

MAR
MIS
FEB
20663



**Universidad
de Valparaíso**
CHILE

M.
L864E
2017



**ESTUDIO PILOTO PARA VALIDAR UN NUEVO PROTOCOLO DE
REGENERACIÓN PULPAR EN DIENTES MADUROS PROPUESTO POR
LA CÁTEDRA DE ENDODONCIA DE LA UNIVERSIDAD DE VALPARAÍSO,
ENTRE LOS MESES DE MARZO Y AGOSTO DEL AÑO 2016**



Trabajo de Investigación
Requisito para optar al Título
de Especialista en Endodoncia

Residentes: Dra. Paola López Saez
Dra. Belén Mena Solís

Directora Del Programa
Prof. Dra. Alicia Caro Molina
Cátedra de Endodoncia

Valparaíso - Chile
2017

INDICE

| | |
|--|----|
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| II. BÚSQUEDA DE INFORMACIÓN | 3 |
| III. MARCO TEÓRICO | 4 |
| III.1 OBTURACIÓN RADICULAR EN ENDODONCIA CONVENCIONAL (<i>COHEN Y COLS.,2006</i>) ³ | 4 |
| III.2 REGENERACIÓN DE LOS TEJIDOS PULPARES | 6 |
| III.3. INGENIERÍA TISULAR | 8 |
| III.4 EVIDENCIA ACTUAL SOBRE PROTOCOLOS DE REGENERACIÓN ENDODÓNTICA | 16 |
| III.4.1 FUNDAMENTO USADO EN REGENERACIÓN DENTARIA EN DIENTES NECRÓTICOS INMADUROS | 16 |
| III.4.2 REPORTES DE CASO DE REGENERACIÓN DENTARIA EN DIENTES MADUROS Y SUS PROTOCOLOS | 26 |
| IV. HIPÓTESIS | 41 |
| V. OBJETIVOS | 41 |
| VI. MATERIALES Y MÉTODOS | 42 |
| VII. RESULTADOS | 51 |
| VIII.DISCUSIÓN | 60 |
| IX. CONCLUSIONES | 64 |
| X. SUGERENCIAS | 65 |
| XI. RESUMEN | 66 |
| XII. REFERENCIAS | 67 |
| XIII. ANEXO | 75 |

I.INTRODUCCIÓN

A través de los años se han utilizado diferentes materiales y técnicas para la obturación endodóntica convencional, manteniendo el mismo principio: un material primario semisólido sumado a un agente cementante que permita alcanzar y sellar toda la anatomía del sistema de conductos radiculares (Bystrom y cols.,1987; Hammad y cols.,2008)^{1,2}. A pesar de la gran evidencia respecto a distintos materiales obturadores endodónticos como conos de plata, gutapercha o resinas, aún no se ha encontrado un material que cumpla con las características ideales de un materiales obturador (Hammad y cols.,2008)². La obturación tridimensional del espacio radicular es esencial para el éxito a largo plazo. El sistema de conductos debe ser sellado en el ápice, en la corona y por los lados. Se han propuesto varios métodos de obturación. Por desgracia, todos los materiales y todas las técnicas permiten filtraciones (Cohen y cols.,2006)³. Consideramos que un material obturador autólogo podría superar las deficiencias de los materiales obturadores existentes, además de ser biocompatible (no es alergénico ni patogénico siendo seguro para el paciente).

A medida que el conocimiento sobre la biología de la pulpa y su manejo avanza, los investigadores ya han buscado tratamientos con base biológica que pudiesen promover la regeneración del complejo dentino pulpar. Avances en el campo de la ingeniería tisular, han permitido a los clínicos desarrollar la "terapia de regeneración pulpar en dientes necróticos con ápice inmaduro". La eficacia de éste procedimiento ha sido demostrado en numerosas investigaciones (Banchs y Trope,2004; Hargreaves y cols.,2008; Diogenes y cols.,2013;Shimizu y cols.,2013)^{4,5,6,7}, y la Asociación Americana de Endodoncistas (AAE) lo ha adoptado como tratamiento desde el año 2011. Conceptualmente, la regeneración pulpar puede ser definida como la revascularización, inervación y restauración de las capas odontoblásticas que revisten la superficie dentinaria (Mao y cols.,2012)⁸. Y tiene por meta la restauración del complejo dentino pulpar, en el sistema de conductos radiculares (Paryani y Kim, 2013)⁹.

El plantear una terapia endodóntica regenerativa en dientes con ápices maduros resulta prometedor, ya que nos alejaría de la filosofía clásica de que un canal radicular debe ser obturado con gutapercha para el control de la patología endodóntica, sino que además podríamos mejorar la sintomatología, devolver la vitalidad del diente y por ende, obtener un mayor éxito en la terapia. Sin embargo, hay que considerar que realizar esta terapia en dientes maduros presenta muchos más desafíos que en dientes inmaduros. Entre las mayores limitaciones se encuentran el menor número de células madres progenitoras en los dientes maduros y vías apicales más estrechas para su migración (Paryani y Kim, 2013)⁹.

En vista de la evidencia existente sobre regeneración dentaria en ápices inmaduros, se han realizado reportes de casos (Paryani y Kim, 2013;Saoud y cols.,2014)^{9,10} y una serie de reportes de casos (Saoud y cols.,2016)¹¹ en dientes necróticos maduros donde se

obtuvieron dientes con ausencia de signos clínicos o sintomatología, resolución de periodontitis apical.

Es por estas razones, que el objetivo del presente estudio piloto, es validar un protocolo de regeneración pulpar en dientes con ápice maduro, propuesto por la Cátedra de Endodoncia Universidad de Valparaíso, para entregar una alternativa de tratamiento orientada a la regeneración de tejidos, basándonos en el protocolo aprobado por la AAE para dientes con ápice inmaduro.

II. BÚSQUEDA DE INFORMACIÓN

La estrategia de búsqueda de información para fundamentar el marco teórico, se basó en la búsqueda electrónica de la literatura en las siguientes bases de datos Online: PubMed, Cochrane DataBase Library, ScholarGoogle, Trip Data base y Wiley-Blackwell.

También una búsqueda manual a partir de las referencias bibliográficas de los artículos encontrados, tales como terapia regenerativa en ápice inmaduro que nos ayudó a fundamentar el protocolo de ápice maduro.

No se fijaron fechas límites debido a que es un tema bastante nuevo y ha sido básicamente presentado mediante reporte de casos clínicos.

Las palabras claves y operadores booleanos utilizados en la búsqueda electrónica se representan en la tabla I.

Tabla I. Búsqueda de evidencia, palabras claves y operadores booleanos

| Terapia Regenerativa Endodontica | | Diente con ápice maduro |
|----------------------------------|-----|-------------------------|
| Regenerative endodontics | AND | Mature tooth |
| OR | | |
| Pulp regeneration | | |
| OR | | |
| Revascularization | | |
| OR | | |
| Pulp tissue regeneration | | |

III.MARCO TEÓRICO

III.1 Obturación radicular en endodoncia convencional (Cohen y cols.,2006)³

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. En un primer estudio radiológico sobre éxito y fracaso, Ingle¹² indicaron que un 58% de los fracasos se debían a una obturación incompleta. Por desgracia, los dientes mal obturados suelen estar mal preparados. Desde el estudio clásico de Ingle¹² el interés se ha centrado en el desarrollo de materiales y técnicas para obturar el espacio radicular. Las tasas de éxito clínico después de un tratamiento endodóntico son altas, a pesar de las diversas condiciones, materiales y técnicas utilizadas. Pruebas circunstanciales indican que la limpieza y la conformación aportan un entorno aséptico y, al eliminar la causa de la patología, el método de obturación no es tan importante.

No es posible evaluar por completo el sellado establecido durante la obturación con una radiografía, y tiene importancia recordar que ningún material ni ninguna técnica evitan totalmente la filtración. De hecho, la obtención de un sellado impermeable puede no resultar posible por la estructura tubular porosa de la dentina y las irregularidades del conducto.

Dentro de los materiales usados como obturadores, encontramos los conos de plata, la gutapercha, Activ GP y Resilon.

La gutapercha es el material central más popular usado para la obturación. Sus principales ventajas son:

- Plasticidad
- Fácil manipulación
- Mínima toxicidad
- Radiopacidad
- Fácil eliminación con calor o disolventes

Las desventajas incluyen:

- Falta de adhesión a la dentina
- Retracción al enfriarse (en caso de ser calentada)

Se trata del isómero *trans* del poliisopreno (caucho) y existe en dos formas cristalinas (a y b). En la fase b sin calentar, el material es una masa sólida que puede condensarse. Al calentarlo, el material cambia a la fase a, se convierte en flexible y pegajoso, y puede fluir bajo presión. Un inconveniente de la fase a es que el material encoge al fraguar.

Los conos de gutapercha contienen aproximadamente un 20% de gutapercha, un 65% de óxido de cinc, un 10% de sustancias radiopacas y un 5% de plastificadores. Se ha intentado hacer gutapercha más antimicrobiana con la adición de materiales como yodoformo, Ca(OH)_2 , CHX y tetraciclina. No se ha demostrado la eficacia clínica de la adición de estos materiales.

La gutapercha a temperatura ambiente no puede ser comprimida ni fluye. La compactación transmite fuerzas al material y a la pared del conducto por un igual, y puede provocar fractura de la raíz. Es posible conseguir que la gutapercha fluya mediante calentamiento o con la adición de solventes como el cloroformo. Eso permite la adaptación a las irregularidades de las paredes de los conductos.

La forma a de la gutapercha se funde cuando es calentada por encima de los 65 °C. Si se la enfría muy lentamente, la forma a vuelve a cristalizar. El enfriamiento habitual conduce a recristalización de la forma b. Aunque las dos formas tienen las mismas propiedades mecánicas, cuando la gutapercha en forma a es calentada y enfriada, experimenta menos contracción, por lo que ofrece más estabilidad dimensional para las técnicas de termoplastificación. El uso de la gutapercha en fase a para la obturación se ha hecho más común al aumentar la popularidad de las técnicas termoplásticas.

Los conos de gutapercha se comercializan en tamaño estandarizado y no estandarizado (convencional). La nomenclatura convencional se refiere a las dimensiones de la punta y del cuerpo. Los conos estandarizados están diseñados para corresponder con la conicidad de los instrumentos de acero inoxidable y de níquel-titanio (NiTi). Aunque las puntas no pueden esterilizarse con calor, un estudio reciente encontró que las puntas de gutapercha debieran ser esterilizadas antes del uso mediante colocación de los conos en NaOCl al 5,25% durante 1 min (Cohen y cols., 2011)³.

Teniendo en consideración las ventajas y desventajas de los materiales de obturación, es que nos parece importante el desarrollo de una técnica endodóntica que no requiera de materiales exógenos para ser llevada a cabo.

III. 2 Regeneración de los tejidos pulpaes

La endodoncia regenerativa se define como la terapia con fundamentos biológicos diseñados para reemplazar en forma predecible estructuras dañadas, enfermas o perdidas, incluyendo dentina, cemento y complejo dentinopulpar a través de tejidos viables preferentemente del mismo origen que permiten restaurar las funciones fisiológicas normales del complejo dentinopulpar.

Los dientes inmaduros permanentes con necrosis pulpar han sido tratados, tradicionalmente, con procedimientos de apexificación mediante el uso de hidróxido de calcio en tratamientos a largo plazo, cuyas complicaciones son la debilitación del diente y el riesgo de fractura cervical. Un método más reciente de apexificación implica el uso de MTA (Agregado Trióxido Mineral) como una barrera apical, seguida por la colocación de un material de relleno o de obturación del conducto (Diógenes y cols.,2013)⁶. La apexificación con MTA ofrece ventajas superiores sobre el método tradicional con hidróxido de calcio, reduciendo el número de citas de tratamiento, aumentando el cumplimiento del paciente, mejorando la tasa de cicatrización y reduciendo el riesgo de fractura posterior (Diógenes y cols.,2013)⁶. Otros resultados como la formación de barrera apical pueden ser similares entre los dos métodos (Hargreaves y cols.,2008)⁵. Sin embargo, es importante señalar que la apexificación por hidróxido de calcio o MTA impide completamente cualquier desarrollo radicular adicional en términos de aumento de las medidas radiográficas de la longitud o el ancho de la raíz. Por lo tanto, el diente inmaduro tratado por procedimientos de apexificación demuestra la cicatrización de periodontitis apical, pero no logra los objetivos de desarrollo continuo radicular o restauración de tejido pulpar funcional (Hargreaves y cols.,2013)⁵.

El 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 las células pulpaes vitales remanentes en la porción apical del conducto radicular, capaces de migrar en el interior de este, restableciendo un tejido pulpar funcional y llevando a la progresión de la formación radicular (Huang, 2009)¹³. Los primeros intentos de revascularización se llevaron a cabo en el año 1961, pero sus resultados no fueron completamente los esperados debido a las limitaciones tecnológicas, materiales e instrumentos disponibles en el momento. Con el avance de la tecnología, otros investigadores si lograron poner en marcha esta técnica (Shah y cols., 2008)¹⁴.

El concepto de *regeneración* del tejido pulpar fue promulgado por los estudios clásicos de Nygaard-Ostby¹⁵, quienes evaluaron los efectos de la hemorragia evocada por la sobre instrumentación de sistemas de conductos radiculares humanos. Desafortunadamente, el análisis histológico no reveló regeneración del complejo pulpa-dentinario. En el año de 1966 Rule y Winter, documentaron el desarrollo radicular y la formación de una nueva barrera apical en casos de necrosis pulpar en dientes permanentes jóvenes. En 1972, Ham y colaboradores,

demonstraron el 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 las células mesenquimatosas del periápice, buscando la aposición de material calcificado tanto a nivel del ápice como en las paredes laterales dentinarias (Banchs y Trope, 2004; Huang, 2009; Shah y cols., 2008)^{4,13,14}.

En el año 2001, Iwaya y colaboradores, y en el 2004, Banchs y Trope, demostraron las ventajas de esta modalidad de tratamiento, que resulta en una imagen radiográfica aparentemente normal de maduración de la raíz completa versus los resultados de solo alcanzar la formación de una barrera apical tras la apexificación convencional con Hidróxido de calcio, entregando resultados esperados (Banchs y Trope, 2004; Huang, 2009; Shah y cols., 2008; Petrino y cols., 2010; Bansal y Bansal, 2011)^{4,13,14,16,17}.

En el 2011, un estudio (Lovelace y cols.,2011)¹⁸ mostró que un número substancial de células madre mesenquimáticas indiferenciadas, son liberadas dentro del sistema de conductos luego de los procedimientos regenerativos endodónticos (PRE). Este hallazgo representa un punto crucial, ya que los protocolos de PRE anteriores, apuntaban a proveer el máximo de desinfección, sin considerar el impacto sobre las células madre (Lovelace y cols.,2011)¹⁸. 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 (Langer y Vacanti, 1993)¹⁹.

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 (Diogenes y cols.,2013)⁶. 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 (Jung y cols., 2008)²⁰. El estudio de estas células y su utilización se ha llevado a cabo através de la ingeniería tisular, que hoy en día es un área de mucha investigación (Ulmer y cols., 2010)²¹.

III.3. Ingeniería tisular

III.3.1. Generalidades

El término “ingeniería tisular” fue acuñado por Langer y Vacanti¹⁹, a principios de los años 90. El término se define como un campo multidisciplinario que involucra los conceptos de ingeniería y ciencias de la vida, orientado al desarrollo de principios biológicos que buscan restaurar, mantener o mejorar la función del tejido¹⁹.

El concepto se basa en tres componentes básicos (Fig 1), que son las células madre, la matriz de andamiaje y factores de crecimiento (Bansal y Bansal, 2011; Zhang y Yelick, 2010)^{17,22}.

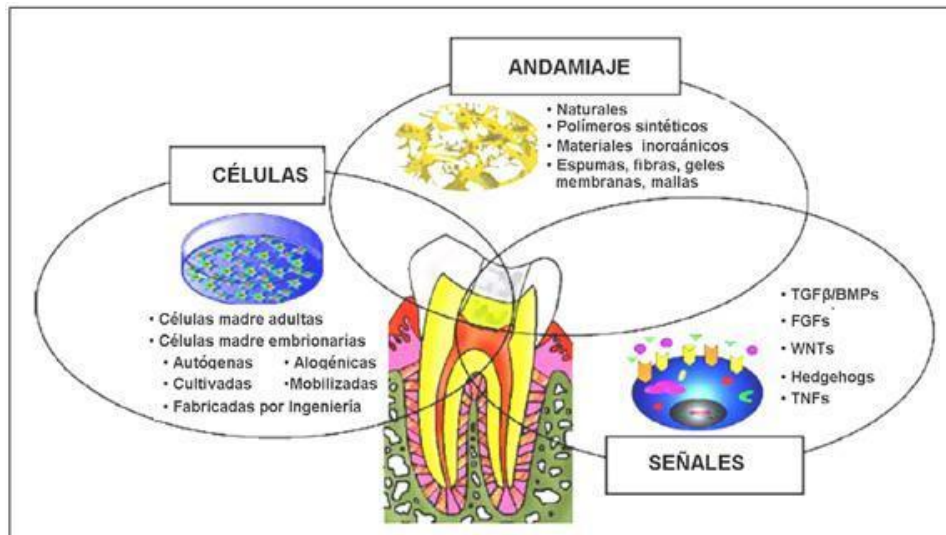


Fig.1 Componentes de la Regeneración Tisular¹⁹ (Nakashima, 2005)

III.3.1.1 Células Madre

Las células madre se definen como clonogénicas, auto regeneradoras y progenitoras de células que pueden generar uno o más tipos de células especializadas (Diógenes y cols.,2013)⁶. Siendo uno de los elementos claves de la triada de la ingeniería tisular. 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 (Bansal y Bansal,2011)¹⁷. En la regeneración endodóntica, las células madre más prometedoras son las células madre posnatales dentales autólogas por presentar menor posibilidad de rechazo y mayor capacidad de desarrollo odontogénico al compararlo con células no dentales (Nakashima y Akamine,2005)²³.

Las células madre pueden ser clasificadas según potencialidad en:

1. Las células pluripotenciales tienen la capacidad de convertirse en células especializadas de cualquiera de las tres capas germinales, y sólo pueden encontrarse en el desarrollo embrionario o por medio de inducción génica de las células somáticas (Okita y cols.,2007)²⁴.
2. Las células madre multipotenciales pueden diferenciarse pero sólo en las células del tejido que deriva, todas las células madre adultas restringen su diferenciación (Okita y cols.,2007)²⁴.
3. Las células madre embrionarias, son aquellas localizadas en el interior de la masa celular en la etapa blastocística del desarrollo, y como células madre adultas se pueden encontrar en “nichos células madre”(Moradela y cols.,2006)²⁵.

Las células madre adultas han sido aisladas de varios tejidos y fluidos, como la médula ósea, sangre periférica, placenta, líquido amniótico, músculo esquelético, sistema nervioso central, bulbo olfatorio, retina e hígado. Recientemente, las poblaciones de células madre mesenquimáticas, han sido aisladas de los tejidos dentales (Diogenes y cols.,2013)⁶.

Las células madres extraídas de tejidos orales cumplen requisitos esenciales como expresar CD73, CD90, CD105 y tener la capacidad de diferenciarse en osteoblastos, adipocitos y condrocitos in vitro e in vivo (Huang y cols.,2009) ¹³ (Fig.2). Las células madres extraídas de tejidos orales provienen de células madres de la pulpa dental, de dientes humanos temporales exfoliados, ligamento periodontal, folículo dental progenitor y células madres de la papila apical.

Las células madre de la pulpa dental y de los dientes temporales humanos exfoliados, se originan de la cresta neural craneal y expresan marcadores de células madre mesenquimáticas y neuroectodérmicas(Hargreaves y cols.,2013)⁵. Esto explica su multipotencialidad y pluripotencialidad. Estudios han mostrado que estas células tienen la capacidad diferenciarse en odontoblastos (Hargreaves y cols.,2013)⁵.

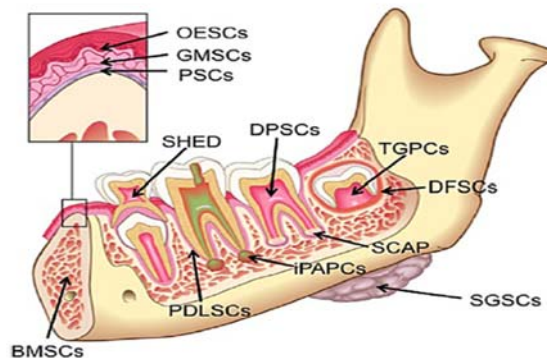


Fig.2 Fuentes potenciales de células madre en el ambiente oral. Células progenitoras obtenidas desde germen dentario (TGPCs), folículo dentario (DFSCs), glándulas salivales (SGSCs), papila apical (SCAP), pulpa dentaria (DPSCs), periápice inflamado (iPAPCs), dientes temporales exfoliados (SHED), ligamento 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). Hargreaves y cols., 2013⁵.

Las células madre de la papila apical (SCAP), fueron caracterizadas por primera vez en 2006 (Sonoyama y cols.,2006)²⁶. La papila apical es un depósito denso de células madre mesenquimáticas indiferenciadas, de gran proliferación y capacidad de diferenciación odontogénica (Sonoyama y cols.,2006)²⁶.

Es importante destacar que las SCAP son reguladas por la vaina epitelial de Hertwig a través de una serie de interacciones epitelio-mesénquima, que dicta la forma y el desarrollo radicular (Xu y cols.,2009)²⁷. 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 (Xu y cols.,2009)²⁷. Las células madre de la papila apical 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 (Sonoyama y cols.,2006)²⁶.

En el 2011, Lovece¹⁸ propuso que las células madre pueden sobrevivir a una microflora compleja, a gran variedad de enfermedades con mediadores inflamatorios, células inmunes, y presumiblemente, a bajo nivel de oxígeno, como lo es la periodontitis apical. La razón biológica de la aparente supervivencia, a pesar de las condiciones difíciles, se puede explicar por la baja densidad de los vasos sanguíneos en apical de la papila en comparación con la pulpa dental adyacente, mientras que el folículo dental que rodea la papila apical es altamente vascularizado y puede actuar como un lecho capilar para suministrar nutrientes a SCAP (Xu y cols.,2009)²⁷. Por lo tanto, parece que las SCAP están equipadas para recibir los nutrientes y el oxígeno a través de tejidos de difusión de la zona apical, tales como el folículo dental, y posiblemente el muy vascularizado tejido granulomatoso presente en periodontitis apical.

Otros estudios clínicos relacionados, refutan la teoría anterior indicando que las principales fuentes de células madre serían los tejidos periapicales (PDLSC) ya que están presentarían capacidades de diferenciación similares a las SCAP, y además se encontrarían en mayor número al momento de estimular el sangrado de los tejidos adyacentes (Law,2013)²⁸.

Las características de las células madre en endodoncia, dan un argumento biológico razonable para llevar a cabo la terapia de regeneración en endodoncia, como una alternativa de tratamiento a dientes maduros (Volponi y cols.,2010)²⁶. El aumento de investigaciones en esta área, han demostrado que la cavidad oral es una excelente fuente de células madre mesenquimales multipotentes y debemos reconocer la promesa del emergente campo de la odontología regenerativa.

III.3.1.2 Matriz de andamiaje

La matriz de andamiaje provee apoyo en la organización celular, proliferación y vascularización. Entre sus características es ser porosa para permitir la colocación de células, biocompatible con el tejido huésped, biodegradable debido a que se degrada a medida que lo sustituye tejido regenerativo y eficaz en el transporte de nutrientes y residuos (Hargreaves y cols.,2013;Volponi y cols.,2010)^{5,29}.

Los procedimientos regenerativos en endodoncia han utilizado dentina, coágulo sanguíneo⁶,el plasma rico en plaquetas (Torabinejad y Turman, 2011) ³⁶ o fibrina rica en plaquetas(Hotwani y Sharma, 2014)³¹ para proporcionar andamios en el canal radicular.

La mayoría de las investigaciones en ingeniería tisular utilizan biomateriales como matriz de andamiaje que ya han sido aprobados por la FDA. Estas estructuras pueden ser, naturales (colágeno, ácido hialurónico, quitosano y quitina) o sintéticas (ácido poliláctico, ácido poliglicólico, fosfato tricálcico, hidroxiapatita) (Chandrasekhar y cols.,2011)³². Recientemente, nanofibras de hidrogel de péptidos y varios geles de fibrina se han investigado como potenciales andamios para la ingeniería tisular de la pulpa dental (Galler y cols.,2011)³³. El colágeno es el andamio natural más estudiado (Galler y cols.,2011)³³. Los andamios sintéticos más utilizados son polímeros de lactida y glicolida. 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 (Bansal y Bansal, 2011)¹⁷. 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(Zhang y Yelick, 2010)²².

III.3.1.2.1 Matriz de andamiaje en base a coágulo sanguíneo

Protocolos en la creación de matrices de andamiaje, sugieren la inducción intencional de sangrado desde el periápice y la formación de un coágulo sanguíneo intraconducto (AAE). Muchos casos han sido publicados (Chandrasekhar y cols.,2011;Galler y cols.,2011; Prakash y Thakur,2011)^{32,33,34}, demostrando el éxito de las matrices con coágulos sanguíneos; sin embargo, como no siempre es posible inducir el sangrado intraconducto, es que los investigadores comenzaron a examinar otros andamios tridimensionales (Prakash y Thakur,2011)³⁴.

III.3.1.2.2 Matriz de andamiaje en base a plaquetas

La sangre y sus productos, se han utilizado ampliamente con múltiples propósitos. Su función plaquetaria y hemostática, incentivó investigaciones de los mediadores involucrados, reconociendo la presencia de variados factores de crecimiento con funciones específicas (Law, 2013)²⁸. 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.

Sellantes de fibrina

Los sellantes de fibrina fueron los primeros utilizados, disponibles en el comercio europeo en 1970. Son agentes quirúrgicos y hemostáticos, derivados de productos del plasma humano cuya función es reproducir el paso final de la cascada de la coagulación, formando un coágulo estable. Está compuesto por fibrinógeno, trombina, factor XIII, aprotinina y cloruro de calcio. Debido a que eran preparados con materiales alógenicos, existía mucho riesgo de infección cruzada dejando de fabricarse (Prakash y Thakur, 2011)³⁴.

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. El conteo normal de plaquetas sanguíneas está en un rango entre 150000/ul a 350000/ul, el uso de PRP en zonas quirúrgicas las aumenta hasta 1000000/ul.(Prakash y Thakur,2011)³⁴. Las concentraciones del factor de plaquetas, leucocitos, y de crecimiento varían de acuerdo a la concentración de plaquetas utilizados en la preparación. Como resultado, la nomenclatura de los productos de PRP hace referencia a las diferentes fracciones que se pueden obtener de acuerdo con el método utilizado: factores de crecimiento de plasma rico en (PRGF), factores de crecimiento y de plasma rico en plaquetas (PRPGF), plasma rico en plaquetas (PRP), plasma pobre en plaquetas (PPP), rico en leucocitos plasma rico en plaquetas (PRP-LR), y leucocitos de los pobres plasma rico en plaquetas (PRP-LP) (Prakash y Thakur,2011)³⁴.

Este plasma, es una fuente rica en factores de crecimiento alcanzando hasta un 38% más en las zonas en que se utilizan, se cree que su aplicación es una forma

efectiva para inducir la reparación y regeneración tisular (Goyal y cols.,2011)³⁵. Las membranas de plaquetas han demostrado estimular la actividad mitótica de las células osteoblásticas. El plasma rico en plaquetas contiene factores de crecimiento encargados en generar colágeno, guiando a otras células a la zona de interés, produce agentes antiinflamatorios, mejorando la reparación de tejidos duros y blandos (Torabinejad y Turman, 2011)³⁶. Los factores de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) y el factor de crecimiento transformante β (TGF- β) son los responsables de aumentar la velocidad de regeneración y podían ser separados mediante centrifugación para ser aplicados (Law,2013)²⁸.

Actualmente, 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 centrifugarlo nuevamente, pero a mayor velocidad, depositándose al fondo del tubo el contenido a utilizar, que junto al cloruro de calcio y trombina permiten su gelificación (Prakash y Thakur,2011)³⁴.

Entre las características esenciales del PRP se encuentran la entrega de soporte para la reparación de tejidos, mineralización más rápida, ayuda a dar estabilidad, localiza las citoquinas y factores de crecimiento, creando un coágulo firme, con alto grado de osteoconducción y osteoinducción (Galler y cols.,2012)³³. La principal limitación se centra en el uso de trombina bovina para la gelificación, aunque también la falta de uniformidad en protocolo de preparación de PRP (Prakash y Thakur,2011)³⁴.

Fibrina Rica en Plaquetas (Segunda Generación de plaquetas)

En el año 2001,Choukroun desarrolló un concentrado de plaquetas de segunda generación, denominada fibrina rica en plaquetas (FRP). 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(He y cols.,2009)³⁷. 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(Wu y cols,2006)³⁸.

La FRP consiste en un montaje de citoquinas, con cadenas glicánicas, glicoproteínas estructurales enredadas lentamente dentro de un polimerizado de fibrina, que permiten sinérgicamente lograr el proceso de curación. Además, puede estimular los mecanismos de defensa. El rol de la matriz de fibrina involucra guiar la angiogénesis y dar un apoyo natural a la inmunidad (Prakash y Thakur,2011)³⁴.

En la terapia contemporánea no quirúrgica, los canales radiculares desinfectados son obturados con materiales exógenos al organismo, como gutapercha y cemento sellador. Estos deberían actuar como una barrera física para bacterias en los túbulos dentinarios y sellar la comunicación del canal radicular con los tejidos periapicales³⁸. Sin embargo, la efectividad de los rellenos radiculares para impedir el paso a las bacterias ha sido cuestionado(Wu y cols.,2006)³⁸.

Con los procedimientos regenerativos, el crecimiento y desarrollo de células y la vascularización es alcanzado al proveer de una matriz de andamiaje que puede ser infundida con una variedad de factores de crecimiento (He y cols.,2009)³⁷. El protocolo sugerido para la creación de una matriz conlleva la inducción intencional de sangrado desde el periápice, con la subsecuente formación de un coágulo intraconducto (Bezgin y cols.,2015)³⁹.

Bezgin³⁹ ha demostrado la utilidad de los concentrados de plaquetas en la regeneración de tejidos, ya que comprenden una concentración elevada de factores de crecimiento e incrementan la proliferación celular con el tiempo, al compararse con las matrices de coágulo sanguíneo. Existen varios estudios in vitro que apoyan la influencia directa de la concentración de factores de crecimiento, sobre la migración celular, proliferación y síntesis de matriz(Narang y cols.,2015)⁴⁰.

En un reciente estudio de Narang (2015)⁴⁰, se comparó el potencial regenerador del coágulo sanguíneo, del PRP y el FRP, en dientes permanentes inmaduros de jóvenes menores de 20 años de edad. Se encontró que el FRP presentaba efectos beneficiosos por sobre las otras dos matrices en cuanto a la maduración de los dientes inmaduros necróticos. Los investigadores (Narang y cols.,2015)⁴⁰ entregan las siguientes posibles causas:

1. Las citoquinas son moléculas solubles pequeñas que permanecen atrapadas en la matriz de FRP, lo que implica una incorporación íntima de estas moléculas en la estructura molecular del polímero.
2. La polimerización más lenta del FRP permite la formación de una malla tridimensional más flexible dando soporte a citoquinas y a la migración celular.
3. El FRP muestra mecanismos osteopromotores y se asocia con la liberación significativa de citoquinas, siendo el 81% del total factor transformante de crecimiento $\beta 1$ y factor de crecimiento derivado de plaquetas AB, continuamente alcanzando su pick el día 14.
4. El PRP genera una intensa proliferación de células óseas mesenquimáticas (BMSC) pero inhibe la diferenciación. La FRP de Choukroun, muestra diferenciación y proliferación de las BMSC, sin citotoxicidad a células madre de la pulpa dental.
5. La FRP es un biomaterial autólogo y no un "pegamento" de fibrina improvisado. A diferencia del PRP, la FRP de la técnica de Choukroun no se disuelve rápidamente luego de su aplicación, sino que es remodelado lentamente en una forma similar al coágulo natural.

III.3.1.3 Factores de crecimiento

En la región periapical coexisten dos líneas de células madre, las hematopoyéticas (HSCs) que derivan de la médula ósea, y las ecto-mesenquimáticas (MSCs) que derivan del mesodermo embrionario¹². Las primeras son precursoras de los “clastos”, es decir monocitos-macrófagos, neutrófilos, células dendríticas, línea linfocítica y osteoclastos. Las segundas son capaces de diferenciarse en “blastos” que incluyen entre otras, a células del estroma, adipocitos y osteoblastos.

La respuesta celular a los mediadores inflamatorios y factores tróficos, va a ser diferente según el linaje al cual pertenezca el tipo celular (Hargreaves y cols., 2013)⁵.

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- κ B (Activador central del TNF), RANK y OPG (Receptor señuelo homólogo al RANK-L) (Diogenes y Ruparel, 2017; Langer y Vacanti, 1993)^{41,19}.

Los factores de crecimiento son un conjunto de sustancias, la mayoría de naturaleza proteica que junto con las hormonas y los neurotransmisores desempeñan una importante función en la comunicación intercelular. La función principal de los factores de crecimiento es la del control externo del ciclo celular, mediante el abandono de la quiescencia celular (G_0) y la entrada de la célula en fase G_1 (Bansal y Aditya, 2015)⁴¹. Estos factores mantienen la supervivencia celular y actúan como factores de vida y estímulo a la migración, diferenciación y apoptosis, controlando el ciclo celular. Los factores de transcripción al ser activados adquieren la capacidad de regular la expresión génica en el núcleo celular, encendiendo o apagando diversos genes (Bansal y Aditya, 2015)⁴².

En una lesión periradicular, la regeneración integral del cemento dental, periodonto y cortical alveolar puede lograrse, mediante la inducción de células del estroma por estimulación de las células madre del nicho periapical (Bansal y Aditya, 2015)⁴¹. Previamente deben cumplirse, 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 (Diogenes y Ruparel, 2017)⁴¹.

III.4 Evidencia actual sobre protocolos de regeneración endodóntica

III.4.1 FUNDAMENTO USADO EN REGENERACIÓN DENTARIA EN DIENTES NECRÓTICOS INMADUROS

La terapia endodóntica regenerativa es una opción de tratamiento para dientes necróticos inmaduros. Estos dientes presentan numerosos desafíos en el tratamiento, tales como un canal radicular ancho y un ápice abierto dificultando las técnicas convencionales de desbridamiento mecánico y de obturación radicular (Diogenes y Ruparel, 2017)⁴¹.

Actualmente, se ha demostrado mediante numerosos reportes de caso que los procedimientos regenerativos en endodoncia estimulan la formación de tejido duro, continuación del desarrollo radicular y fortalecen la estructura radicular (Diogenes y Ruparel, 2017)⁴¹.

Problema clínico

El desarrollo del diente es un proceso complejo y largo de organogénesis postnatal. Un diente puede tardar 3 años adicionales después de la erupción para completar su desarrollo visto como una maduración completa de la raíz (Moorrees y cols., 1963)⁴³. El desarrollo completo del diente está en riesgo de inflamación pulpar y necrosis debido a trauma, caries y anomalías dentales de desarrollo, tales como dens evaginatus (Diogenes y cols., 2013)⁶. La pérdida de un diente permanente inmaduro en pacientes jóvenes con dentición mixta puede ser devastadora, conllevando a la pérdida de función; Alteración del desarrollo óseo maxilar y mandibular; Interferencias con fonética, respiración y masticación; Además, los implantes están contraindicados en pacientes en desarrollo craneosquelético, ya que su uso se ha asociado con interferencias en el crecimiento orofacial normal (Heij y cols., 2006)⁴⁴. La mayor parte de los casos tratados con REP son de dientes con desarrollo radicular en estadios 2 a 5, que incluyen dientes con al menos la mitad de la raíz formada pero con un ápice abierto o dientes que lograron la máxima elongación de la raíz pero carecen de espesamiento de la pared dentinaria y se presentan con un ápice abierto.

El uso preferencial de REPs en dientes inmaduros se basa en gran medida en la observación de la literatura de traumatismo de que los dientes inmaduros tienen

un mayor potencial de "auto-revascularización" después de un trauma severo. En un estudio, los dientes replantados después de la avulsión tuvieron un cambio significativamente mayor en la recuperación de las respuestas de vitalidad de la pulpa si el ápice demostró por lo menos 1 mm de diámetro en una radiografía periapical (Kling y cols.,1986)⁴⁵.

El proceso de formación de tejidos en la endodoncia regenerativa difiere enormemente del proceso de revascularización de una pulpa estéril existente como se ve en la reimplantación, se basa igualmente en la angiogénesis y en el ingreso de nuevos vasos al foramen apical (Lovelace y cols.,2011)¹⁸. Los clínicos confían en la transferencia de células madre mesenquimatosas indiferenciadas (MSCs) en el sistema del conducto radicular que se alcanza por el sangrado evocado de la región apical, incluyendo posiblemente la papila apical (Chrepa y cols.,2015)⁴⁶.

Resultados clínicos

Objetivo de tratamiento primario

La principal preocupación de un clínico debe ser 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) (Diogenes y cols.,2017)⁴¹. Por lo tanto, el objetivo terapéutico primario de los REPs debe ser la resolución de la periodontitis apical, promoviendo la supervivencia y la función del diente.

En 2012, un estudio retrospectivo tuvo como objetivo comparar directamente los resultados clínicos de la apexificación y los REP (Jeeruphan y cols.,2012)⁴⁷, 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 REP, el 95% de la apexificación de la MTA y el 77% de los casos de apexificación con hidróxido de calcio. Por otra parte, otro estudio retrospectivo (Alobaid y cols.,2014) 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.

Objetivo de tratamiento secundario

Un objetivo terapéutico secundario de los REPs es el desarrollo continuo de las raíces. Jeeruphan y cols⁴⁷, informaron que los dientes tratados con revascularización mostraron un aumento porcentual significativamente mayor en la longitud de la raíz (14.9%) en comparación con los dientes tratados con apexificación de MTA (6.1%) o con apexificación de hidróxido de calcio (0.4%). También reportaron que el protocolo de revascularización produjo aumentos significativamente mayores en el ancho de la raíz (28.2%) en comparación con los

dientes tratados con la apexificación de MTA (0.0%) o con la apexificación de hidróxido de calcio (1.52%).

Colectivamente, los estudios que usan análisis cuantitativos han proporcionado evidencia de que los REP promueven el aumento en el desarrollo de raíces radiográficas en la mayoría de los casos, pero no en todos. Los factores que influyen en esta falta de respuesta en ciertos casos son en gran parte desconocidos, pero podrían incluir la persistencia de biofilms o antígenos bacterianos, la naturaleza de la etiología, el retraso en el tratamiento y el impacto de los agentes de desinfección en la creación de un microambiente conducente a regeneración.

Objetivo de tratamiento terciario

El retorno de la vitalidad de la pulpa se ha informado en aproximadamente el 50% de todos los REP publicados (Diogenes y cols.,2013)⁶. La presencia de nociceptores funcionales después de REPs sugiere que las terminaciones nerviosas libres en apical son guiadas hacia el canal por señales químicas específicas. Tal vez este proceso de orientación axonal es similar a la orientación de los axones de las neuronas sensoriales trigeminales que se acumulan formando un plexo debajo del órgano del diente y el folículo dental, pero no entran en la papila apical hasta el final campana etapa y durante el proceso de erupción. Este proceso está guiado por un equilibrio entre las moléculas neuro atrayentes y las neurorepulsoras (Fried y cols.,2007). Las células indiferenciadas de la papila apical o las células madre de la papila apical durante el desarrollo del diente expresan estas moléculas en las primeras etapas del desarrollo dental, Y han sido implicados y el tipo de célula primaria guiando la navegación axonal y dirigiéndose hacia el diente en desarrollo (Fried y cols.,2007).

Un estudio reciente buscó investigar si el SCAP post-desarrollo podría dirigir la segmentación e inervación neuronal del trigémino. Demostró que el SCAP de un tercer crecimiento molar logró la regeneración pulpar, incluyendo la inervación, en perros con el uso de trasplante autólogo de DPSC. Similarmente, se encontró que estas células expresaban altos niveles de BDNF en comparación con MSC adiposo y de médula ósea (de Almeida y cols.,2014). Colectivamente, estos hallazgos apoyan la hipótesis de que MSCs transferidos al conducto radicular durante los REP son importantes en el reclutamiento de fibras aferentes primarias apicales a través de un mecanismo específico de focalización axonal postnatal. El mecanismo exacto por el cual estas neuronas recién contratadas responden a los diferentes estímulos utilizados en la prueba de vitalidad merece más investigación. Sin embargo, la presencia de inervación sugiere la presencia de un tejido vital que es inmunocompetente debido a la íntima asociación de la inervación con los vasos sanguíneos y el sistema inmune. También sugiere la recuperación de la nocicepción que es crucial para la detección de una lesión real o potencial en el órgano del diente.

Mecanismos que permiten 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.

Es posible que algunas células pulpares vitales permanezcan en la zona apical radicular. Estas células pueden proliferar en la matriz ya formada dentro del conducto y diferenciarse en odontoblastos bajo la influencia de las células epiteliales de Hertwig, que son bastante resistentes a la destrucción, en frente a procesos inflamatorios. Los nuevos odontoblastos pueden ocupar la zona de dentina atubular apical, permitiendo la formación radicular, así como en las paredes dentinarias, permitiendo su engrosamiento y reforzando la raíz (Shah y cols., 2008; Estrela y cols., 2011; Neha y cols., 2011)^{14,51,52}

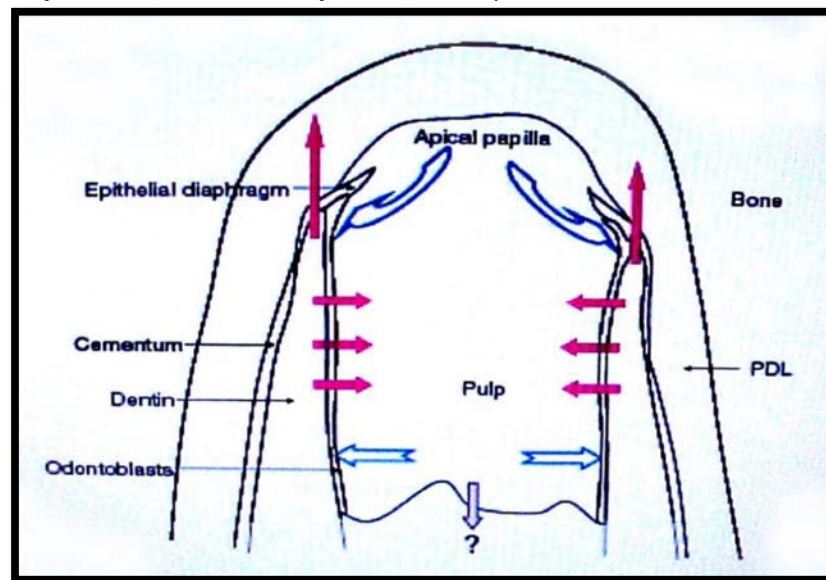


Fig. 3: Regeneración pulpar necrótica hipotética a partir de células pulpares remanentes viables. El signo de interrogación indica que el tipo de tejido que se forma dentro del conducto radicular no ha sido completamente dilucidado a la fecha. (Huang, 2009)¹³.

Otro mecanismo posible puede atribuirse a la presencia de células madre pulpares multipotenciales que se encuentran en dientes permanentes y son abundantes en dientes inmaduros. Estas células podrían aponerse en las paredes dentinarias preexistentes y diferenciarse en odontoblastos, secretando dentina terciaria o atubular (Shah y cols., 2008; Neha y cols., 2011)^{14,52}.

El tercer mecanismo puede atribuirse a la presencia de células madre en el ligamento periodontal, 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. La documentación existente muestra intervención principalmente en las fibras de Sharpey (Shah y cols., 2008; Neha y cols., 2011)^{14,51}.

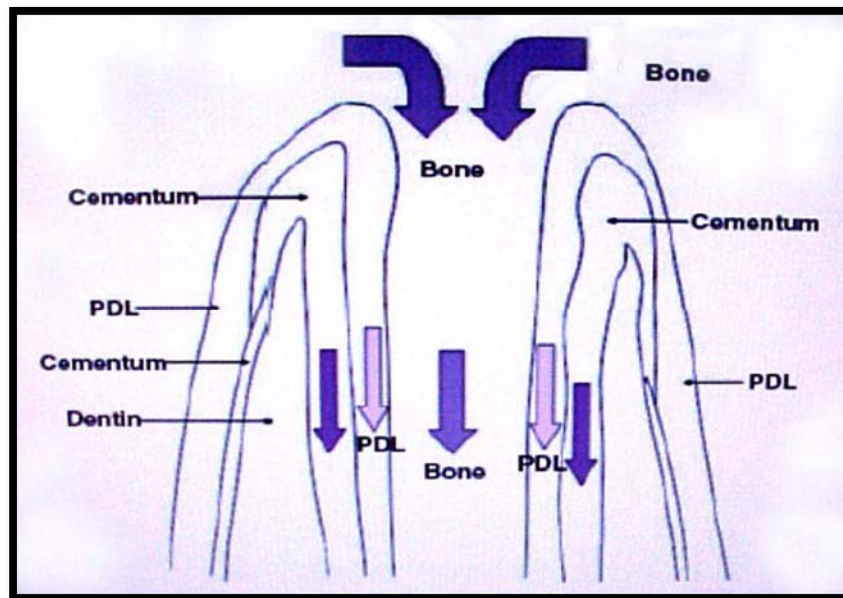


Fig. 4: Crecimiento de tejido periodontal y óseo hacia la zona interna del conducto radicular vacío. (Huang, 2009)¹³

El cuarto mecanismo está asociado a la presencia de células madre a nivel de la papila apical o la medula ósea. La instrumentación más allá del foramen para inducir sangramiento de la zona apical, además puede transplantar células madre mesenquimáticas desde el hueso al interior del conducto radicular. Estas células tienen una capacidad proliferativa elevada. Estudios in vivo han demostrado la capacidad de formar hueso y dentina de las células madre obtenidas a partir de la papila apical. (Shah y cols., 2008; Sonoyama y cols., 2008; Estrela y cols., 2011; Neha y cols., 2011)^{14,26,51,52}.

Por último, otro posible mecanismo, el cual también es aplicado en este protocolo, es el uso de un coágulo de sanguíneo o matriz de andamiaje debido a su alto contenido en factores de crecimiento. Estos factores pueden ser: factor de crecimiento epitelial derivado de plaquetas y factor de crecimiento tisular. Estas moléculas pueden estimular la diferenciación y crecimiento y maduración de fibroblastos, odontoblastos, cementoblastos, entre otros, a partir de células inmaduras indiferenciadas que encontramos en la nueva matriz formada. (Shah y cols., 2008; Estrela y cols., 2011; y Neha y cols., 2011)^{14,51,52}.

Siendo estos últimos dos mecanismos los utilizados por el protocolo propuesto por la cátedra de Endodoncia de la Universidad de Valparaíso para buscar la revascularización de un diente permanente maduro.

Si bien se ha demostrado que incluso a través del examen de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR) que las células inmaduras diferenciadas logran ocupar el conducto radicular tras la desinfección y la provocación del sangramiento de los tejidos periapicales, el uso de estas técnicas altamente avanzadas no han permitido determinar con exactitud el origen de las células (Lovelace y cols., 2011)¹⁸.

PROTOCOLO ASOCIACIÓN AMERICANA DE ENDODONCIA: TRATAMIENTO ENDODÓNTICO REGENERATIVO EN DIENTES NECRÓTICOS INMADUROS

La Asociación Americana de Endodoncia (AAE), en el año 2013 presentó un protocolo formal basado en la evidencia disponible. Este protocolo se actualiza periódicamente, y

Antes de empezar el tratamiento se seleccionan los casos (dientes no vitales y ápice inmaduro, que no necesiten rehabilitación con perno), y siempre se dispone de un consentimiento informado. Las recomendaciones son las siguientes:

Para la primera cita, previa evaluación radiográfica, y paciente asintomático

1. Enjuague con clorhexidina al 0,12%.
2. Anestesia local con vasoconstrictor, aislamiento absoluto y acceso cameral.
3. Determinación de longitud de trabajo (LT).
4. Mínima preparación mecánica del conducto.
5. Copiosa y abundante irrigación con 20 ml de hipoclorito de sodio al 1.5%, suero, EDTA al 17%, y suero como irrigación final.
6. Secado del conducto.
7. Colocación de la PTA (hoy eliminado) o el hidróxido de calcio.
8. Sellado con Ionómero Vítreo.
9. Consulta en 15 días.

Antes de la segunda sesión es de vital importancia la evaluación de signos y síntomas.

Para la segunda cita

1. Anestesia con mepivacaína al 3% y aislamiento absoluto del diente afectado.
2. Eliminar la medicación con suero abundante.
3. Repaso de preparación biomecánica.
4. Copiosa irrigación con 20 ml de hipoclorito de sodio al 1,5%, suero, EDTA al 17%, y suero final.
5. Secado con puntas de papel absorbente.
6. Provocación del sangrado por sobreinstrumentación.
7. Detención del sangrado a 3 mm por debajo de la unión cemento-esmalte.
8. Uso de Collapug dentro del orificio en caso de ser necesario.
9. Colocación de MTA hasta el tercio medio del conducto radicular, reforzamiento con cemento ionómero de vidrio y restauración final.

En los seguimientos:

1. Presencia de inflamación o no.
2. Resolución de la zona radiolúcida (6-12 meses del tratamiento)
3. Ensanchamiento de las paredes (12-24 meses después del tratamiento).
4. Alargamiento de la raíz.

JUSTIFICACIONES

Irrigación

Respecto a la irrigación, la AAE propone para dientes necróticos inmaduros el uso de NaOCl al 1.5% (20ml), esto lo vemos fundado en estudios actuales, que respaldan esta decisión. La indicación de irrigar con NaOCl al 1.5%, está basado en que concentraciones superiores a 3%, a pesar de tener favorable acción antimicrobiana, se considera que son citotóxicos para células del ligamento periodontal y las células madre de la papila apical (SCAP), impidiendo su diferenciación, en modelos *in vitro* e *in vivo* (Casagrande y cols., 2010; Galler y cols.,2011)^{53,54}. Además, este efecto es prolongado sobre la dentina, persistiendo luego de que el agente ha sido removido, sugiriendo que el NaOCl tiene un efecto citotóxico directo e indirecto⁵⁴. Así, el acondicionamiento con NaOCl en su máxima concentración usada clínicamente, lleva a una gran disminución en la sobrevivencia y diferenciación de las células tipo odontoblastos (Diogenes y cols.,2014)⁵⁵.

Al evaluar la sobrevivencia de las células madres de la papila, cultivadas en un modelo de conducto radicular, previamente irrigado con varias combinaciones de agentes químicos usados comúnmente. Se encontró que el acondicionamiento de la dentina con EDTA al 17%, promovía una mayor sobrevivencia de las células madres de la papila, mientras que el NaOCl tenía un efecto más perjudicial sobre éstas (Trevino y cols.,2011)⁵⁶ y su utilización como irrigante final, puede revertir parcialmente la efectos citotóxicos de soluciones de NaOCl.

En nuestro caso, se realizará irrigación pasiva con NaOCl al 1.5% (mínimo 20ml) (Wigler y cols.,2013)⁵⁷, penetrando al interior del conducto a 1 mm de la longitud de trabajo, en forma lenta y con leve presión de la jeringa con el fin de no traspasar irrigante a los tejidos periapicales (Torabinejad y Parirokh,2010)⁵⁸. Seguido a esto realizaremos un lavado con 2mL con EDTA al 17% por 1 minuto y un enjuague final con suero fisiológico (Banchs y Trope,2004; Essner y cols.,2011; Iwaya y cols.,2001; Thibodeau y Trope, 2007)^{4,59,60,61}.

Medicación

La medicación intra conducto, para dientes necróticos con ápice inmaduro que sugiere la AAE, una bipasta o tripasta antibiótica o hidróxido de Calcio. En cambio en el presente estudio se optó por el uso del hidróxido de calcio como medicación intraconducto.

La mayoría de las publicaciones sobre la regeneración en dientes inmaduros reportan el uso de pastas antibióticas como medicamentos intracanal. Esto se remonta a los estudios realizados por Hoshino en 1996(Hoshino y cols.,1996)⁶², quienes demostraron *in vitro* e *in vivo* que una combinación de ciprofloxacino, metronidazol y minociclina eliminaba eficientemente a las bacterias que se encontraban comúnmente en canales infectados(Takushige y cols.,2004)⁶³.La

combinación de estos tres antibióticos fue llamado triple de pasta de antibiótico (TAP) y ha sido ampliamente utilizado para las terapias de regeneración con buen éxito. Debido a decoloraciones severas, la minociclina fue reemplazada por cefaclor en una tripasta modificada mTAP(Thibodeau y Trope, 2007)⁶¹ o bien se omite ese antibiótico, siendo una bipasta DAP(Iwaya y cols.,2001; Chen y cols.,2012; Cehreli y cols.,2011)^{60,64,65}.

Un estudio reciente de Ruparel y cols (2012)⁶⁴ destacó la toxicidad en distintas concentraciones de la pasta antibiótica frente a células madre de la papila apical (SCAPs). Los resultados de este estudio reforzaron el uso de hidróxido de calcio o de concentraciones entre 0.01 a 0.1mg/mL de la pasta antibiótica para mantener la viabilidad de las células madre. Otros estudios también han demostrado que la tripasta o bipasta antibiótica en concentraciones más altas pueden alterar SCAPs y la supervivencia del ligamento periodontal (Ruparel y cols,2012 ; Althumairy y cols.,2014)^{66,67}. Otras desventajas, es el problema de su remoción el desarrollo de la resistencia y el riesgo de sensibilización, que son particularmente problemáticos en pacientes jóvenes(Berkhoff y cols.,2014)⁶⁸. Por lo tanto, las recomendaciones hasta la fecha tienden hacia el uso de hidróxido de calcio (Galler, 2016)⁶⁹, debido a que no presenta citotoxicidad para las células madre de la papila apical SCAPs (Ruparel y cols.,2012)⁶⁸ y se ha utilizado con éxito en una serie de informes de casos y series de casos (Chen y cols.,2012;Cehreli y cols.,2011;Cotti y cols.,2008)^{64,65,70}.

En un frente diferente, las pastas antibióticas influyeron negativamente en la liberación del factor de crecimiento por la dentina debido al EDTA, por el contrario, estos factores de crecimiento aumentaron después del uso de hidróxido de calcio(Galler y cols, 2015a; Galler y cols, 2015b)^{71,72}.

El hidróxido de calcio es la medicación más usada en la actualidad(Karim y cols.,2007)⁷³. Es una fuerte sustancia alcalina (pH de 12.5). Posee propiedades antimicrobianas, capacidad disolver tejido, inhibe la resorción dentaria e induce la reparación del tejido por la formación de tejidos duros. Su capacidad antimicrobiana está dada por su alto pH (Karim y cols.,2007)⁷³, y su acción es realizada por los iones hidroxilos, los cuales actúan mediante 4 mecanismos(Siqueira y Lopes, 1999)⁷⁴: (a) daño a la membrana citoplasmática de la bacteria , (b) desnaturación de proteínas, (c)daño al DNA y (d) inhibición de las endotoxinas. El hidróxido de calcio sólo ejercerá su acción bactericida cuando está en contacto directo con las bacterias. Se ha sugerido que actúa en forma indirecta al obliterar el espacio de los conductillos dentinarios, minimizando la utilización de los nutrientes por los microorganismos alojados en la dentina, al mismo tiempo que absorbe el dióxido de carbono.

Para Siqueira (1999)⁷⁴, el hidróxido de calcio actúa mediante tres mecanismos sobre las células bacterianas y del organismo. Los iones hidroxilos (OH-) producen:

1. Oxidación de los ácidos grasos insaturados de la membrana celular (pérdida de

un átomo de hidrógeno) generando radicales libres (HO-) con un número impar de electrones y de una elevada reactividad química que reaccionan con cualquier otra molécula de la que sustraen electrones y forman nuevos radicales libres. Los radicales libres pueden reaccionar con el oxígeno, quitándole un electrón y formando un radical ion superóxido. El radical ion superóxido puede remover otro electrón de otro ácido graso o en una reacción catalizada por la enzima peróxido dismutasa formar peróxido de hidrógeno, en la membrana del fagolisosoma. Los radicales libres, ion superóxido e hidroxilo, junto con el agua oxigenada o peróxido de hidrógeno (H₂O₂) son productos tóxicos para las células y se las conoce como especies reactivas del oxígeno, como sucede en las reacciones dependientes del oxígeno.

2. El pH elevado induce el rompimiento de los enlaces iónicos de la estructura terciaria de las proteínas, con la pérdida del ordenamiento global y la interrelación de las diversas regiones o dominios, con la consiguiente pérdida de la actividad biológica de muchas enzimas, alterando así el metabolismo celular.

3. Daño en las cadenas de ADN por desnaturalización de las mismas, inhibiendo la multiplicación celular.

Haapasalo en 1987⁷⁵ ya mencionaba que el intercambio iónico entre el interior y exterior de los túbulos dentinarios, se hace sumamente dificultoso por la alta tensión superficial del hidróxido de calcio. Los grupos hidroxilos generados a partir de esta sustancia, son captados por el tejido dentinario e impiden su difusión (Ozcelik y cols.,2000)⁷⁶.

Debemos recordar que la alcalinidad se genera a partir de una solución saturada de la sustancia, razón por la cual debe encontrarse en un medio húmedo, lo que, unido a su baja tensión superficial, ha obligado al análisis de numerosos vehículos para mezclar el hidróxido de calcio, destinados a modificar su tensión superficial, y prolongar la liberación iónica (Ozcelik y cols.,2000)⁷⁶.

Se ha reportado que diferentes preparaciones de hidróxido de calcio son incapaces de eliminar al *Enterococcus faecalis* de los túbulos dentinarios, aun cuando se encuentre en la entrada de los mismos (Siqueira y Lopes,1999)⁷⁴. Para Salzgeber (1977)⁷⁷, el hidróxido de calcio es un "antiséptico" de acción lenta, por lo que se requiere un período de contacto de 24 horas, para eliminar por completo los *Enterococcus faecalis*.

Se han planteado dudas en contra de hidróxido de calcio como medicamento intracanal en los procedimientos de regeneración debido a su propiedad para romper los grupos carboxilato y fosfato en la dentina hidroxiapatita, debilitando así la dentina del conducto radicular y conduciendo a un mayor riesgo de fractura radicular (Cvek, 1992)⁷⁸. Sin embargo, se ha demostrado que después de 14 días como medicación intracanal, la resistencia a la fractura de la dentina no se modifica y sólo después de 2 meses, se encontró una diferencia significativa(Andreasen y cols.,2002)⁷⁹.

Basado en los efectos beneficiosos del $\text{Ca}(\text{OH})_2$, el protocolo de medicación de la Universidad de Valparaíso es con esta medicación. Posteriormente, se realizará un doble sellado (mota de algodón estéril + ionómero vítreo). El tiempo entre la primera sesión clínica y la segunda, en el protocolo de la AAE es de 3 a 4 semanas, en nuestro caso, dadas las características del diente y de su medicación, se realizará en 15 días.

Provocación de sangrado

Al igual que el protocolo de la AAE, se realizará la inducción del sangrado en el conducto radicular, para permitir el flujo de sangre (Petrino y cols., 2010)¹⁶. La afluencia de la sangre es estimulada por la irritación de los tejidos apicales, por ejemplo, con un explorador o una lima (Banchs y Trope, 2004; Thibodeau y Trope, 2007; Reynolds y cols., 2009)^{4,61,80}.

En algunos casos, la provocación del sangrado puede requerir tiempo y puede ser dolorosa, debido a que la anestesia es sin vasoconstrictor puede no permitir la eliminación completa del dolor. El tiempo estimado para la formación del coágulo de sangre es de 15 minutos (Banchs y Trope, 2004; Thibodeau y Trope, 2007; Reynolds y cols., 2009)^{4,61,80}.

La estimulación del sangrado al interior del canal radicular, debe ser controlado a una longitud de 3 mm apical a LAC. Esto esperando el tiempo de sangría, el cual no debe ser menor a 4 minutos, manteniendo en el lugar una mota de algodón estéril empapada en una solución salina a una presión moderada hasta que se forme un coágulo al interior del canal (Wigler y cols., 2013)⁵⁷. Posteriormente, se introducirá el FRP con una pinza a la entrada del conducto y se realizará la compactación con un compactador rellenando el conducto.

III.4.2 REPORTE DE CASO DE REGENERACIÓN DENTARIA EN DIENTES MADUROS Y SUS PROTOCOLOS

Paryani y Kim 2013

Paryani y Kim⁹, realizaron un reporte de dos casos clínicos de terapias endodónticas regenerativas, en dientes con su formación radicular completa.

Caso 1

El primer caso correspondía a una paciente de sexo femenino, de 14 años de edad, sin antecedentes sistémicos relevantes, con una periodontitis apical sintomática de la pieza 8 con tratamiento previamente iniciado. Al examen radiográfico, se observó una radiolucidez peri radicular en la zona mesial y un ápice cerrado. La madre de la menor, firmó el consentimiento informado, correspondiente a la terapia endodóntica regenerativa. Se utilizó, como anestésico, lidocaína al 2% (1:100.000 epinefrina) y luego aislación absoluta.

Al remover la obturación temporal de la pieza, no se observó sangramiento del conducto radicular. Se irrigó el conducto con hipoclorito de sodio al 5.25% y se secó con conos de papel. Se aplicó tinción de azul metileno para descartar fracturas en el canal.

Se determinó la longitud de trabajo y se realizó una instrumentación mecánica con técnica telescópica y abundante irrigación con hipoclorito de sodio al 5.25%. El canal fue limpiado y conformado hasta el ápice radiográfico. El foramen apical fue engrosado hasta un diámetro de 0.6mm con una lima K manual. Se secó el canal con conos de papel y se medicó con pasta de hidróxido de calcio. Se temporizó con Cavit (3M ESPE).

La siguiente sesión se realizó en una semana, en donde la paciente se encontraba asintomática. El diente no era sensible a la percusión ni a la palpación. Se usó lidocaína al 2% (1:100.000 epinefrina) como anestesia tópica, se aisló totalmente y se removió la restauración temporal. El hidróxido de calcio fue removido completamente con hipoclorito al 5.25%. Luego se irrigó con EDTA al 17%, el cual se dejó en el conducto por 1 minuto, y se secó con conos de papel.

Se indujo el sangrado del conducto, atravesando 3mm más allá del ápice, una lima manual 40K.

Se colocó Collacote dentro del conducto (Zimmer Dental Inc) y MTA 2 mm bajo la unión de amelocementaria, próximo al Collacote. Se indicó a la paciente que debía regresar a las 2 semanas. En el seguimiento (2 semanas, a 1 y 6 meses, y al año) la paciente se encontraba asintomática (Fig. 5). La pieza 8 no presentaba sensibilidad a la percusión ni a la palpación.

Al año y 3 meses, la pieza 8 había sido restaurada por un dentista general y se observó una disminución de la radiolucidez. La pieza respondía normal al frío (Endo-Ice) y había respuesta positiva al test eléctrico pulpar. A los 22 meses de

seguimiento, se observó una resolución completa de la radiolucidez periapical y un engrosamiento del conducto radicular en el tercio apical.

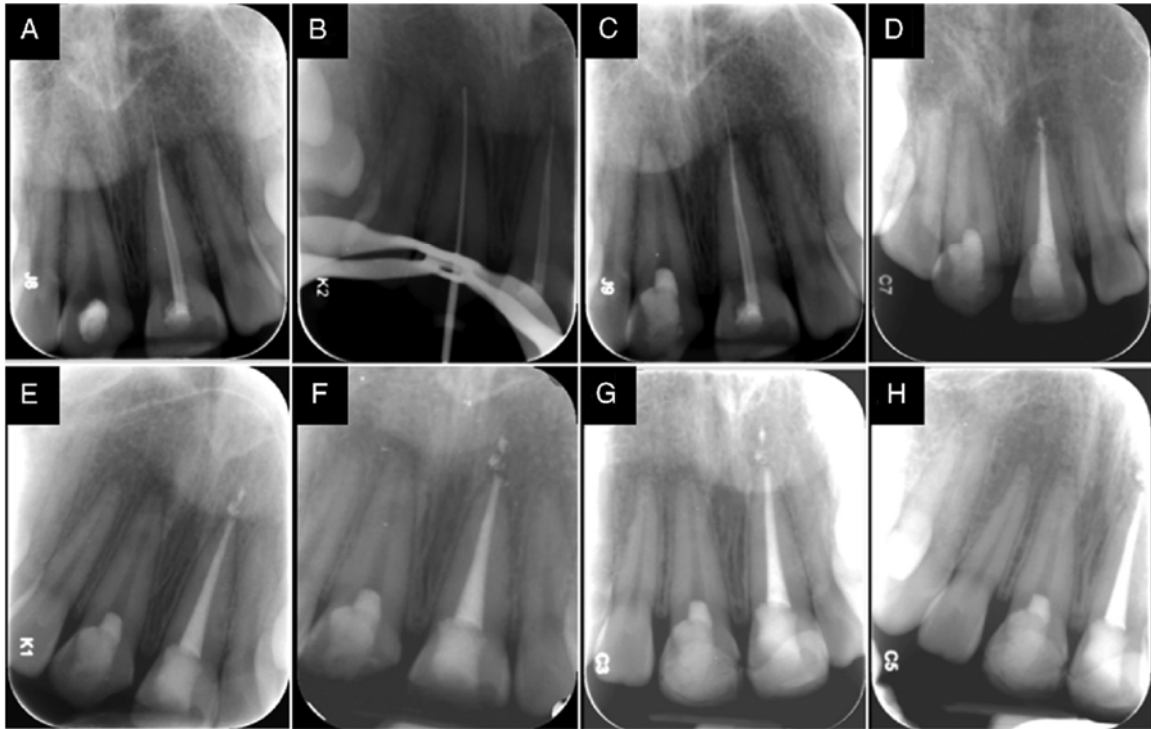


Fig. 5 A) Radiografía preoperatoria del diente 8 con rarefacción periradicular a lo largo de la cara mesial de la raíz con un apice cerrado. B) Radiografía de longitud de trabajo C) Radiografía post operatoria a la colocación del MTA y vidrio ionomero D) Radiografía de control a las dos semanas E) Radiografía de un mes de seguimiento, con disminución en el tamaño de la radiolucidez. F) Radiografía seguimiento de dos meses G) Radiografía de seguimiento de quince meses H) Radiografía seguimiento de 22 meses, resolución completa de radiolucidez periapical.

Caso 2

Paciente de sexo femenino de 11 años de edad, con un diagnóstico en la pieza 9 de necrosis pulpar y periodontitis apical asintomática (fig.6). A la radiografía, se observaba una radiolucidez de 5mm alrededor del ápice maduro. La madre de la menor, firmó el consentimiento informado, correspondiente a la terapia endodóntica regenerativa. Luego de la anestesia local con lidocaína al 2% (1:100.000 epinefrina), el diente fue aislado con goma dique y se preparó una cavidad de acceso bajo microscopio. Luego del acceso, se tomó una radiografía para determinar la longitud de trabajo. El conducto fue instrumentado mediante la técnica telescópica, e irrigado copiosamente con hipoclorito de sodio al 5.25% y EDTA al 17%.

El foramen apical fue preparado hasta 0.6mm de diámetro con una lima manual K #60. El conducto fue secado parcialmente con conos de papel y luego, fue llevó

polvo de ciproflaxacino mediante un porta-amalgama. El polvo se condensó hacia el ápice mediante un plunger manual. Se temporizó con Cavit.

En la siguiente sesión, a los 22 días, la paciente declaró haber estado asintomática desde su última cita. El diente no presentaba sensibilidad a la palpación ni a la percusión. Fue anestesiado con mepivacaína al 3% y aislado con goma dique. El conducto fue irrigado con hipoclorito al 5.25% y se utilizó EDTA como irrigante final, y se dejó actuar por 1 minuto. El sangrado fue inducido con una lima H #30, 3mm más allá del ápice. Collacote se colocó en el canal y MTA, 4mm debajo de la unión amelocementaria. El diente fue restaurado con cemento de vidrio ionómero. Al mes de seguimiento, la paciente declaró haber estado asintomática desde su última cita. El diente no se encontraba sensible a percusión ni a la palpación. Hubo una reducción en el tamaño de la radiolucidez periapical. A los 18 meses, el diente continuaba asintomático y no presentaba respuesta a Endo-Ice o al test pulpar eléctrico. Mostraba una resolución total de la radiolucidez periapical, con una lámina dura intacta y espacio del ligamento periodontal normal. Sin embargo, no se observó engrosamiento del conducto radicular en apical.

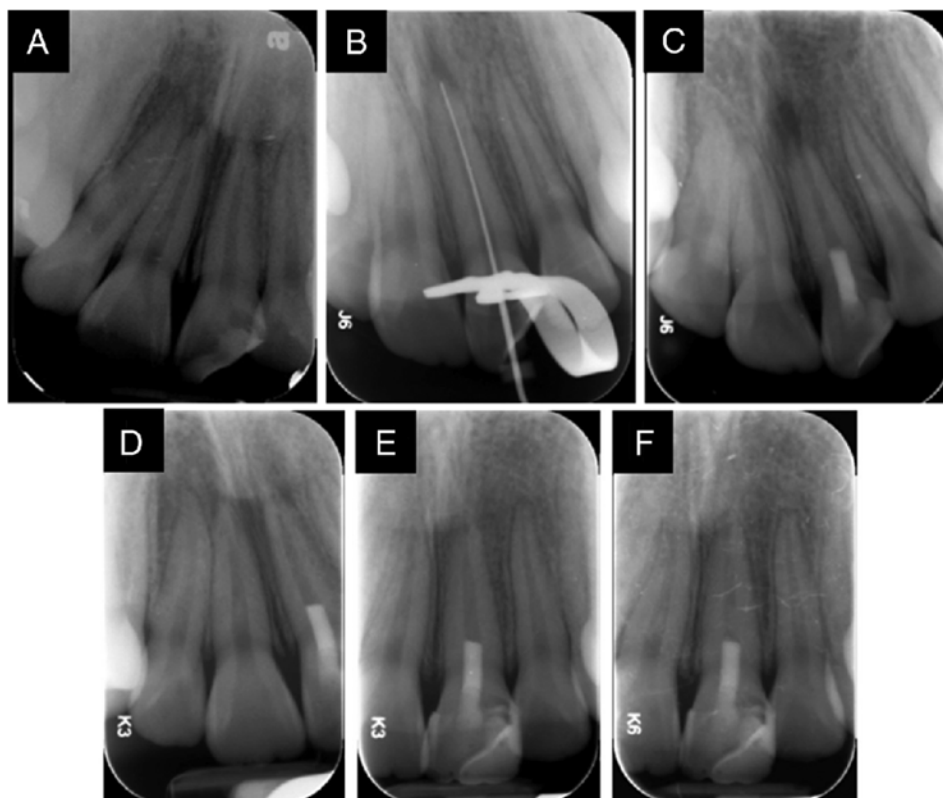


Fig 6. A) Radiografía preoperatoria del diente # 9 con una rarefacción perirradicular alrededor del ápice de la raíz madura. B) Radiografía control de longitud. C) Radiografía postoperatorias a la colocación de MTA y de ionómero de vidrio. (D) Radiografía un mes de seguimiento revela reducción en el tamaño de radiolucidez perirradicular (E) Radiografía cinco meses de seguimiento que muestra la resolución casi completa de radiolucidez periapical F) Radiografía

18 meses de seguimiento, resolución completa de radiolucidez periapical con lámina dura intacta y el espacio normal ligamento periodontal.

Saoud y cols, 2014

Saoud ¹⁰ publicó un reporte de caso de terapia regenerativa endodóntica, en un diente maduro con una lesión periapical inflamatoria tipo quística.

Caso 1

El caso correspondía a una paciente de sexo femenino de 23 años de edad, con historia de trauma en su maxilar anterior, a los 8 años de edad. No se realizó ningún tipo de tratamiento durante los siguientes 15 años. Al examen intraoral, presentaba un aumento de volumen palatino de aproximadamente 2x2 cm, en relación a los ápices de las piezas dentarias 7 y 8, de consistencia fluctuante. A la radiografía se observó una lesión osteolítica, de aproximadamente 15x17 mm de diámetro, incluyendo la zona radicular apical de la pieza 7 y mesial de la pieza 6, extendiéndose hasta el piso de la cavidad nasal. Además había una segunda lesión osteolítica en relación a la pieza 8. La pieza 8 presentaba un ápice levemente abierto y la 7 presentaba una raíz completamente formada. Se diagnosticó la pieza 8 con un absceso apical agudo y se planificó una terapia endodóntica regenerativa. La pieza 7 se mantendría en observación debido a las respuestas pulpares erráticas. Se explicó el plan de tratamiento a la paciente y firmó el consentimiento informado. Durante la primera visita no se administró anestesia local. Se aisló la pieza 8 con goma dique. La corona en cuestión, y la goma de su alrededor, se desinfectó con peróxido de hidrógeno al 30%. El acceso al conducto se hizo en la superficie palatina y se irrigó con hipoclorito de sodio al 2.5%. Se utilizó una lima K #50 para estimar la longitud de trabajo radiográficamente (-1mm al ápice radiográfico). Drenó exudado a través de la cavidad de acceso, al presionar el aumento de volumen palatino. El conducto fue subsecuentemente instrumentado hasta una lima K manual #80, e irrigado con cantidades abundantes de hipoclorito de sodio y suero. El conducto fue secado con conos de papel estériles. Se colocó en la porción apical del conducto, mediante un léntulo, tripasta antibiótica constituida por metronidazol 500mg, ciprofloxacino 200mg y minociclina 100mg, mezclada con suero, en una consistencia cremosa. Una mota de algodón estéril se ubicó bajo la unión amelocementaria, y la cavidad de acceso fue sellada con un material restaurativo intermedio (IRM). En la segunda visita, una semana después a la primera visita, el diente estaba asintomático, y el aumento de volumen palatino había disminuido. Se removió el IRM y mota de algodón. La pasta antibiótica se removió con abundante hipoclorito de sodio. Un fluido amarillento continuaba emergiendo de la cavidad de acceso. El conducto fue subsecuentemente instrumentado hasta una lima K manual #100, hasta la longitud de trabajo e irrigado con abundantes cantidades de hipoclorito de sodio al 2.5%. El conducto fue rellenado con tripasta antibiótica y sellado nuevamente. Dos semanas después a la segunda visita, la pieza 8 continuaba asintomática. Sin embargo, se diagnosticó la pieza 7 con periodontitis apical sintomática y requería tratamiento. Se aplicó mepivacaína al 3% sin vasoconstrictor y se reabrió la cavidad de acceso de la pieza 8. Se removió

la tripasta con hipoclorito de sodio y suero. Una lima K manual #40 se utilizó para provocar el sangrado de los tejidos periapicales, 3mm bajo la unión amelocementaria, usando un microscopio quirúrgico. Luego de una coagulación parcial de la sangre, una pasta de MTA blanco y suero fue colocado cuidadosamente, sobre el coágulo, y la cavidad de acceso fue sellada con vidrio ionómero. El mismo protocolo fue aplicado en la pieza 7. A los 6 meses de seguimiento, los tejidos blandos y duros se encontraban dentro de los límites normales. No había aumento de volumen ni tracto fistuloso. La gran lesión tipo quística había sido parcialmente rellena con trabeculado óseo, aumentando la densidad de la lesión. La cavidad pulpar de la pieza 8 había disminuido de tamaño y se apreció lo mismo hasta el ápice. La cavidad pulpar de la pieza 7 aparecía obliterada por tejido mineralizado, indicando que se había formado tejido duro dentro de la cavidad. Ninguna de las dos piezas respondió a los test pulpares. Al año de seguimiento, la lesión osteolítica había sido rellena considerablemente con trabeculado óseo. La pieza 8 mostraba engrosamiento de las paredes y cierre apical. La cavidad pulpar de la pieza 7 continuaba en condiciones similares a los 6 meses de seguimiento. La paciente no asistió a los siguientes controles de seguimiento (Fig.7)



Fig 7. (A) Radiografía periapical preoperatoria. Gran lesión periapical osteolítica involucrando la porción radicular apical completa de la pieza 7 y mesial de la pieza 6, extendiéndose más hacia arriba del piso de la cavidad nasal. Pieza 8 con una lesión periapical menor mal definida. (B) Radiografía periapical postoperatoria. Piezas 7 y 8 luego de la terapia endodóntica regenerativa. (C) Radiografía de control a los 6 meses de seguimiento. La lesión osteolítica periapical mayor es rellena parcialmente con trabeculado óseo y la densidad de la lesión aumenta. (D) Radiografía de control al año de seguimiento. La lesión osteolítica periapical

mayor se ha rellenado considerablemente con más trabeculado óseo indicando una recuperación incompleta.

Saoud, 2016¹¹

La presente serie de casos consistió en 6 pacientes, 4 mujeres y 2 varones. fueron tratados en la clínica de endodoncia de la facultad de odontología de la Universidad de Benghazi. La edad de los pacientes oscilaba entre 8 y 21 años. Siete dientes maduros, 4 anteriores y 3 molar dientes, fueron tratados mediante REPs. Tres dientes tenían caries, lo que causó necrosis pulpar y periodontitis apical. Cinco dientes tenían antecedentes de trauma y posteriormente desarrollaron infección pulpar y periodontitis apical. Cuatro dientes se asociaron con hinchazón intraoral. Dos dientes traumatizados mostraron decoloración. Radiográficamente, las raíces de todos los dientes tenían una lesión radiolúcida periapical de origen endodóntico. El desarrollo de la raíz de todos los dientes estaba casi completo, excepto los ápices de las raíces distales de los 2 primeros molares mandibulares (# 19), que mostraron exhibidos ligeramente abiertos

Resumen de los procedimientos de tratamiento

Para evitar la repetición de algunos procedimientos de tratamiento entre 7 casos, los procedimientos de tratamiento se resumen de la siguiente manera.

Primera cita: La anestesia local con 2% de lidocaína que contenía 1: 100.000 epinefrina se administró como infiltración local para dientes anteriores y bloqueo alveolar inferior para dientes molares. El diente endodónticamente implicado fue aislado con goma dique. Se eliminó la caries. La cavidad de acceso se realizó a través de la superficie lingual de la corona de los dientes anteriores y la superficie oclusal de la corona de los molares. La cámara pulpar fue irrigada con solución de hipoclorito de sodio al 2,5% (Household Cleaning Products Company de Egipto, El Cairo, Egipto). Se determinó una longitud de trabajo de 0,5 mm por debajo del ápice radiográfico con el localizador de ápice electrónico y las radiografías periféricas. Los canales se instrumentaron inicialmente a la longitud de trabajo con limas K manuales hasta el número 20 y luego se prepararon con los limas rotatorias Pro-Taper Universal (Dentsply International, Ballaigues, Suiza) a F1 (tamaño de punta # 20) con cantidades copiosas de irrigación durante la instrumentación. Los canales se secaron con puntas de papel y se recubrieron con Metapaste (hidróxido de calcio, Meta Biomed Co, Ltd, Chungbuk, Corea). En la cavidad de acceso se colocó una mota de algodón y se obturó provisoriamente con un material de restauración intermedio (IRM) (Dentsply International) durante 2 semanas.

Segunda visita al tratamiento. Bajo anestesia local con 2% de lidocaína conteniendo 1: 100.000 epinefrina, el diente se aisló con goma dique y se reabrió.

Se retiró el IRM y el algodón. La metapasta se lavó fuera del canal con irrigación de hipoclorito de sodio. El canal fue nuevamente preparado con limas rotatorias Pro-Taper Universal a F5 (tamaño de la punta # 40) para los dientes # 8 y # 9 y F3 (tamaño de la punta # 30) para el diente # 25. Los canales mesiobucal y mesiolingual fueron preparados a F2 (tamaño de la punta # 25) y los canales distales a F4 (tamaño de la punta # 35) de los dientes # 19 y # 30 con cantidades copiosas de irrigación de hipoclorito de sodio. Después de un desbridamiento químico-mecánico completo, se utilizó una lima K # 15 para penetrar en los tejidos periapicales a través de todos los canales para asegurar la permeabilidad de los agujeros apicales. Los canales fueron secados y revestidos con Metapaste. La cavidad de acceso se cerró con una mota de algodón y IRM durante 2 semanas.

Tercera visita de tratamiento. Se administró anestesia Carbocaína al 3% (Septodont, París, Francia) sin vasoconstrictor. El diente fue reabierto, y se retiraron la mota de algodón y el IRM de la cavidad de acceso bajo aislamiento con goma dique. La metapasta se eliminó de los canales con irrigación con hipoclorito de sodio. Finalmente, los canales fueron irrigados con EDTA al 17% y secados con conos de papel. Una lima k#25 con la punta ligeramente doblada se introdujo 3 mm en los tejidos periapicales a través de los canales distales de los dientes # 19 y # 30 y los canales de otros dientes (# 8, # 9 y # 25), mientras que se utilizó una lima # 20 K para los canales mesiobucal y mesiolingual de los dientes # 19 y # 30 para provocar sangrado en los canales hasta los orificios del conducto bajo la observación de una lupa quirúrgica. La hemorragia no pudo alcanzarse a los orificios del conducto de los canales mesiobucal y mesiolingual de los dientes # 19 y # 30. Se intentó proporcionar sangrado desde los conductos distales hasta los canales mesiales. Después de aproximadamente 15 minutos, cuando la sangre se semicoaguló, se colocó un espesor de 3 mm de agregado de trióxido mineral (MTA, Dentsply Tulsa Dental, Tulsa, OK) con solución salina a una consistencia de masilla en los canales coronales usando un portador de amalgama. Se colocó una mota de algodón húmedo sobre MTA, y la cavidad de acceso se cerró con IRM durante 3 días. Se tomaron radiografías postoperatorias.

Cuarta visita al tratamiento. Sin anestesia local, se eliminó bajo aislamiento el IRM y la mota de algodón. El establecimiento de MTA se confirmó con un explorador endodóntico. Las cavidades de acceso fueron restauradas con resina compuesta o amalgama.

Controles

Los seguimientos de 7 casos oscilaron entre 8 y 26 meses. Las lesiones periapicales de 2 dientes se consideraron curadas, y 5 dientes revelaron cicatrización. Los signos / síntomas clínicos estaban ausentes en todos los dientes en las visitas de seguimiento en diferentes momentos. Ninguno de los dientes tratados respondió a las pruebas de pulpa fría y eléctrica

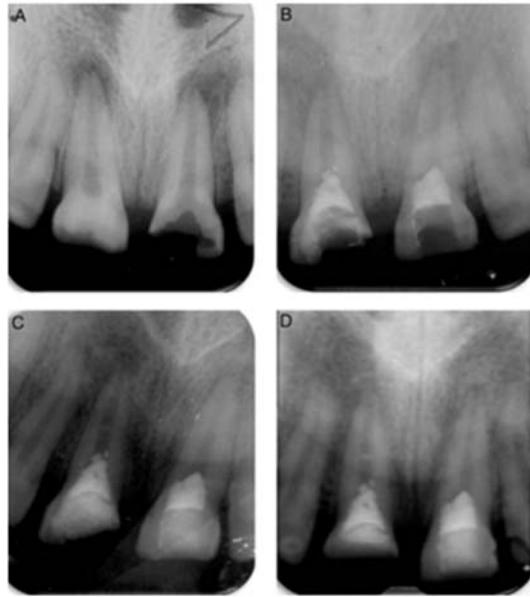


Fig.8. (A) Radiografía preoperatoria del diente # 19. Una gran lesión radiolúcida periapical en el ápice de la raíz distal y engrosamiento del espacio del ligamento periodontal en el ápice de la raíz mesial. Las raíces mesial y distal están bien desarrolladas. (B) Radiografía postoperatoria después de REPs. (C) Seguimiento de cinco meses, evidencia de curación de lesiones radiolúcidas periapicales en ambas raíces. (D) Seguimiento de ocho meses, lesiones radiolúcidas periapicales de ambas raíces muestran cicatrización. El diente era asintomático. El paciente perdió contacto después de los 8 meses de seguimiento.

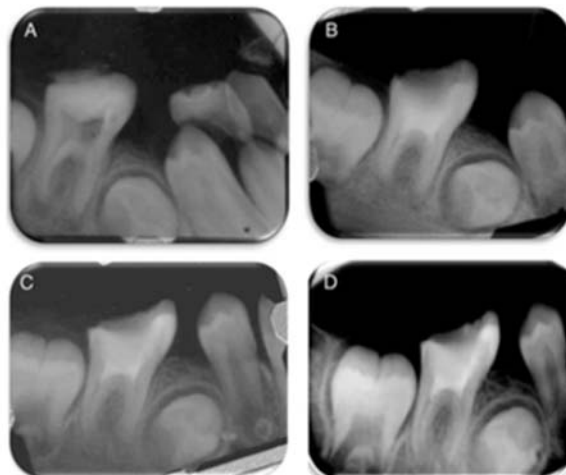


Fig.9.(A) Radiografía preoperatoria del diente # 30, pequeñas lesiones radiolúcidas periapicales en los ápices de las raíces mesial y distal. Las raíces están completamente formadas. (B) Una radiografía postoperatoria después de REPs. (C) Seguimiento de ocho meses, evidencia de curación de lesiones radiolúcidas periapicales en ambas raíces. (D) A los 12 meses de seguimiento, las lesiones radiolúcidas periapicales de ambas raíces muestran curación. El diente era asintomático.

III.4.3 PROTOCOLO DE REGENERACIÓN DENTARIA EN DIENTES MADUROS PROPUESTO POR LA CÁTEDRA DE ENDODONCIA, UNIVERSIDAD DE VALPARAÍSO Y SUS JUSTIFICACIONES.

El protocolo de regeneración pulpar en dientes maduros propuesto por la Cátedra de Endodoncia de la Universidad de Valparaíso y utilizado en esta tesis, se basa en la evidencia científica y los conocimientos biológicos actuales.

Para el desarrollo del protocolo propuesto se han utilizado los lineamientos recientes de procedimientos endodónticos regenerativos en dientes necróticos inmaduros de la AAE.

El contenido del consentimiento informado, es similar al de la AAE, informando al paciente acerca de los pasos en qué consiste el procedimiento clínico, sus ventajas, las posibles complicaciones, alternativas de tratamiento y pasos a seguir en caso de urgencia.

Criterios de inclusión

- Dientes unirradiculares, anteriores y premolar superior e inferior.
- Diagnóstico: Necrosis pulpar con o sin lesión.
- Ápice cerrado.
- Hombre o mujer.
- Paciente ASA I o II.
- Clínicamente asintomático al inicio de la terapia
- Rango de edad abierto.

Criterios de exclusión

- Diente que requiera el conducto para ser rehabilitado.
- Diente tratado endodónticamente en forma previa.
- Diente con reabsorciones radiculares de cualquier tipo.
- Diente con ápice abierto.
- Dientes multirradiculares.
- Diente con conducto calcificado.
- Paciente ASA III o más
- Enfermedad periodontal

Primera sesión

- Evaluación del paciente, explicación de alternativas de tratamiento, ventajas y desventajas.
- Entrega, lectura y firma de consentimiento informado.
- Código presupuesto: "endodoncia desvital".
- Fotografías clínicas y radiografía inicial.

Segunda sesión

1. Anestesia al 2%.
2. Aislamiento absoluto.
3. Apertura y acceso radicular.
4. Conductometría con LAE. Se trabajará a LT+3 mm definiendo LT a 0.0 en LAE Raypex 6, VDW.
5. PBM y apicoplastía, la preparación se realizará hasta alcanzar al menos una lima #80, idealmente preparando hasta lima #100.
6. Radiografía de control de apicoplastía y control de longitud.
7. Irrigación pasiva en el siguiente orden: NaOCl al 1,5%, suero, EDTA 17% y suero.
8. Medicación con pasta de hidróxido de calcio + suero.
9. Doble sellado: mota + Fermín y ionómero vítreo.
10. Medicación: Meloxicam 15 mg 1 tableta cada 24 horas por 3 días.

Tercera sesión (15 días después)

1. Evaluación clínica de signos y síntomas.
2. Anestesia al 3%.
3. Aislamiento absoluto y apertura cameral.
4. Retiro medicación con suero fisiológico y MAF.
5. Evaluación de evolución de la infección.
6. Ante ausencia de signos y síntomas de infección, se procede a la obtención de la muestra de sangre del mismo paciente para procesamiento para preparación de PRF.
7. Trefinación con lima equivalente a la MAF utilizada menos dos números, calibrada a LT +3.
8. Toma de muestra sanguínea y se coloca PRF llevándolo con una pinza a la entrada del conducto y compactándola con un compactador (MATCH 2); así rellenando el conducto utilizando presión suave, y se condensa con conos de papel grueso para absorber el exceso de suero y para comprimir suavemente el coágulo.
9. Sellar con Biodentine a no más de 3 mm de profundidad en el conducto y efectuar sellado definitivo con composite simple.
10. Radiografía de control y sellado final con Resina (restauración final puede ser entre la primera a la cuarta semana post tratamiento según protocolo de la AAE).

JUSTIFICACIÓN DE MODIFICACIÓN DEL PROTOCOLO ORIGINAL DE LA AAE PROPUESTO POR LA CATEDRA DE ENDODONCIA UNIVERSIDAD DE VALPARAÍSO

Instrumentación

Al contrario del protocolo para dientes inmaduros donde el éxito de la desinfección radica en el componente químico (Diogenes y Ruparel, 2017)⁴¹, en este caso, se ha considerado que la preparación biomecánica fundamental para el éxito de nuestro tratamiento.

Al evaluar la evidencia existente respecto a las opciones de instrumentación, Kontakiotis en el 2015⁸¹, menciona que un 68% de los artículos clínicos acerca de Regeneración en Endodoncia en dientes necróticos inmaduros los canales no fueron instrumentados, fundamentando que los dientes con ápice inmaduro presentan paredes delgadas en apical, y que se debe evitar un debridamiento mecánico a fin de proteger la vitalidad de las células madre en los tejidos apicales.

En nuestro estudio, justificamos la instrumentación completa debido a que las bacterias colonizadoras organizadas en biofilms son extremadamente resistentes a los irrigantes y medicamentos intraconducto (Svensater y Bergenholtz, 2004)⁸².

En estudios de regeneración endodóntica, en donde hubo fracaso del tratamiento, la razón se debió a restos de biopelícula en las paredes del conducto radicular que no fueron mecánicamente desbridadas (Lin y cols., 2014)⁸³. Sin la aplicación de una fuerza que sea capaz de realizar un eficiente limado de las paredes del conducto, como el que se alcanza al realizar la preparación biomecánica, seremos incapaces de producir una verdadera desorganización y reducción de este biofilm (Fouad y Verma, 2014)⁸⁴. En presencia de infección, las células madre pulpares que sobreviven parecen ser incapaces de lograr mineralización y la aposición de un puente de dentina terciaria (Murray y cols., 2007)⁸⁵.

Además, si hay remanencia de tejidos necróticos en la región pulpar provoca gangrena por descomposición de las proteínas, en la que intervienen productos intermedios como el indol, escatol, cadaverina y putrecina, los cuales favorecen la activación de los macrófagos a través de citocinas (ej: IFN y) y productos microbianos que se unen a los TLR u otros receptores celulares, perpetuando así la inflamación crónica de la región (Imhof y Aurrand-Lions, 2004)⁸⁶. La activación de los macrófagos aumenta la concentración de enzimas lisosómicas, especies reactivas del oxígeno y el nitrógeno (altamente destructivas), y la producción de

citocinas, factores de crecimiento y otros mediadores de la inflamación. Estos productos resultan tóxicos para los microbios, pero también para las células del anfitrión o de la matriz extracelular (proteasas). En resumen, los productos de los macrófagos activados son responsables de la gran parte de las lesiones tisulares que ocurren en la inflamación crónica y que imposibilitarían la formación de nuevos tejidos en forma adecuada, orientando más a un proceso reparativo que regenerativo (liderado por fibroblastos y colágeno desorganizado) (Gordon y Taylor, 2005)⁸⁷.

Por último, la naturaleza de las células madre encargadas de diferenciarse a odontoblastos y continuar con la formación radicular no está esclarecido y todo apunta a que podrían tener diversos orígenes. No se tiene la certeza que la sobrevivencia de las células madres pulpares (DPSC) sea la única posibilidad de éxito de tratamiento, ya que estaríamos descartando la viabilidad que podrían otorgar las células del ligamento periodontal (PDLSC) y las células de la papila apical (SCAP)(Lin y cols.,2014)⁸³ en la participación de la regeneración pulpar.

Apicoplastía

Adicionalmente a efectuar una instrumentación mecánica completa, para lograr semejanza a un diente inmaduro, se realizará una apicoplastía, con el beneficio de eliminar gran parte del tercio apical ayudando a remover debris, recesiones, deltas apicales y conductos accesorios que son áreas donde las bacterias se esconden y se escapan del proceso de desinfección(Lin y cols.,2014)⁸³.

La apicoplastía es la remodelación del tercio apical mediante la instrumentación del conducto radicular. El tamaño del foramen apical en la terapia regenerativa se ha estudiado en dientes inmaduros donde se encontró que es impredecible la regeneración pulpar en un foramen apical menor a 1mm ó lo equivalente a una lima 100 (Andreasen y cols.,1990)⁷⁹. Un estudio en dientes maduros de perros sobre la regeneración dentaria informó que existe regeneración pulpar en un foramen apical de 0.32mm (Laureys y cols.,2013)⁸⁸. Esto se pone en evidencia en el reporte de caso presentados en este informe(Paryani y Kim, 2013)⁹ donde preparan y remodelan la zona apical hasta una 0.60mm (lima #60), con resultados similares. Por lo tanto, es necesario más estudios en éste punto, para poder determinar si el tamaño del foramen apical influye realmente en el resultado de los procedimientos endodónticos regenerativos con ápice cerrado.

El procedimiento a realizar consistirá en determinar en una medición previa de la longitud radicular en la radiografía de estudio, luego realizamos una medición de mayor exactitud apoyándonos con el localizador apical electrónico (LAE). La lima a emplear debe ingresar en el conducto hasta que el LAE marque 0.0. La longitud de trabajo se obtiene al sumar 3mm a la longitud indicada por el LAE, y deberá ser corroborada radiográficamente (Chen y cols.,2012; Reynolds y cols.,2009)^{64,80}.

Clínicamente, la preparación biomecánica la realizamos hasta la longitud de trabajo anteriormente determinada, hasta al menos una lima #60, idealmente

preparando hasta lima #80 que llegue a la longitud deseada sin necesidad de ser forzada excesivamente, y ejerceremos acción de limado hacia las paredes del conducto con movimientos de entrada y salida a favor de los punteros del reloj. Esta decisión respaldada por los estudios previos anteriormente mencionados (Paryani y Kim, 2013; Laureys y cols.,2013)^{9,88}. Para comprobar el resultado de la apicoplastia se tomarán radiografías de control.

III.4.3.b Segunda Sesión

Se evalúa la respuesta al tratamiento inicial. Si hay signos o síntomas persistentes de infección, se considerará repetir la primera sesión, y volver a citar en 15 días. Ante ausencia de signos y síntomas de infección, se procede a la obtención de la muestra de sangre para procesamiento para preparación de FRP.

FRP como relleno endodóntico

Nuestro protocolo propone la utilización de Fibrina rica en plaquetas (FRP) como matriz de andamiaje, al contrario de lo que plantea la AAE donde sugieren CollaPlug/Collacote.

El FRP es un biomaterial que presenta muchas ventajas en comparación con otros protocolos plaquetarios anteriores, siendo de más fácil manejo técnico, fuertes fundamentos científicos, buenas características de manipulación intra-operatoria y bajo costo (como fue explicado con anterioridad).

Para la obtención de este preparado se realizan 2 tomas de 10 mL de sangre intravenosa de la región cubital utilizando sistema atraumático Vacutainer (Vacutte®), que consiste en un tubo de vidrio y plástico PET (polietileno tereftalato) al vacío con un tapón de plástico blando, que permite que lo atraviese una aguja mediante una leve presión. Para realizar las dos tomas, sólo es necesario realizar una punción.

Respecto a la preparación, la sangre del paciente se introduce en tubos de ensayo de 10 ml sin un anticoagulante y se centrifuga inmediatamente, durante 12 min a 2700 rpm. El producto resultante se compone de tres capas: 1) Capa superior que consiste en un coágulo PPP, 2) FRP coágulo en el centro, 3) Los glóbulos rojos en la parte inferior. Debido a la ausencia de un anticoagulante, la sangre comienza a coagularse tan pronto como entra en contacto con la superficie de vidrio. Por lo tanto, para la preparación exitosa de FRP, luego de la extracción de sangre la centrifugación debe ser rápida (Sunitha y Munirathnam, 2008)⁸⁹.

En esta sesión se indica el uso de anestesia sin vasoconstrictor, mepivacaína al 3% (Scandicaine 3% sin vasoconstrictor. Septodont) con el fin de evitar la isquemia de los tejidos que se encuentran aledaños a la región periapical y así facilitar la etapa de inducción mecánica del sangrado (Miller y cols.,2012)⁹⁰. Se utiliza aislamiento absoluto y se prosigue a la apertura cámara. Previo a la provocación del sangrado, se consideró dentro del protocolo eliminar minuciosamente la medicación intraconducto y realizar un cuidadoso repaso de la PBM con el último

instrumento utilizado y conjunto a una abundante irrigación con hipoclorito de sodio al 1.5% que no debe ser menor a los 20 mL hasta asegurarnos de no dejar residuos de medicación o tejido necrótico, para esto la longitud de ingreso de la aguja debe llegar a 2 mm del ápice, seguido de 2 mL de EDTA al 17% como solución irrigante final, el cual vamos a dejar actuar por 1 minuto (Petrino y cols.,2010)¹⁶. Posteriormente debemos introducir una lima K #20 a 3 mm más allá del foramen apical con el fin de estimular el sangrado al interior del canal radicular.

Sellado coronal

Posterior al coágulo de sangre y la aplicación del FRP al interior del conducto radicular, es de vital importancia un sellado coronal para el éxito de la terapia regenerativa. El MTA se ha utilizado como barrera coronal en procesos regenerativos en los coágulos de sangre y es sugerido por la AAE. La capacidad de sellado del MTA hace que sea un biomaterial adecuado para el sellado del coágulo de sangre y prevenir la filtración bacteriana en el tiempo (Torabinejad y Parirokh y cols.,2010)⁵⁸. Otro material para lograr el sellado coronal es el Biodentine, siendo un material biocompatible con buena capacidad de sellado (Chang y cols.,2014)⁹¹.

La Universidad de Valparaíso propone el uso de Biodentine como material para este sello, esta elección se basa principalmente en que este no interfiere con la estética del diente en ese sector tan crítico, pues sus propiedades son similares al MTA. Teniendo otras ventajas sobre el MTA son:

- Manipulación más sencilla
- Tiempo de fraguado menor (12 minutos)
- El fraguado se da en ausencia de humedad.

Por otra parte el espesor del sello coronario que se realiza es de 3 mm bajo el límite amelocementario, antiguamente se utilizaba este sello coronario hasta el tercio medio y rellenar hasta el tercio medio no tiene sentido, puesto que es sellado coronario es eficiente colocando sólo estos 3 mm más la restauración de resina sobre éstar.

III.4.3.c CONTROLES

Según la última revisión bibliográfica de la AAE, se sugiere como seguimiento en el tratamiento regenerativo de dientes permanentes inmaduros:

Examen radiográfico y clínico

1. No haya dolor, aumento de volumen de los tejidos blandos o fístula (usualmente observado luego de la primera y segunda sesión).
2. Resolución de la radiolucidez apical (usualmente observada entre 6 a 12 meses post tratamiento).

3. Aumento de grosor de las paredes radicales (observado generalmente antes de un aumento aparente en la longitud de la raíz y ocurre luego de 12 a 24 meses del tratamiento).
4. Aumento de la longitud radicular.
5. Respuesta positiva al test de vitalidad pulpar.

Éxito en procedimientos endodónticos regenerativos

El grado de éxito en los procedimientos endodónticos regenerativos se mide en la medida que es posible alcanzar el objetivo primario, secundario y terciario:

1. Primer objetivo: Eliminación de síntomas y evidencia de recuperación ósea.
2. Segundo objetivo: Aumento del grosor de las paredes radicales y/o aumento de la longitud radicular (deseable pero tal vez no esencial).
3. Tercer objetivo: Respuesta positiva a los test de vitalidad (En caso de ser alcanzada, podría indicar un tejido pulpar más organizado).

En el presente estudio se examinará el grado de éxito evaluando el primer y tercer objetivo, ya que al ser piezas dentarias maduras no se busca un aumento del grosor ni longitud de las paredes radicales. Para esto se citará a un control clínico y radiográfico a los pacientes a la semana, al primer, tercer y sexto mes de terminado el tratamiento.

Los controles consistirán en la evaluación de los signos y síntomas recomendados por la AAE (ausencia de dolor, aumento de volumen de tejidos blandos, presencia de fístula, resolución radiolucidez apical y respuesta de vitalidad mediante test térmicos).

Debemos mencionar que el protocolo de controles ha sufrido modificaciones en la actualidad, la última actualización de éste fue en el segundo semestre del 2016, como se describe en el *Anexo 1*. Hoy en día se realiza un control a los 15 días posterior a la restauración definitiva y luego mes a mes hasta completar los 6 meses de seguimiento. Posteriormente se realizan controles a los 9 y 12 meses posteriores al primer control y por último controles anuales hasta los 5 años. De igual forma que los puntos a evaluar por este estudio piloto, los controles consisten en un control clínico y un control radiográfico. La gran diferencia es el control de vitalidad que se realiza desde el primer control, mediante test por calor y con vitalómetro, el cual no fue utilizado en el presente estudio.