ápice de la raíz, incluidas las células madre / progenitoras de hueso alveolar, las células madre / progenitoras del ligamento periodontal y otras células que pueden poblar un nicho de células periapicales(121).

Se generan dos problemas con lo mencionado anteriormente:

1. Para trasplantar a la pulpa las células madres del hueso alveolar o ligamento periodontal, se requiere de un procedimiento traumático que puede no ser justificable o factible. Sin embargo, puede no ser necesario recolectar las células madre progenitoras de hueso alveolar o del ligamento periodontal del paciente, sino más bien ser reclutadas en el conducto radicular preparado endodónticamente mediante señales regenerativas en vivo en un proceso conocido como cell homing, concepto propuesto por primera vez en el año 2010(122).

2. Se cuestiona la capacidad de las células madre óseas alveolares y del ligamento periodontal de producir pulpa dental y /o dentina dado que no son de origen pulpar. Las células que han formado tejidos similares a la pulpa dental en el sangrado evocado o los estudios de PRP provienen del exterior del ápice de la raíz del diente, probablemente incluyendo células madre del hueso alveolar y del ligamento periodontal entre las células más maduras (123). Sin embargo, hay poca

evidencia de que la dentina se haya regenerado después del sangrado evocado o el uso de PRP(124,125). La superficie de la dentina como sustrato biofísico nativo y los factores de crecimiento endógeno en los túbulos dentinarios promueven la diferenciación odontoblástica (126,127).

En conclusión, se ha ampliado la aplicación de las REPS al diente maduro con resultados clínicos e histológicos prometedores, similares a los encontrados en diente inmaduro, con una gran tasa de éxito en variados reporte de casos y serie de casos(7,58,59,130-132), sin embargo, es necesario contar con evidencia basada en diseños de ensayos clínicos controlados aleatorizados para obtener tasas de éxito confiables y resultados que validen el éxito de esta propuesta terapéutica en comparación con la endodoncia convencional.

9. Objetivos en procedimientos endodónticos regenerativos

La asociación americana de endodoncia estableció que en dientes inmaduros el grado de éxito de los Procedimientos de Endodoncia Regenerativa se determina de acuerdo a la posibilidad de lograr los objetivos primarios, secundarios y terciarios(128):

- Objetivo principal: la eliminación de los síntomas y la evidencia de curación ósea.
- Objetivo secundario: aumento del grosor de la pared de la raíz y / o mayor longitud de la raíz (deseable, pero quizás no esencial)
- Objetivo terciario: respuesta positiva a las pruebas de vitalidad (que si se logra, podría indicar un tejido pulpar vital más organizado)

No se ha establecido oficialmente los objetivos para determinar el grado de éxito en los procedimientos endodónticos regenerativos en dientes maduros, pero se le pueden asociar el primer y tercer objetivos nombrados anteriormente, es decir, la eliminación de síntomas y evidencia de recuperación ósea, siendo la principal preocupación de un clínico promover la cicatrización de los tejidos enfermos, la prevención de la recaída de la enfermedad y el bienestar del paciente (resultados centrados en el paciente)(104), promoviendo la supervivencia y la función del diente. Y como un objetivo secundario la respuesta positiva a los test de sensibilidad.

10. Ventajas y desventajas de la terapia de revascularización

Ventajas de la terapia de revascularización

- La reconstitución del sistema neuro-vascular en los conductos radiculares por la regeneración de la pulpa, proporcionará tejidos con un sistema inmunológico que funcionará como primera línea de defensa frente a la exposición microbiana.
- La ganancia de la función nerviosa en los tejidos, proveerá un sistema de alarma durante la lesión de los tejidos y protegerá a la pulpa de un daño mayor.
- El mayor beneficio obtenido al utilizar factores biológicos para la regeneración de tejido dentario reemplazando una obturación radicular con materiales sintéticos, es principalmente, que el tejido de reparación se convierte en una parte integral del diente, evitando la microinfiltración bacteriana que implica el uso de sellos artificiales(54).
- En dientes inmaduros permite alcanzar el desarrollo radicular en longitud y reforzamiento de la raíz debido al engrosamiento de las paredes laterales dentinarias mediante la aposición de nueva dentina o tejido duro(38).
- Tiempo de tratamiento más corto, ya que una vez que se ha eliminado la infección, el tratamiento puede efectuarse en una cita.
- Tiene una buena relación costo-beneficio.
- Si se logra revitalizar el diente, no es necesaria la obturación radicular convencional.
- En dientes inmaduros si no se observa desarrollo radicular o algún cambio a los 3 meses, no se contraindica intentar el desarrollo radicular mediante otros métodos.
- Es una técnica simple y puede completarse utilizando instrumentos y medicamentos de fácil adquisición y bajo costo.
- Debido a que el tratamiento se efectúa con tejidos y células del propio individuo no existe riesgo de rechazo por parte del sistema inmune(36).

Desventajas de la terapia de revascularización

Entre las complicaciones encontramos(37,41,50):

- Puede producir calcificación completa del conducto radicular.
- Limita la posibilidad de restauración dentaria con postes intraconductos.
- Desarrollo de resistencia bacteriana o reacciones alérgicas debido a la medicación intraconducto (en los casos en que se usa pasta triantibiótica).
- Existen limitaciones en pacientes que presentan complicaciones sistémicas.
- No se ha logrado determinar cómo definir el grado de destrucción de las células mesenquimáticas del tejido apical y de las células pulpaes viables.

PRESENTACIÓN DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

Problema de investigación

En el año 2001 Iwaya introdujo la terapia de revascularización pulpar en diente inmaduros con patología pulpar irreversible con lesión periapical como una opción de tratamiento a la apexificación(3), con el tiempo esta terapia se fue respaldando con investigaciones, reportes de casos, entre otros, hasta el año 2011 cuando fue establecida por la AAE como la primera opción de tratamiento en estos casos(5,6).

Con los avances en la ingeniería tisular y gracias al éxito de la terapia en dientes inmaduros, la regeneración pulpar hoy en día también es propuesta como alternativa de tratamiento en dientes maduros en lugar de la endodoncia convencional. Pero debido a la poca evidencia clínica de calidad asociada a las REPs en dientes con ápices cerrados, aún no es posible confirmar una efectividad igual o superior a la del tratamiento de endodoncia convencional. Es por esto que nos cuestionamos ¿cuál es la tasa de éxito de la regeneración pulpar en comparación con la endodoncia convencional en dientes maduros con necrosis, con o sin lesión periapical según el mejor nivel de evidencia disponible?

Pregunta de investigación

Área de la pregunta clínica:	ENDODONCIA
Tema de la pregunta clínica:	ENDODONCIA REGENERATIVA EN DIENTES MADUROS
Nivel de la pregunta clínica:	ACCIÓN
Ámbito de la pregunta clínica:	TERAPIA
Formato de la pregunta:	PICO
Elementos de mi pregunta clínica	<p>P: Dientes permanentes maduros con diagnóstico de necrosis pulpar con o sin lesión periapical.</p> <p>I: Terapia de regeneración pulpar.</p> <p>C: Terapia endodóntica convencional.</p> <p>O: Éxito de tratamiento (resolución de sintomatología clínica y rx).</p>
Planteamiento de la pregunta	En dientes permanentes maduros con diagnóstico de necrosis pulpar con o sin lesión periapical ¿cuál es el éxito de la terapia de regeneración pulpar en comparación con los tratados con endodoncia convencional?

Relevancia

El estudio e investigación sobre regeneración pulpar se inicia alrededor del año 2001(3) a partir de entonces se han realizado numerosas publicaciones sobre este tratamiento(129). Se trata de un tema de gran interés, ya que es una opción biológica(4) al tratamiento convencional. Se ha establecido como la primera opción de tratamiento para el manejo endodóntico para el diente inmaduro(6,21), debido a que permite obtener un 90% de éxito en los dientes tratados(21,39,105) y se propone como una nueva opción de tratamiento endodóntico para el diente maduro(39,106). Se han evaluado los porcentajes de éxito en el tratamiento de regeneración pulpar en diente maduro en base a reporte de casos(105), pero existen muy pocos estudios clínicos aleatorizados controlado que comparen y muestren el éxito de la terapia de regeneración pulpar sobre la endodoncia convencional y es necesario comparar las dos terapias para tener la mejor evidencia para la toma de decisiones en la práctica clínica.

OBJETIVOS DE INVESTIGACIÓN

Objetivo general

Determinar el éxito de la terapia de regeneración pulpar en dientes maduros con o sin lesión apical en comparación al tratamiento de endodoncia convencional en base a una revisión sistemática de la literatura.

Objetivos específicos

1. Identificar si existe diferencia estadísticamente significativa en la resolución de síntomas clínicos entre REPs y endodoncia convencional.
2. Identificar si existe diferencia estadísticamente significativa en la disminución de la dimensión de la lesión apical entre las dos terapias.
- 3.-Establecer si hay diferencias estadísticamente significativas entre los resultados obtenidos en ambas terapias y el tipo de diente tratado.
- 4.-Distinguir si hay diferencias significativas entre los resultados obtenidos en los dientes tratados con REPs al utilizar distintas técnicas y materiales.
- 5.- Determinar en cual de las dos terapias existen mayores casos de cambio de coloración de la corona clínica y cual sería la causa más prevalente
- 6.-Determinar si existen diferencias estadísticamente significativas en el tiempo de trabajo entre ambas técnicas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño de investigación

Se trata de una revisión sistemática bajo los lineamientos de la pauta PRISMA, cuyo método de recolección de resultados fue la siguiente:

Búsqueda de la literatura

Selección de las bases de datos

La búsqueda bibliográfica se realizó en las diferentes bases de datos ofrecidas por el portal web de la biblioteca de la Universidad de Valparaíso. Se utilizaron las bases de datos Medline (PubMed), ClinicalKey, ScienceDirect, Ovid, Scopus, Epistemonikos y Cochrane para la búsqueda de estudios primarios y revisiones sistemáticas. También se buscaron estudios primarios en el registro de ensayos clínicos controlados aleatorizados del National Institutes of Health, USA (ClinicalTrials.gov).

Estrategias de búsquedas

Las estrategias de búsqueda y filtros utilizados en las distintas bases de datos fueron las siguientes:

PUBMED

- Estrategia de búsqueda: Clinical trial and regenerative endodontic procedure.
- Filtros de la búsqueda: 10 años.

ClinicalKey

- Estrategia de búsqueda: Endodoncia y regeneración pulpar en diente maduro.
- Filtros de la búsqueda: Revisiones sistemáticas, ensayos controlados aleatorizados, ensayos clínicos.

ScienceDirect

- Estrategia de búsqueda: Pulp revascularization, mature teeth, endodontics.
- Filtros de la búsqueda: 2010-2021. Research article.

Embase on Ovid

- Estrategia de búsqueda: pulp revascularization, mature teeth, endodontics.
- Filtros de la búsqueda: 2010-2021. Journal article.

Scopus

- Estrategia de búsqueda: regenerative AND endodontics AND mature AND teeth.
- Filtros de la búsqueda: 2010-2021.

Epistemonikos

- Estrategia de búsqueda: Diente permanente endodoncia regenerativa.
- Filtros de búsqueda: Last 10 years. Primary Studies.

Cochrane

- Estrategia de búsqueda: “regenerative endodontics” OR “pulp revascularization”
- Filtros de búsqueda: tópico “odontología y salud oral”. Ensayos clínicos (“clinical trials”)

National Institutes of Health, USA (ClinicalTrials.gov).

- Estrategia de búsqueda: Pulp regenerations
- Filtros de la búsqueda: -

Para asegurar la saturación de la literatura, se revisaron las bibliografías de los estudios seleccionados y de otras revisiones relacionadas al tema para encontrar estudios relevantes para esta investigación que no hayan sido encontrados a través de las estrategias de búsqueda en las bases de datos.

Criterios de selección

En base a la lectura de título y abstract se seleccionaron estudios que cumplieran los siguientes criterios:

- **Inclusión**

- Estudios primarios tipo Ensayos Clínicos Controlados Aleatorizados
- Estudios realizado en humanos
- Diente permanente maduro con diagnóstico de necrosis pulpar con o sin lesión apical
- Evaluación de la terapia de regeneración pulpar en comparación a la terapia de endodoncia regenerativa
- Evaluación del éxito en términos de resolución clínica (ausencia de signos y síntomas) y radiográfica (ausencia o remisión de lesión apical) con al menos a 12 meses de seguimiento
- Fecha de publicación: últimos 10 años

- **Exclusión**

- Estudios primarios tipo reportes de casos y series de casos.
- Terapias de regeneración pulpar y manejo endodóntico convencional en diente permanente inmaduro

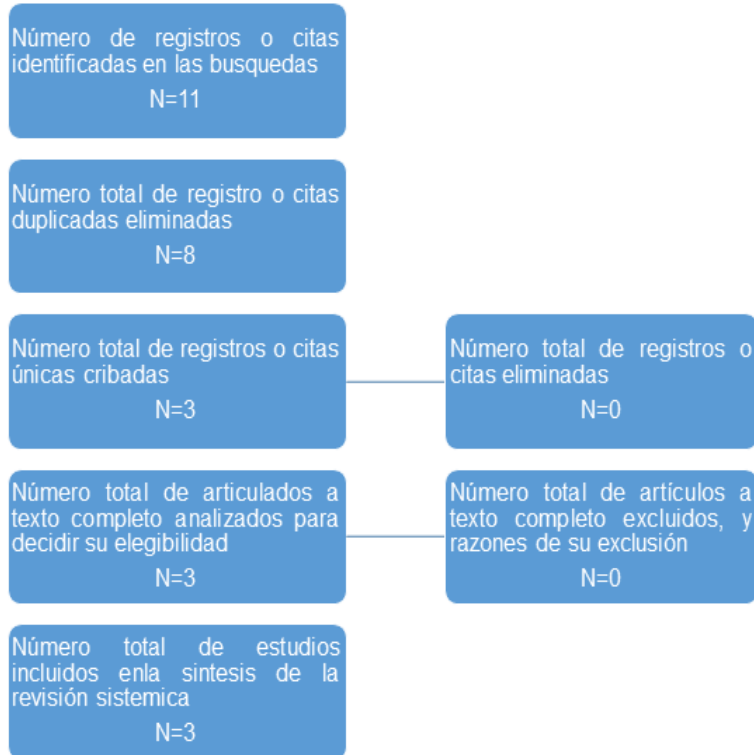
- Ensayos clínicos controlados con evaluación solo de éxito clínico o radiográfico
- Ensayos clínicos controlados con periodo de seguimiento <12 meses.

Si en la lectura de título y abstract los criterios de inclusión o exclusión no quedan claros, se accedió al artículo completo para identificar los criterios de selección en la sección de metodología del artículo de interés.

Proceso de selección de los estudios

El diagrama de flujo PRISMA (Fig. 9) ilustra el proceso de selección. Las autoras de la revisión Florencia Corvalán Miranda (FCM) y Silvia Tapia Barraza (STB) analizaron de forma independiente los títulos y resúmenes de todos los informes identificados a través de la búsqueda para el screening y la evaluación de los criterios de elegibilidad. Seleccionando las publicaciones que parecían cumplir con los criterios de inclusión y eliminando los artículos que aparecían duplicados. Los desacuerdos se resolvieron mediante discusión. Se obtuvo el texto completo de todos los estudios que cumplieron los criterios de inclusión y estos fueron sometidos a evaluación de validez y extracción de datos.

FIG. 9 Diagrama de flujo prisma



Evaluación del riesgo de sesgo, calidad y heterogeneidad de los estudios seleccionados

Evaluación de calidad

A los estudios seleccionados se les evaluó la calidad de la evidencia reportada en base a los criterios de la pauta CONSORT® para Ensayos Clínicos Controlados. Cada uno de los evaluadores (FCM Y STB) revisó la pauta individualmente en cada estudio seleccionado y luego se compararon los resultados. En caso de no llegar a un acuerdo una tercera persona (JCT) decidió.

Riesgo de sesgo

Dos evaluadores (FCM y STB), evaluaron de forma independiente el riesgo de sesgo para cada estudio incluido. Se evaluó utilizando los criterios descritos en el Manual Cochrane para Revisiones Sistemáticas de Intervenciones. Se asignó un riesgo de sesgo alto o bajo a cada estudio individual, dependiendo de la evidencia o ausencia de las siguientes variables; Sesgo de selección (generación aleatoria de la secuencia y ocultación de la asignación), sesgo de realización (cegamiento de los participantes y del personal), sesgo de detección (cegamiento de los evaluadores de los resultados), sesgo de desgaste (datos de resultado incompletos), sesgo de notificación (notificación selectiva de los resultados) y otros sesgos (que no se incluyó en ninguna de las categorías nombradas). Se asignó un riesgo poco claro de sesgo cuando había información insuficiente para permitir el juicio de riesgo bajo o riesgo alto. Cuando no hubo concordancia en la evaluación un tercero (JCT) realizó la determinación final.

Síntesis de resultados según heterogeneidad

La entrada síntesis de datos se realizó en Review Manager, Versión 5.3. (El Centro Nórdico Cochrane, la Colaboración Cochrane, Copenhague, Dinamarca). La heterogeneidad se evaluó calculando el estadístico I^2 y se definió de acuerdo con el Manual Cochrane como $I^2 < 30\%$: 2 heterogeneidad aceptable, I^2 de 30-60%: heterogeneidad moderada, $I^2 > 60\%$: heterogeneidad sustancial [26]. El metanálisis se realizará si la heterogeneidad es aceptable o moderada. La tasa de éxito, ya sea clínica o radiográfica para REPs o tratamiento del conducto radicular, se calculó para cada estudio dividiendo el número de casos exitosos por el número total de casos.

Proceso de recolección / extracción de datos

Las búsquedas electrónicas sistemáticas, considerando las estrategias de búsqueda y aplicación de filtros arrojaron un total de 360 estudios de todas las bases de datos. De estos, 19 fueron identificados en PUBMED, 9 en ClinicalKey, 79 en ScienceDirect, 86 en Ovid (Embase), 27 en Scopus, 102 en Epistemonikos, 19 en la biblioteca Cochrane y 19 en National Institutes of Health, USA (ClinicalTrials.gov). Después de eliminar los duplicados y la selección de datos basada en el título y el resumen, se seleccionaron un total de 3 artículos para la lectura de texto completo. No se identificaron estudios adicionales después del análisis de referencia cruzada.

Los 3 estudios se consideraron elegibles para su inclusión en esta revisión sistemática. Éstos se encontraban en inglés y fueron traducidos por las autoras, luego de esto se extrajeron los datos de forma independiente (FCM, STB). Los datos finales que se incluyeron fueron acordados y cualquier diferencia de opinión se resolvió mediante una discusión adicional. Los datos extraídos incluidos fueron: tipo de estudio, número y demografía de los participantes, diagnóstico, intervención, material de cobertura, período de seguimiento, número perdido durante el seguimiento, ubicación del estudio y resultados finales.

La revisión de la literatura se organizó en tres secciones: (i) evaluación de resolución de sintomatología clínica y radiográfica (resultado primario), (ii) evaluación recuperación de sensibilidad post tratamiento (resultado secundario) y (iii) evaluación de otros resultados.

RESULTADOS

Los detalles de los estudios incluidos se detallan en la Tabla 1 y el número, demografía de los pacientes y metodología utilizada se encuentran en la Tabla 2.

Tabla 1. Detalles de artículos seleccionados

Autor, año	Diseño de estudio	Localización	Tiempo de seguimiento	Intervención	Comparación	Outcome
H. Arslan, 2019	ECA*	Turquía	12 meses	REPs**	Endodoncia	Clínico y Radiográfico
C. Brizuela, 2020	ECA*	Chile	12 meses	REPs**	Endodoncia	Clínico y Radiográfico
J. Preeti, 2019	ECA*	India	18 meses	REPs**	Endodoncia	Clínico y Radiográfico

*Estudio Clínico Aleatorizado

** Regeneración Pulpar

Tabla 2. Número y Demografía de los pacientes en cada estudio

Variables	Arslan		Brizuela		Preeti	
	ENDO	REPs	ENDO	REPs	ENDO	REPs
N° de dientes	20	26	18	18	15	15
Edad	20.66+-1.27	20.58+-2.53	16 a 58	16 a 58	9-15 años	9-15 años
Sexo (M/F)	13/7	22/4	11/25		No establecido	
Profesional que realiza el tratamiento	Distintos endodoncistas calibrados		No especifica		1 residente de segundo año monitoreado por especialistas	
Diente a tratar	Anteriores superiores e inferiores (canino a canino)		Anteriores superiores e inferiores (canino a canino) y premolares inferiores		Anteriores y Posteriores	
Lima maestra	60-70-80		No especifica		Protaper Universal	
Material de relleno	Gutapercha + 2seal (CL*)	MTA + coágulo de sangre	Gutapercha (OC**)	Sangrado controlado + ppp-uc-mscs + membrana + biodentine	Gutapercha (CL*)	SealBio + coágulo de sangre
Tipo de medicación	Hidróxido de Ca	Pasta triantibiótica	No especifica		No especifica	Pasta triantibiótica
Tipo de irrigación	NaOCl 1% +EDTA 5%+ agua destilada		No especifica		NaOCl 2.5%	
Tipo de sellado coronal	Resina		Resina		Resina	

*CL Condensación lateral
** OC Onda continua

Riesgo de sesgo

Se evaluó el riesgo de sesgo de los 3 estudios incluidos (Tabla 3) y solo el estudio realizado por Preeti no presentó el 100% de sus criterios en bajo sesgo, ya que el sesgo de selección fue poco claro, debido a que no existió información suficiente acerca del proceso de generación de secuencia de asignación y no se describe algún método de asignación. Y el sesgo de realización fue alto, ya que no se menciona cegamiento del grupo operador, ni de los participantes.

Tabla 3. Riesgo de Sesgo

	Arslan	Brizuela	Preeti
Sesgo de selección (generación aleatoria de la secuencia)	Verde	Verde	Amarillo
Sesgo de selección (ocultación de la asignación)	Verde	Verde	Amarillo
Sesgo de realización (cegamiento de los participantes y del personal)	Verde	Verde	Rojo
Sesgo de detección (cegamiento de los evaluadores de los resultados)	Verde	Verde	Verde
Sesgo de desgaste (datos de resultado incompletos)	Verde	Verde	Verde
Sesgo de notificación (notificación selectiva de los resultados)	Verde	Verde	Verde
Otros sesgos (que no se incluyó en ninguna de las categorías nombradas)	Verde	Verde	Verde

Número perdido durante el seguimiento

El número de pacientes perdidos durante el seguimiento y los motivos se registra en la tabla 4.

Tabla 4. Pacientes perdidos

	Número perdido	Motivo
Arslan	10 (8 endo 2 reps)	Pacientes cambiaron el número de teléfono (4) Pacientes no volvieron al control (6)
Brizuela	0	-
Preeti	No especifica	No especifica

Resultados de la resolución de la sintomatología clínica y disminución de la imagen de la lesión periapical (resultado primario)

De acuerdo a la resolución de la sintomatología clínica y disminución de la imagen de la lesión periapical, en la Tabla 5 se refleja lo obtenido en los tres estudios.

TABLA 5. Éxito clínico y radiográfico

	Arslan		Brizuela		Preeti	
Terapia utilizada	EC	REPs	EC	REPs	EC	REPs
Resolución de sintomatología clínica	80% (16/20)	92% (24/26)	100%	100%	80% (12/15)	86% (13/15)
Disminución de la imagen de la lesión periapical	Disminución de la lesión (85%)	Disminución de la lesión (92.4%)	Disminución de la lesión (0,35mm)	Disminución de la lesión (0,94mm)	Disminución de la lesión (PAI 3.4 a 1.2)	Disminución de la lesión (PAI 3.6 a 1.1)
Existencia de diferencia significativa entre ambos tratamientos (EC vs REPs)	No		No		No	

Resultado de la recuperación de la sensibilidad post tratamiento (resultado secundario)

Con respecto a la recuperación de la sensibilidad post tratamiento, en la Tabla 6 se refleja lo obtenido en los tres estudios.

Tabla 6. Resultados test de sensibilidad.

	6 meses			12 meses		
	Frío	Calor	Eléctrico	Frío	Calor	Eléctrico
Brizuela	4/18	2/18	4/18	10/18	5/18	9/18
Arslan	-	-	13/24	-	-	-
Preeti	-	-	-	-	-	-

Otros Resultados

Además de los resultados expuestos anteriormente, también se pueden observar otros resultados vistos en los distintos estudios que se expresan en las tablas 7 y 8

Tabla 7. Otros resultados en el estudio de Arslan

	REPs	ENDO
Cambio de coloración	38,5%	0%

Tabla 8. Otros resultados en el estudio de Preeti

	REPs	ENDO
Tiempo de trabajo	16.02 min	36.59 min

DISCUSIÓN

Ésta revisión sistemática es la primera en comparar estudios clínicos aleatorizados que utilizan como intervención y comparación la REPs y la endodoncia convencional, debido a que es muy difícil realizar este tipo de estudios es que sólo se encontraron 3 artículos, de los cuales no podemos obtener grandes conclusiones, sino más bien descripciones de los mismos, como lo podemos ver en la Tabla 1.

También podemos apreciar que con respecto al tiempo de seguimiento Preeti lo realiza por 18 meses a diferencia de Arslan y Brizuela que lo hacen en 12 meses. Se hace importante ya que en cuanto a la curación de la periodontitis apical, ésta alcanza su punto máximo durante el primer año; sin embargo, la resolución completa de la radiolucidez apical puede llevar de 4 a 5 años y se requiere un seguimiento de al menos 1 año para revelar cambios significativos (136). Cuando hay cambios significativos a los 18 meses, se puede confirmar que habrá una cicatrización total (136). Por lo que se debería aumentar el periodo de seguimiento al menos 18 meses para poder confirmar una cicatrización total.

Al analizar la Tabla 2, existen diferencias en relación a la metodología de estudio. En cuanto al profesional que realiza el procedimiento, Brizuela et al. calibra a especialistas de endodoncia para poder realizar el estudio, a diferencia de Preeti, donde una persona, residente de segundo año monitoreado por especialistas, es quien realiza todas las preparaciones. Aunque las competencias de un residente de segundo año son mayores a las de un odontólogo general, estas si son menores a la de un especialista con experiencia. Algo similar informan Alley y col. en el 2004 (133) obteniendo una tasa de éxito significativamente mayor (98.1%; $P < 0.01$), en el tratamiento de endodoncia convencional, para los dientes tratados por endodoncistas en comparación con los tratados por generales (89.7%).

Con respecto al tipo de diente tratado, en el estudio de Arslan et al. solo se trabajó en dientes anteriores y Brizuela más del 80% de la muestra fueron dientes anteriores. No así Preeti, quien además de dientes anteriores, tomó dientes

posteriores. Es importante recalcar que en los dientes uniradiculares existen más posibilidades de recuperación (136). Aún así, teniendo esta diferencia, el criterio de “enfermedad”, que consiste en que la lesión se mantiene o aumenta, fue cero para los tres estudios.

También existe una variación en la técnica utilizada para el tratamiento de REPs y EC. Dentro de las técnicas de REPs, Brizuela et al. utilizó células madres mesenquimales de cordón umbilical en plasma pobre en plaquetas (PPP), además de estimular el coágulo de sangre, mientras que Arslan et al. y Preeti utilizaron la migración de células madre desde apical (ligamento, médula ósea o de la lesión apical) hacia el canal radicular en conjunto con el coágulo de sangre. Por esta diferencia se podría explicar el mayor éxito en el estudio de Brizuela et al.

Otro punto a considerar es que las REPs tradicionales que usan una técnica de sangrado de dientes maduros tienen limitaciones en comparación con los dientes inmaduros, debido a la menor cantidad de células madre / progenitoras disponibles, una vía apical más estrecha para la migración celular y la desinfección es más difícil debido a la compleja anatomía del canal de la raíz (7). Chrepa y col. (120) demostraron que la técnica de sangrado evocado transporta MSC en el conducto radicular de pacientes adultos con dientes maduros, pero no se abordó la fuente de las células que incluían varios nichos de MSC.

Por otro lado, en el grupo de endodoncia convencional, los tres estudios utilizaron como material de obturación la gutapercha, Arslan et al. y Preeti utilizaron la técnica de condensación lateral y Brizuela et al. utilizó la técnica de condensación de onda continua. Obteniendo 80% y 100% de éxito respectivamente para cada técnica. Gupta et. al. en el 2015 comparó ambas técnicas y concluyó que la condensación por onda continua es una buena técnica de obturación al presentar menor cantidad de espacios en el conducto(137) y aunque no hay diferencias estadísticamente significativas en el éxito de obturación entre ambas técnicas(138,139), si se pueden ver afectadas por las características del conducto como longitud o curvaturas, entre otras, información que no se entrega en los estudios y que podrían explicar el éxito de una técnica sobre otra (140).

En todos los estudios se observó resultados positivos para el cumplimiento del resultado principal, es decir, resolución de sintomatología clínica y disminución de la imagen de la lesión periapical, sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas entre los casos tratados con endodoncia convencional y regeneración pulpar.

Como podemos ver en la tabla 5. en el estudio realizado por Arslan 24 de 26 casos (92%) tuvieron éxito en REPs y 16 de 20 casos (80%) al ser tratados con endodoncia convencional (EC), siendo la causa de falla en tres tratamientos el desajuste de la restauración coronal. Tal como muestran en sus estudios Monardes H y cols el 2016 (141) y Tolia D y cols el 2012 (142), quienes afirman que existe una asociación estadísticamente significativa entre la calidad de la obturación, directa o indirecta, y la sintomatología. No hubo diferencias significativas entre los grupos en términos de la presencia pre y postoperatoria de sensibilidad a la palpación y dolor en la percusión. Radiográficamente el 85% de los casos presentó ausencia o disminución de la lesión en EC y 92.4% en REPs sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas entre ellos.

Mientras que en el estudio realizado por Brizuela et al. un caso (5.6%) del grupo REPs a los 6 meses presentó dolor a la percusión, donde se corrigió la oclusión y a los 12 meses se encontraba asintomático, logrando el 100% de éxito en ambas terapias, definida por ellos como dientes en boca, sin dolor a la percusión y una lesión ósea apical de igual tamaño en las 3 dimensiones del espacio, una disminución en algunos de ellos, o no más de un Aumento de 0.1 mm de uno de ellos. Las dimensiones de las lesiones apicales al inicio del estudio y a los 6 y 12 meses de seguimiento, no registraron diferencias estadísticas entre los grupos, pero sí se estableció una diferencia significativa entre los grupos en la reducción de la dimensión anteroposterior entre 6 y 12 meses de seguimiento, con una reducción media de 0,35 mm en el grupo ENDO y 0,94 mm en el grupo REPs.

En el estudio de Preeti, en el grupo de REPs, 13 de 15 dientes se habían curado completamente al final de los 18 meses, lo que representaba el 86.6% de la muestra original y el 14.4% de la muestra estaba cicatrizando. En el grupo de endodoncia convencional, 12 de 15 dientes mostraron una curación completa, que

era el 80% de la muestra total y el 20% de la muestra estaba cicatrizando. Para registrar la curación de la lesión periapical se utilizó la puntuación PAI, donde se redujo de 3.6 antes de la operación a 1.1 en el grupo REPs y 3.4 a 1.2 en el grupo de endodoncia convencional. La diferencia entre la puntuación media de PAI para ambos grupos en cada intervalo no fue estadísticamente significativa ($p < 0,05$).

Además de la resolución clínica y radiográfica de la lesión, en dos de los estudios se evaluó la vitalidad y la sensibilidad dentaria (Brizuela et al.- Arslan et al.). En la prueba de sensibilidad Brizuela obtuvo a los 12 meses un 56%, 28% y 50%, con el test de frío, calor y eléctrico respectivamente. No hubo diferencia con Arslan et al. quien obtuvo un 50% con el test eléctrico. Estos resultados coinciden con Ding RY et al y Li L et al. quienes también obtuvieron que el 50% de los dientes responden a los test de vitalidad pulpar con la diferencia que fue realizado en dientes inmaduros (143, 144). El problema es que las respuestas son subjetivas, por lo tanto es difícil comparar los resultados entre los estudios sin poder estandarizar las pruebas. Otro ejemplo es con la prueba de percusión, donde es difícil estandarizar la fuerza aplicada por el operador. Por lo tanto, aunque una respuesta positiva a una prueba pulpar no es concluyente para la regeneración del tejido pulpar en el espacio del conducto, es uno de los requisitos para mostrar regeneración (77). Ahora bien, la falta de una respuesta pulpar no necesariamente indica una falta de vitalidad, en el caso de dientes inmaduros, el desarrollo continuo de la raíz nos indicaba la presencia de tejido vital, en dientes maduros la resolución de los signos y síntomas y curación progresiva de las lesiones periapicales podrían ser los únicos puntos de referencia para el éxito. El desarrollo futuro en la evaluación de la vitalidad pulpar permitirá una evaluación más precisa del éxito del tratamiento (77).

En cuanto a la decoloración del diente, plasmada en la Tabla 7, solo Arslan et al. lo registró como discomfort del paciente. La decoloración del diente se explica por la pasta triantibiótica. Nagata JY et al y McTigue DJ et al. informan porcentajes que oscilan entre 44% y 83,3% de decoloración coronal en sus estudios con dientes inmaduros. Nagata JY et al, compara entre medicación con pasta triantibiótica o hidróxido de calcio y gel de clorhexidina al 2%, fue significativamente mayor el

cambio de color en el grupo que utilizó la pasta triantibiótica, con un 83,3% en comparación con un 27,3% (145, 146). El mecanismo de decoloración de los antibióticos a base de tetraciclina (minociclina o doxiciclina) puede explicarse por la unión de la tetraciclina a los iones de calcio y la desmineralización de los tejidos duros dentales mediante quelación para formar un complejo insoluble en la matriz del diente (147). En el estudio, de Arslan et al., 10 dientes (38,5%) en el grupo REPs se decoloraron, lo que fue relativamente menor que los porcentajes reportados en estudios como los de Nagata JY et al (83,3%), Mc Tighe DJ et al. (44%) Kahler B et al. el 2014 (62,5%), todos concluyen que es la minociclina al entrar en contacto con la dentina coronal. Una de las soluciones era reemplazar la minociclina por amoxicilina (145,146,148). A diferencia de todos estos estudios, Arslan et al., se utiliza, doxiciclina en vez de minociclina, en la pasta triantibiótica su mejor resultado coincide con Akcay et al. quienes muestran que la pasta triantibiótica a base de minociclina induce más decoloración coronal que las a base de doxiciclina (149). También se comenta que el MTA aunque sea blanco puede causar alguna decoloración, si no se coloca debajo de la unión amelo-cementaria (150). Se ha sugerido que una posibilidad de evitar la decoloración es sellar las paredes dentinarias de la cavidad de acceso con un agente adhesivo (151).

Finalmente en la Tabla 8, Preeti et al. registró el tiempo de trabajo, el cual fue significativamente menor en REPs con respecto a la endodoncia convencional. El tiempo se tomó después de que los dientes fueron anestesiados y se explica el resultado, por la disminución de pasos en REPs, como son la selección del cono maestro y la toma de radiografía de preobtención.

CONCLUSIONES

1.- Al comparar la endodoncia convencional y la terapia de regeneración pulpar en dientes maduros con necrosis, con o sin lesión apical, hemos identificado que, no existen diferencias estadísticamente significativas en la resolución de síntomas clínicos.

2.- No existen diferencias estadísticamente significativas en la disminución de la dimensión de la lesión apical entre las dos terapias.

3.-Según el tipo de diente tratado, los resultados no difieren entre ellos, en ambas terapias.

4.-El éxito en los resultados de la REPs fue similar, aún utilizando dos distintas técnicas y materiales entre los estudios.

5.- En ambas terapias se identificó si los dientes sufrieron algún cambio de coloración de la corona clínica. Ningún caso se registró en endodoncia convencional, pero en REPs el 38,5% de los casos tuvo un cambio de coloración siendo la causa el tipo de medicación utilizada, la tripasta antibiótica.

6.- La regeneración pulpar presenta un menor tiempo de trabajo (16.02 min) en comparación con la terapia convencional (36.59 min).

BIBLIOGRAFÍA

1. Dye BA, Weatherspoon DJ, Lopez Mitnik G. Tooth loss among older adults according to poverty status in the United States from 1999 through 2004 and 2009 through 2014. *JADA*. 2018.
2. Smith E, Yelick P. Progress in Bioengineered Whole Tooth Research: from Bench to Dental Patient Chair. *Curr Oral Health Rep*. 2016; 3:302–308.
3. Iwaya SI, Ikawa M, Kubota M. Revascularization of an immature permanent tooth with apical periodontitis and sinus tract. *Dent Traumatol* 2001;17(4):185–7
4. Peter E. Murray BSc(Hons), Franklin Garcia-Godoy, MS and Kenneth M. Hargreaves, *Journal of Endodontics* , 2007-04-01, Volume 33, Issue 4, Pages 377-390, Copyright © 2007 American Association of Endodontists
5. American Association of Endodontists. *Glossary of Endodontic Terms*, 8th ed. Chicago: American Association of Endodontists 2012.
6. Galler KM, Krastl G, Simon S, et al. European Society of Endodontology position statement: Revitalization procedures. *Int Endod J*. 2016;49:717–723.
7. Paryani K, Kim SG. Regenerative endodontic treatment of permanent teeth after completion of root development: a report of 2 cases. *J Endod*. 2013; 39(7): 929-34.
8. Gómez de Ferraris ME, Campos A. Embriología dentaria. En: *Histología y embriología bucodental*. 2o ed. Madrid: Panamericana; 2002; 86-107.
9. Huang, G.T.; Gronthos, S.; Shi, S (2009): Mesenchymal stem cells derived from dental tissues vs. those from other sources: their biology and role in regenerative medicine. *J Dent Res*. 88: 792–806.
10. Canalda Sahli C, Brau Agudé E. *Endodoncia : técnicas clínicas y bases científicas*. 3ªed. Barcelona : Masson; 2014. p.259-270.

11. Hargreaves KM., Cohen S. Cohen's pathways of the pulp, 10th. ed. St. Louis: Mosby Elsevier; 2011.
12. DeMarco F, Conde M, Cavalcanti B, Casagrande L, Sakau V, Nör J (2011). Dental Pulp Tissue Engineering. *Braz Dent J* 22(1):3-13.
13. Nanci A. Development of the tooth and its supporting tissues. En Naci A. Ten Cate's oral histology: development, structure and function. 7oed. St Louis, Missouri: Mosby; 2007; P. 79-111.
14. Soares J, Goldberg F. Obturación del conducto radicular. En: Endodoncia. Técnicas y fundamentos. Buenos Aires: Panamericana; 2002. p. 141-51.
15. Estela, A C. (2005), Biología pulpar en ciencia endodóntica, Artes medicas Latinoamericana, Brasil, PP 1-23.
16. Zhang W, Yelick P (2010): Vital pulp therapy: current progress of dental pulp regeneration and revascularization. *International Journal of Dentistry* 2010; 1-9.
17. Morales G. (2007): Tratamientos conservadores de la vitalidad pulpar y tratamiento endodóntico en una sesión. Tesis digitales UNMSM.
18. Ricucci D., Loghin S., Lin L.M., Spangberg L.S., Tay F.R. Is hard tissue formation in the dental pulp after the death of the primary odontoblasts a regenerative or a reparative process? *Journal of dentistry*. 2014; 42: 1156-1170.)
19. M. Fitzgerald, D. J. Chiego Jr., and D. R. Heys, "Autoradiographic analysis of odontoblast replacement following pulp exposure in primate teeth," *Archives of Oral Biology*, vol. 35, no. 9, pp. 707–715, 1990.
20. Cohen S, Hargreaves K, Beman L (2010): The transformation of endodontics in the 21st century. *Smile Dental J* 2010; 5(3):6-12.
21. AAE Consensus Conference Recommended Diagnostic - Terminology Recommended Terms - *JOE* — Volume 35, Number 12, December 2009.
22. H. Jafarzadeh & P. V. Abbott. (2010). Review of pulp sensibility tests. Part I: general information and thermal tests. *International Endodontic Journal*, 43, 738–762.

23. Ruddle CJ (2002a) Endodontic diagnosis. *Dentistry Today* 21, 90–2.
24. Rodriguez Cy. OG. Working Length Determination in Endodontics. *Clinical Issues of Dental Root and Root Canal Systems Morphology. International Journal of Odontostomatology*. 2014 Septiembre; 8.
25. Lapria AC SR. Endodontically treated teeth: Characteristics and considerations. *Journal of Prosthodontic*. 2011 August; 55.
26. The American Association of Endodontists Communique . AAE and Foundation approve definition of Endodontic Outcomes. Volume XXIX, August/September 2005. Page 3.
27. West J. Endodontic update. *J Esthet Restor Dent*. 2006; 18: 280-300.
28. Salehrabi R RI. Endodontic treatment outcomes in a large patient population in the USA: an epidemiological study. *J Endod*. 2004 Dec; 30.
29. Strindberg LZ. The dependence of the results of pulp therapy on certain factors. An analytic study based on radiographic and clinical follow-up examinations. Doctoral Thesis, Mauritzons Boktryckeri, Stockholm, Sweden. 1956.
30. Kerekes K, Tronstad L. Long-term results of endodontic treatment performed with a standardized technique. *J Endod*. 1979;5:83–90.
31. Ricucci D, Siqueira JF Jr. Biofilms and apical periodontitis: study of prevalence and association with clinical and histopathologic findings. *J Endod*. 2010;36:1277–1288.
32. Zehnder M, Belibasakis GN. On the dynamics of root canal infections-what we understand and what we don't. *Virulence*. 2015;6:216–222.
33. Walton RE. Histologic evaluation of different methods of enlarging the pulp canal space. *J Endod*. 1976;2:304–311.
34. Wu MK, Wesselink PR. Efficacy of three techniques in cleaning the apical portion of curved root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1995;79:492–496.

35. Metzger Z, Teperovich E, Cohen R, Zary R, Paque F, Huls- € mann M. The self adjusting file (SAF). Part 3: removal of debris and smear layer-A scanning electron microscope study. *J Endod*. 2010;36:697–702.
36. Murray P, Garcia.Godoy F, Hargreaves K (2012): Regenerative endodontics; a review of current status and a call for action. *J Endod* 2007; 33:377-390.
37. Shah N, Logani A, Bhaskar U, Aggarwal V (2008): Efficacy of revascularization to induce apexification/apexogénesis in infected, nonvital, immature teeth; a pilot clinical study. *J Endod* 2008; 34:919-925.
38. Jung I, Lee S, Hargreaves K (2008): Biologically based treatment of immature permanent teeth with pulpal necrosis: A case series. *J Endod* 2008; 34:876-887.
39. Chugal N, Mallya SM, Kahler B, Lin LM. Endodontic Treatment Outcomes. *Dent Clin N Am*. 2017; 61: 59–80.
40. Garrido j, Gallegos S, tapia M (2008): Revascularización: de un diente permanente joven: caso clínico. *Rev. Soc. Chil. Odontopediatria* 2008; 23(2): 14.
41. Neha K, Kansal R, Garg P, Joshi R, Garg D, Grover (2011): Management of immature teeth by dentin-pulp regeneration: recent approach. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 2011: 1: 16 (7): e997-1004.
42. Nygaard-Ostby B, Hjortdal O. Tissue formation in the root canal following pulp removal. *Scand J Dent Res* 1971;79:333–49.
43. Banchs F, Trope M. Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis:new treatment protocol? *J Endod* 2004;30:196–200.
44. Lovelace TW, Henry MA, Hargreaves KM, Diogenes A. Evaluation of the delivery of mesenchymal stem cells into the root canal space of necrotic immature teeth after clinical regenerative endodontic procedure. *J Endod* 2011;37:133–8.
45. Shimizu E, Lin LM, Gibbs JL, et al. Histologic and histobacteriologic observations offailed revascularization/revitalization therapy: a case report. *J Endod* 2014;40:291–5.

46. Jeeruphan, T.; Jantararat, J.; Yanpiset, K.(2012): Mahidol study 1: comparison of radiographic and survival outcomes of immature teeth treated with either regenerative endodontic or apexification methods: a retrospective study. *J Endod.* 38:1330-1336
47. Alobaid, A.S.; Cortes, L.M. Lo, J.(2014): Radiographic and clinical outcomes of the treatment of immature permanent teeth by revascularization or apexification: a pilot retrospective cohort study. *J Endod.* 40:1063-1070
48. 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; 39:138-44
49. Langer, J.P. Vacanti; *Tissue engineering; Science*, 260 1993;920–926
50. Shin SY, Albert JS, Mortman RE (2009): One step pulp revascularization treatment of an immature permanent tooth with chronic apical abscess: a case report. *International Endodontic Journal*, 2009; 42:1118-2009.
51. Ulmer F, Winkel A, Kohorst P, Stiesch M (2010): Stem cells-prospects in dentistry. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 2010, 120:180-872
52. Diogenes A , Althumairy RI, Teixeira FB,. Effect of dentin conditioning with intracanal medicaments on survival of stem cells of apical papilla. *J Endod* 2014;40: 521–5.
53. Brizuela c, Saint Jean N (2011): Propuesta de un modelo para lograr la revascularización pulpar de un diente inmaduro con periodontitis apical sintomática utilizando fibrina rica en plaquetas: Informe preliminar. *Canal abierto. Revista de la sociedad de Endodoncia en Chile.* 2011; 24: 32-37.
54. Bansal, R.; Bansal, R. Regenerative endodontics: a state of the art. *Indian J Dent Res* 2011.22:122-131.
55. Alastair S, Waddington R (2009): Dental pulp stem cells: what were, how? *International J of Paediatric dentistry* 2009; 19:61-70.
56. Nakashima M; Akamine, A (2005): The application of tissue engineering to regeneration of pulp and dentin in endodontics. *J Endod.* 31:711-718.

57. Tziafas D, Kodonas K (2010): Differentiation potencial of dental papilla, dental pulp, and apical papilla progenitor cells. *J Endod* 2010; 36:781-789.
58. Chueh L, ho Y, Kuo T, Lai W, Melody Y, Chiang C (2009): Regenerative endodontic treatment for necrotic immature permanent teeth. *J Endodontic* 2009; 35:160-164.
59. Friedlander L, Cullian M, Love R (2009): Dental stem cells and their potential role in apexogenesis and apexification. *International Endodontic Journal* 2009; 42: 955-962.
60. J.B. Gurdon, J.A. Byrne, S. Simonsson, P.S. Western Nuclei of adult mammalian somatic cells are directly reprogrammed to Oct-4 stem cell gene expression by amphibian oocytes *Curr Biol*, 13 (2003), pp. 1206-1213
61. R. Mondragón-González, C.V. Bulmaro Advances in the development of cell therapy for muscular dystrophies *Indiscap*, 5 (2016), pp. 46-5361
62. G. Maguire Therapeutics from adult stem cells and the hype curve *ACS Med Chem Lett*, 7 (2016), pp. 441-443
63. G. Sara-Bayat Aplicaciones farmacológicas de las células madre. Universidad Complutense, Madrid, España (2015)
64. J.B. Gurdon The developmental capacity of nuclei taken from intestinal epithelium cells of feeding tadpoles. *J Embryol Exp Morphol*, 10 (1962), pp. 622-640
65. R. Matesanz, G.I. Sánchez Medicina regenerativa y células madre Editorial CSIC-CSIC Press, Madrid, España (2010)
66. K. Takahashi, K. Tanabe, M. Ohnuki, M. Narita, T. Ichisaka, K. Tomoda Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors *Cell*, 131 (2007), pp. 861-872
67. H.S. Wang, S.C. Hung, S.T. Peng, C.C. Huang, H.M. Wei, Y.J. Guo, *et al.* Mesenchymal stem cells in the Wharton's jelly of the human umbilical cord. *Stem cells* (Dayton, Ohio), 22 (2004), pp. 1330-1337

68. R. Gomis ¿El final de la diabetes?: Células madre, la esperanza de la biomedicina. Editorial Maite Simón, Valencia, España (2011)
69. B.K. Motwani, M. Singh, G. Kaur, S. Singh, P.O. Gangde Stem cells: A new paradigm in dentistry. JOADMS, 2 (2016), pp. 139-145
70. International Society For Stem Cell Research . Guidelines for stem cell research and clinical translation. Washington, D.C: ISSCR;2016.
71. Okita, K.; Ichisaka, T.; Yamanaka, S. Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells. Nature. 2007;448: 313–317.
72. M.L. Condic. Totipotency: What it is and what it is not. Stem Cells Dev, 23 (2014), pp. 796-812 S.
73. Boyd, A.M. Gutiérrez, J. McCulley Atlas and text of corneal pathology and surgery Editorial Jaypee Brothers Medical Publishers, Panamá (2012)
74. Pimentel-Parra G. Células madre, una nueva alternativa médica. Perinatología y Reproducción Humana.2017.31(1):28-33. doi.org/10.1016/j.rprh.2017.10.013
75. Peng L, Zhu X (2009): Mesenchymal stem cells and tooth engineering. InternatioJournal of oral science 2009; 1(1): 6-12.
76. Sonoyama W, Yamaza T, Tuan R, Wang S, Shi S, Huang G (2008): characterization of the apical papilla and its residing stem cells from human immature permanent teeth: a pilot study. J Endod 2008; 34: 166171.
77. Law AS (2013): Considerations for regeneration procedures. Pediatr Dent, 2013 Mar-Apr; 35(2):141-52. Review
78. Evangelos G. Kontakiotis, Christos G. Filippatos, Giorgos N. Tzanetakis, and Anastasia Agrafioti. Regenerative Endodontic Therapy: A Data Analysis of Clinical Protocols. J Endod 2015;41:146–154.
79. Nosrat A, Seiffi A, Asgary S (2011): Regenerative endodontic treatment (Revascularization) for necrotic immature permanent molars: a review and report of two cases with nex biomaterial. J Endod 2011; 37: 562-567.
80. Honda M, Imaizumi M, Tsuchiya S, Morsczeck C (2010): Dental follicle stem cells and tissue engineering. Journal of oral science, 2010; 52(4):541-552.

81. Xu, L; Tang, I; Jin, F; Liu, X.H; Yu, J.H; Wu, JJ; Yang, Z.H; Wang, Y.X; Duan, Y.Z; Jin, Y (2009): The apical region of developing tooth root constitutes a complex and maintains the ability to generate root and periodontium-like tissues. *J Periodontal Res.* 44: 275-282.
82. Isolation and in vitro characterisation of dental pulp stem cells from natal teeth
Erdal Karaöz · Burcu Nur Dofan · Ayça Aksoy · Gülçin Gacar · Serap Akyüz · Selda Ayhan · Zehra Seda Genç · Sinan Yürüker · Gökhan Duruksu · Pınar Çetinalp Demircan · Ayla Eker Sarıboyacı
Accepted: 23 September 2009 / Published online: 9 October 2009 © Springer-Verlag 2009
83. Chandrasha, S; Murray, P.E; Namerow, K.N (2011). Proliferation of mature ex vivo human dental pulp using tissue engineering scaffolds. *J Endod.* 37:12361239
84. Galler KM, D'Souza RN, Federlin M, Cavender AC, Hartgerink JD, Hecker S, Schmalz G (2011): Dentin conditioning codetermines cell fate in regenerative endodontics. *J Endod*, 2011 Nov; 37(11):1536-41.
85. Volponi, A.A; Pang, Y; Sharpe, P (2010): Stem cell-based biological tooth repair and regeneration. *Trends in Cell Biology.* 20:715-722.
86. Torabinejad M, Parirokh M. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review—part II: leakage and biocompatibility investigations. *J Endod* 2010;36: 190–202.
87. Hotwani, K; Sharma, K (2014): Platelet rich fibrin—a novel adjuvant into regenerative endodontic therapy. *Restor Dent Endod.* 39: 1-6.
88. Vaishnavi C, Lakshmi L. Endodontic microbiology. *J Conserv Dent.* 2010
89. Ostby BN -1961-. The role of the blood clot in endodontic therapy. An experimental histologic study. *Acta Odontol Scand* 19:324–353.
90. Khoshkhounejad M, Shokouhinejad N, Pirmoazen S. Regenerative Endodontic Treatment: Report of Two Cases with Different Clinical Management and Outcomes. *J Dent (Tehran).* Junio de 2015;12(6):460-8.).

91. González V, Madrid K, Amador E. Revascularización en dientes permanentes con ápice inmaduro y necrosis pulpar: Revisión bibliográfica. *Adm.* 2014;71(3):110-4
92. Sachdeva GS, Sachdeva LT, Goel M, Bala S. Regenerative endodontic treatment of an immature tooth with a necrotic pulp and apical periodontitis using platelet-rich plasma (PRP) and mineral trioxide aggregate (MTA): A case report. *Int Endod J.* 2014;902-10.
93. Gathani KM, Raghavendra SS (2016) Scaffolds in regenerative endodontics: a review. *Dental Research Journal* 13, 379– 86.
94. Prakash, S.; Thakur.A. Platelet concentrates: past, present and future. *J Maxillofac Oral Surg.* 2011;10:45-49.
95. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dent.* 2001;10(4):225-8.
96. Goyal, B.; Tewari, S.; Duhan, J. Comparative Evaluation of Platelet-rich Plasma and Guided Tissue Regeneration Membrane in the Healing of Apicomarginal Defects: A Clinical Study. *J Endod.*2011; 37:773-880.
97. Reyes M, Montero S, Cifuentes J, Zarzar E (2002): Extraction technique and surgical use of the plasma rich in growth factors (PRGF) update. *Rev. Dental Chile* 2002; 93(2): 25-28.
98. Sunitha, V; Munirathnam E (2008): Platelet-rich fibrin: Evolution of a second generation platelet concentrate. *Indian J Det Res* 2008; 19:42-46.
99. Dohan D, Choukroun J, Diss A, Dohan A, Mouhy J, Gogly B (2006): Platelet rich fibrin (PRF): a second generation platelet concentrate part III: leucocyte activation: a new feature for platelet concentrates? *Oral Surg. Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol Endod* 2006; 101E51-E55.
100. He, L; Lin, Y; Hu, X; Zhang, Y; Wu, H (2009): A comparative study of platelet rich fibrin (PRF) and platelet-rich plasma (PRP) on the effect of proliferation and differentiation of rat osteoblasts in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 108: 707-713.

101. Wu, M.K; Dummer, R.M; Wesselink, P.R (2006): Consequences of and strategies to deal with residual post-treatment root canal infection. *Int Endod J*. 39: 343-356.
102. Colombiana AO. *Acta Odontologica Colombiana* [Online].; 2014. Available from: <http://www.bdigital.unal.edu.co/>.
103. Saez- Torres C, Calvo J., Gayá A (2007): Calidad del plasma rico en plaquetas: estudio de la activación plaquetaria. *Rev Esp Cir Oral y Maxilofac* 2007; 29 (4): 240-248.
104. Diogenes, A; Ruparel, N (2017): Regenerative Endodontic Procedures: clinical outcomes. *Dent Clin North Am*. 61:111-125.
105. Bennet NT, Schultz GS. Growth Factors and wound healing. Part II. Role in normal and chronic wound healings. *Am J Sug* 1993; 166(1): 74-81.
106. Stephan EB, Jiang D, Lynch S, Bush P, Dziak R. Anorganic bovine bone supports osteoblastic cell attachment and proliferation. *J Periodontol* 1999; 70:364-369.
107. Strayhorn C. Growth factors regulate expression of osteoblast associated genes. *J Periodontology*, 1999; vol 70;1245 -1254.
108. Bansal, R; Aditya, J; Sunandan, M (2015): Current overview on challenges in regenerative endodontics. *J Conserv Dent*. 18:1-6.
109. Sjogren, U.; Figdor, D.; Persson, S.; Sundqvist, G. Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Int. Endod. J.* **1997**, 30, 297–306.]
110. Fabricius, L.; Dahlin, G.; Sundqvist, G.; Happonen, R.P.; Möller, A.J. Influence of residual bacteria on periapical tissue healing after chemomechanical treatment and root filling of experimentally infected monkey teeth. *Eur. J. Oral Sci.* **2006**, 114, 278–285.
111. NgYL, MannV, RahbaranS, et al. Outcome of primary root canal treatment: systematic review of the literature - part 1. Effects of study characteristics on probability of success. *Int Endod J* 2007;40:921–39)

112. Shah, N.; Logani, A. SealBio: A novel, non-obturation endodontic treatment based on concept of regeneration. *J. Conserv. Dent.* **2012**, *15*, 328–332.
113. Saoud, T.M.; Sigurdsson, A.; Rosenberg, P.A.; Lin, L.M.; Ricucci, D. Treatment of a large cystlike inflammatory periapical lesion associated with mature necrotic teeth using regenerative endodontic therapy. *J. Endod.* **2014**, *40*, 2081–2086.]
114. Saoud, T.M.; Martin, G.; Chen, Y.-H.M.; Chen, K.L.; Chen, C.A.; Songtrakul, K.; Malek, M.; Sigurdsson, A.; Lin, L.M. Treatment of mature permanent teeth with necrotic pulps and apical periodontitis using regenerative endodontic procedures: A case series. *J. Endod.* **2016**, *42*, 57–65.
115. Paryan K, Kim SG (2013): Regenerative endodontic treatment of permanent teeth after completion of root development: a report of 2 cases. *J Endod*, 2013 Jul; 39(7):929-34.
116. Xavier AC, Martinho FC, Chung A, et al. One-visit versus two-visit root canal treatment: effectiveness in the removal of endotoxins and cultivable bacteria. *J Endod* 2013;39:959–64).
117. Saghiri MA, Asatourian A, Sorenson CM, Sheibani N. Role of angiogenesis in endodontics: contributions of stem cells and proangiogenic and antiangiogenic factors to dental pulp regeneration. *J Endod* 2015;41:797–803
118. Kling M, Cvek M, Mejare I (1986): Rate and predictability of pulp revascularization in therapeutically reimplanted permanent incisors. *Endod Dent Traumatol.* Jun; 2(3):83-9.
119. Laureys WG, Cuvelier CA, Dermaut LR, De Pauw GA (2013): The critical apical diameter to obtain regeneration of the pulp tissue after tooth transplantation, replantation, or regenerative endodontic treatment. *J Endod.* Jun;39(6):759-63.
120. Chrepa V, Henry MA, Daniel BJ, Diogenes A (2015): Delivery of Apical Mesenchymal Stem Cells into Root Canals of Mature Teeth. *J Dent Res*, 2015 Dec;94(12) :1653-9.
121. He, L, Kim, SG, Gong, Q. Regenerative endodontics for adult patients. *J Endod* 2017; 43: S57–S64

122. Kim JY, Xin X, Moiola EK, et al. Regeneration of dental-pulp-like tissue by chemotaxis-induced cell homing. *Tissue Eng Part A* 2010;16:3023–31.).
123. Arslan H, Sahin Y, Topçuoğlu H, Gundo E, Gudu B. Histologic evaluation of regenerated tissues in the pulp spaces of teeth with mature roots at the time of the regenerative endodontic procedures. *J Endod* 2019;45:1384–9
124. Zhu X, Wang Y, Liu Y, et al. Immunohistochemical and histochemical analysis of newly formed tissues in root canal space transplanted with dental pulp stem cells plus platelet-rich plasma. *J Endod* 2014;40:1573–8
125. Torabinejad M, Faras H, Corr R, et al. Histologic examinations of teeth treated with 2 scaffolds: a pilot animal investigation. *J Endod* 2014;40:515–20
126. Smith AJ, Duncan HF, Diogenes A, et al. Exploiting the bioactive properties of the dentin-pulp complex in regenerative endodontics. *J Endod* 2016;42:47–56.
127. Lee CP, Colombo JS, Ayre WN, et al. Elucidating the cellular actions of demineralised dentine matrix extract on a clonal dental pulp stem cell population in orchestrating dental tissue repair. *J Tissue Eng* 2015;6. 2041731415586318.).
128. AAE Clinical Considerations for a Regenerative Procedure Revised 4/1/2018
129. Kontakiotis EG, Filippatos CG, Tzanetakis GN, Agrafioti (2015): Regenerative endodontic therapy: a data analysis of clinical protocols. *J Endod*, 2015 Feb;41(2):146-54.
130. Jha P, Viridi MS, Nain S. A Regenerative Approach for Root Canal Treatment of Mature Permanent Teeth: Comparative Evaluation with 18 Months Follow-up. *Int J Clin Pediatr Dent*. 2019 May-Jun;12(3):182-188.
131. Meza G, Urrejola D, Saint Jean N, Inostroza C, López V, Khoury M, Brizuela C. Personalized Cell Therapy for Pulpitis Using Autologous Dental Pulp Stem Cells and Leukocyte Platelet-rich Fibrin: A Case Report. *J Endod*. 2019 Feb;45(2):144-149.
132. Nagas E, Uyanik MO, Cehreli ZC. Revitalization of necrotic mature permanent incisors with apical periodontitis: a case report. *Restor Dent Endod*. 2018 Jul 5;43(3):e31.

133. Alley BS, Kitchens GG, Alley LW, Eleazer PD. A comparison of survival of teeth following endodontic treatment performed by general dentists or by specialists. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004;98(1):115–118.
134. Huang GT-J, Garcia-Godoy F. Missing Concepts in De Novo Pulp Regeneration. *Journal of Dental Research.* 2014;93(8):717-724.
135. Fawzy El-Sayed KM, Ahmed GM, Abouauf EA, Schwendicke F. Stem/progenitor cell-mediated pulpal tissue regeneration: a systematic review and meta-analysis. *Int Endod J.* 2019 Nov;52(11):1573-1585.
136. Orstavik D. Time course and risk analyses of the development and healing of chronic apical periodontitis in man. *Int Endod J* 1996 May 1;29(3):150–155. DOI: 10.1111/j.1365-2591.1996.tb01361.x.
137. Gupta, R., Dhingra, A., & Panwar, N. R. (2015). Comparative Evaluation of Three Different Obturating Techniques Lateral Compaction, Thermafil and Calamus for Filling Area and Voids Using Cone Beam Computed Tomography: An Invitro study. *Journal of clinical and diagnostic research : JCDR*, 9(8), ZC15–ZC17. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2015/12218.6279>
138. Olczak K, Pawlicka H. Evaluation of the Sealing Ability of Three Obturation Techniques Using a Glucose Leakage Test. *Biomed Res Int.* 2017 Jun; Volume 2017, Article ID: 2704094.)
139. Gençoğlu N. (2003). Comparison of 6 different gutta-percha techniques (part II): Thermafil, JS Quick-Fill, Soft Core, Microseal, System B, and lateral condensation. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 96(1), 91–95. [https://doi.org/10.1016/s1079-2104\(02\)91704-x](https://doi.org/10.1016/s1079-2104(02)91704-x)
140. Aracena Rojas, D, Bustos Medina, L, Alcántara Dufeu, R, Aguilera Pino, O, Aracena Ghisellini, A, & Luengo Pedreros, P. (2012). Comparación de la Calidad de Obturación Radicular, entre el Sistema Termoplastificado Calamus y el Sistema de Compactación Lateral en Frío. *International journal of odontostomatology*, 6(2), 115-121.
141. Monardes, Héctor, Lolas, Claudia, Aravena, Juan, González, Héctor, & Abarca, Jaime. (2016). Evaluación del tratamiento endodóntico y su relación con el tipo

- y la calidad de la restauración definitiva. *Revista clínica de periodoncia, implantología y rehabilitación oral*, 9(2), 108-113
142. Tolia D, Koletsi K, Mamai-Homata E, Margaritis V, Kontakiotis E. Apical periodontitis in association with the quality of root fillings and coronal restorations: a 14-year investigation in young Greek adults. *Oral Health Prev Dent*. 2012;10(3):297-303. PMID: 23094274.
 143. Ding RY, Cheung GS, Chen J, et al. Pulp revascularization of immature teeth with apical periodontitis: a clinical study. *J Endod* 2009;35:745–9.
 144. Li L, Pan Y, Mei L, Li J. Clinical and radiographic outcomes in immature permanent necrotic evaginated teeth treated with regenerative endodontic procedures. *J Endod* 2017;43:246–51
 145. Nagata JY, Figueiredo de Almeida Gomes BP, Rocha Lima TF, et al. Traumatized immature teeth treated with 2 protocols of pulp revascularization. *J Endod* 2014;40:606–12.
 146. McTigue DJ, Subramanian K, Kumar A. Management of immature permanent teeth with pulpal necrosis: a case series. *Pediatr Dent* 2013;35:55–60.
 147. Tanase S, Tsuchiya H, Yao J, et al. Reversed-phase ion-pair chromatographic analysis of tetracycline antibiotics. Application to discolored teeth. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 1998;706:279–85.
 148. Kahler B, Mistry S, Moule A, et al. Revascularization outcomes: a prospective analysis of 16 consecutive cases. *J Endod* 2014;40:333–8
 149. Akcay M, Arslan H, Yasa B, et al. Spectrophotometric analysis of crown discoloration induced by various antibiotic pastes used in revascularization. *J Endod* 2014;40:845–8.
 150. Petrino J, Boda K, Shambarger S, Bowles W, McClanahan S, et al. Challenges in Regenerative Endodontics: A Case Series. *J Endod* 2010; 36:536-541.
 151. Reynolds K, Johnson JD, Cohenca N. Pulp revascularization of necrotic bilateral bicuspid using a modified novel technique to eliminate potential coronal discoloration: a case report. *Int Endod J* 2009;42:84–92.