

“Desarrollo clínico de un nuevo protocolo en
regeneración endodóntica propuesto por la Cátedra
de Endodoncia de la Universidad de Valparaíso”

**Trabajo de investigación
Requisito para optar al título
de Especialista en Endodoncia**

**Residentes: Dr. Denis Fuentes Barros
Dr. Esteban Vallejos Gutiérrez
Directora de programa: Dra. Alicia Caro Molina
Docente guía: Dra. Alicia Caro Molina**

**Valparaíso- Chile
2015**

L. INTRODUCCIÓN

Los resultados de la pérdida de un diente definitivo inmaduro en pacientes con dentición mixta pueden ser devastadores, llevando a la disminución de la función, maloclusión e inadecuado desarrollo maxilofacial. Estos dientes tradicionalmente han sido tratados a través de recambios prolongados de *hidróxido de calcio* o a través de la implantación de un tapón apical de *mineral trióxido agregado (MTA)* (Cvek M. 1992). Aunque estos tratamientos solucionan los signos y síntomas de la patología periapical (Bose R. 2011) no permiten necesariamente un adecuado desarrollo radicular, lo que lleva a riesgo de fractura de las paredes dentinarias.

Esto nos lleva a la búsqueda de un tratamiento cuyo objetivo sea preservar la vitalidad pulpar en dientes inmaduros afectados por trauma o caries profunda. Es así como nace el concepto de *Procedimiento de Endodoncia Regenerativa (REP)* o *Revascularización Dentaria*, que busca permitir la resolución del proceso infeccioso y promocionar el normal desarrollo fisiológico del tejido pulpar. Esto incluye continuo desarrollo radicular, inmunocompetencia y normal nocicepción, como se ha visto en algunas publicaciones (Diogenes A. 2013).

Para los dientes inmaduros con pulpas no vitales, el uso de las técnicas de revascularización / regeneración para inducir apexogénesis, y por lo tanto la regeneración de tejidos, en lugar de la sustitución de estos utilizando sustitutos artificiales, representa una nueva y relativamente modalidad de tratamiento (Geisler TM. 2012). Esta alternativa de tratamiento se basa en la teoría de que en ausencia de microorganismos y en presencia de un andamio tridimensional apropiado y células madre / progenitoras dentro del espacio del conducto radicular, sumado a la creación de un sello hermético a los microorganismos, la reparación de los tejidos puede ocurrir en piezas dentarias desvitalizadas, infectadas, avulsionadas, y permanentes inmaduras (Iwaya SI 2001). Hipotéticamente, la proximidad de las células madre de la papila apical (SCAP), junto con el suministro de sangre periodontal permitiría que sobrevivan a la

infección apical, logrando formar células productoras de dentina similares a los odontoblastos. (Wigler R. 2013)

Desde antaño, se han realizado cerca de 60 estudios relevantes. La mayoría de ellos (66%), han sido publicados en los últimos 3 años (Evangelos G. 2015). Según los informes actuales, los procedimientos de revascularización / regeneración realizados bajo los protocolos actuales han logrado resultados clínicos y radiográficos exitosos para los dientes permanentes inmaduros con pulpas no vitales. Sin embargo, se necesitan estudios prospectivos aleatorizados para desarrollar metodologías basadas en la evidencia para el tratamiento de endodoncia regenerativa (Over A Peter. 2014).

Es así como nace la inquietud de proponer un *nuevo protocolo de regeneración endodóntica* basado en los conocimientos actuales que existen frente al tema y que se diferencia del resto en puntos fundamentales, como una *exhaustiva eliminación del material necrótico* remanente, el uso de una *nueva medicación* de mayor potencia y la introducción de *nuevos biomateriales* para el sellado final.

En el siguiente estudio realizaremos una revisión de los conceptos que involucra el proceso de revascularización incluyendo las modificaciones integradas en base a los nuevos conceptos biológicos en esta área y la aplicación clínica de este procedimiento en 4 pacientes con resultados positivos a la fecha y que aún se encuentran en evolución.

II. OBJETIVOS

Objetivo General

1. Describir, aplicar y evaluar los resultados un nuevo protocolo de revascularización endodóntica en base a los conceptos actuales respecto al tema.

Objetivos específicos.

2. Conocer la base de los procedimientos regenerativos del complejo dentino-pulpar en dientes permanentes inmaduros con diagnóstico de necrosis pulpar y patología periapical.
3. Dar una justificación basada en la evidencia actual, respecto al protocolo planificado.

III. PROCEDIMIENTOS DE ENDODONCIA REGENERATIVA. (REP)

La *endodoncia regenerativa* o *revascularización del complejo pulpo dentinario* se ha definido como el “*Proceso basado en la biología designado para reemplazar estructuras dañadas, incluyendo dentina y raíz dentaria, así como también células del complejo dentino-pulpa*” (Murray PE. 2007) Para llevar a cabo este proceso, las células más prometedoras son las células madre postnatales autólogas (O. Tecles. 2005)

El objetivo de los procedimientos regenerativos en endodoncia está relacionado con lograr efectos biológicos específicos como la resolución de la periodontitis apical, el engrosamiento y / o alargamiento de las paredes de la raíz, y finalmente, recuperar una respuesta positiva de la pulpa a las pruebas de sensibilidad. (Hargreaves KM, Diogenes A. 2014). En los casos de dientes inmaduros necróticos con ápices abiertos, los REP intentan promover el desarrollo radicular y cierre apical en comparación con la apexificación con hidróxido de calcio o con el agregado de trióxido mineral (MTA) usado como barrera apical (Banchs F. 2004; Jeeruphan T. 2012), procedimientos tradicionalmente usados en dientes con este tipo diagnóstico.

Estos procedimientos regenerativos se basan en 3 principios básicos de la ingeniería de tisular biológica:

- 1. Fuentes apropiadas de *células madre / progenitoras*.**
- 2. La presencia de un *sistema de andamiaje* apropiado para la regulación de la diferenciación celular (Hargreaves KM, Diogenes A. 2013).**
- 3. La acción los *factores de crecimiento* que son capaces de promover y dirigir la diferenciación de células madre.**

La correcta interrelación y evolución de estos elementos llevaría a la formación de un nuevo tejido vivo en el espacio del conducto limpio y desinfectado. Si bien los conocimientos de estos procedimientos están apenas en proceso de estudio, han

permitido potencialmente que los dientes inmaduros sin pulpa sigan creciendo y madurando. (H. Aksel. 2014).

CELULAS MADRE.

Se definen como células indiferenciadas capaces de autorrenovarse y diferenciarse en múltiples linajes con varios grados de potencialidad y plasticidad. Son capaces de generar una célula hija y una progenitora en cada división. A pesar de que aún existen varios cuestionamientos con respecto a estas células, la investigación en esta área está altamente activa. (Zhang y Yelick, 2010).

Para la regeneración endodóntica, las células madre más prometedoras son las posnatales dentales autólogas debido a que presentan menor posibilidad de rechazo. Muestran una mayor capacidad de desarrollo odontogénico al compararlo con células no dentales. Existen varias fuentes para su obtención (Hargreaves y cols., 2008; Chueh y cols., 2009; Peng y Zhou, 2009; Bansal y Bansal, 2011)

2. **Células pulpares dentales de dientes permanentes (DPSC)**
3. **Células pulpares de dientes temporales exfoliados humanos (SHED)**
4. **Células del ligamento periodontal (PDLSC)**
5. **Células de la papila apical (SCAP)**
6. **Células del folículo dental**
7. **Células de la pulpa dental natal (hNDP)**

Todos los tipos de células postnatales estudiados presentan características similares a las de las células mesenquimáticas, como su capacidad de autorrenovarse y diferenciarse en diferentes linajes celulares (Honda y cols., 2010; Zhang y Yelick, 2010) .

Las células madre de la pulpa dental (DPSC) son clonogénicas y proliferan rápidamente. Pueden diferenciarse en odontoblastos, por lo cual son bastante prometedoras en cuanto a la regeneración del complejo dentinopulpar. Debido a

su migración desde la cresta neural, se cree que también son candidatas para la regeneración nerviosa. (Sonoyama y cols., 2008; Zhang y Yelick, 2010).

Se ha determinado que las células madre obtenidas a partir de la papila apical (SCAP) encontradas en dientes incompletamente formados 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., 2008; Peng y Zhou, 2009; Honda y cols., 2010; Nosrat y cols., 2011). Además se ha demostrado que poseen una excelente capacidad de diferenciación en odontoblastos. (Evangelos G. 2015).

Otros estudios clínicos relacionados, refutan la teoría anterior indicando que las principales fuentes de células madres 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 AS. 2013).

ANDAMIAJE EN REP

El concepto de andamiaje a través de una concentración de plaquetas para mejorar la regeneración fue introducido por Marx y Whitman (Marx. 2004). Para esto se han utilizado diversas maniobras como son la estimulación del sangrado intraconducto y el uso de una matrices autólogas como son el *Plasma Rico en Plaquetas* (PRP) y el *Plasma Rico en Fibrina* (PRF). Se considera un hecho que el uso de este tipo de andamiajes tiene un impacto positivo en el resultado los procedimientos de REP (Nosrat A. 2012; Lenzi R. 2012, Wigler R). El porcentaje general de los estudios en donde no se estimuló sangramiento intraconducto y no se utilizó PRP / PRF solo fue de un 13% (Evangelos G. 2015).

En estudios recientes se evidenció un claro desacuerdo en dejar el conducto radicular vacío bajo la barrera coronal en REP ya que sangramiento provocado promueve la acumulación de células madre progenitoras en el espacio del conducto radicular, apoyando así la regeneración de tejidos (Lovelace TW. 2011).

Un coágulo de sangre estable no sólo sirve como un andamio para la migración de células madre en el espacio del conducto, sino que también aporta factores necesarios para el crecimiento y diferenciación celular (Nosrat A. 2012). En un estudio en animales del año 2007, se demostró que la inducción de la hemorragia intraconducto mejoró el resultado de la terapia endodóntica regenerativa tanto en los hallazgos radiológicos como histológicos (Thibodeau B. 2007).

En la actualidad toma más fuerza el uso de PRP o PRF como matriz de andamiaje en el interior del conducto radicular en lugar de crear un sangramiento intraconducto (Evangelos G. 2015). El PRP y PRF constituyen fuentes muy ricas de factores de crecimiento, que promueven la proliferación y diferenciación de células madre progenitoras en el espacio radicular (Hargreaves KM. 2008; Ding RY. 2009; Huang FM. 2010).

El *Plasma Rico en Plaquetas* (PRP) es una fuente fácilmente accesible de factores de crecimiento, que son fundamentales en la regulación del proceso de cicatrización de heridas y juegan un papel importante en la regulación de procesos celulares, tales como la mitogénesis, la quimiotaxis, la diferenciación y el metabolismo (Torabinejad y Turman. 2011). Esto se da por los métodos en el cual se concentran las plaquetas autólogas y se añaden a las heridas quirúrgicas o a los injertos y otras lesiones con el fin de acelerar la curación. Se dice que el PRP es una estrategia simple para concentrar las plaquetas o enriquecer al coágulo de sangre natural, dando paso a un proceso de cicatrización más rápido y completo (Marx. 2004).

En este marco también toma un importante valor el concentrado de *Fibrina Rica en Plaquetas* (FRP), el cual representa un nuevo paso en el concepto del gel plaquetario como estrategia terapéutica y se define como un biomaterial autógeno compuesto por leucocitos, plaquetas y fibrina (Dohan, et al, 2009). Esta segunda generación de plaquetas elimina los riesgos del uso de trombina bovina, además de no necesitar manejo bioquímico de la sangre. Por lo tanto, para la correcta preparación del FRP, se realiza la toma de muestra de sangre y centrifugación inmediata, antes de iniciarse la cascada de la coagulación (Dohan, et al, 2009).

El FRP se presenta como un gel de plaquetas y puede ser utilizado en combinación con otros injertos o como una membrana. Se considera un biomaterial regenerativo que actúa mediante una matriz polimerizada de fibrina rica en plaquetas, leucocitos y citoquinas que favorecen la circulación de las células madres, proliferación de fibroblastos y síntesis de colágeno tipo I. Se le supone un efecto osteopromotor más que osteoconductor (Dohan, et al, 2009).

FACTORES DE CRECIMIENTO Y REGENERACIÓN EN REP

En la región periapical coexisten dos líneas de células madre, las hematopoyéticas (*HSCs Hematopoietic Stem Cells*) que derivan de la médula ósea, y las ectomesenquimáticas (*MSCs Mesenchymal Stem Cells*) que derivan del mesodermo embrionario.

Las primeras son precursoras de los “clastos”, es decir monocitos-macrófagos, neutrófilos, células dendríticas, línea linfóide 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.

El principal mecanismo en la potenciación de la reparación de heridas son las señales paracrinas 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 paracrinas o factores de inducción, están constituidos por los *Factores de crecimiento (Transforming Growth Factors)*, como el *TGF- β* y los *BMP-2 y 4*, y los *factores de transcripción (Nuclear Factor Activator)* como el *NF-*

kB (Activador central del TNF), RANK y OPG (Receptor señuelo homólogo al RANK-L).

Los *factores de crecimiento* o GF (de growth factor) llamados también "factores tróficos" 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 (G0) y la entrada de la célula en fase G1. El aumento del tamaño celular es estimulado al incrementarse la síntesis proteica. 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.

En la lesión periradicular consecuencia de una necrosis pulpar, 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. 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.

Los *factores de crecimiento* y *factores de transcripción* constituyen las señales de inducción instructivas para la morfogénesis de los tejidos, indispensables para la migración, proliferación, diferenciación y metabolismo celular.

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

DESARROLLO DE UN NUEVO PROTOCOLO CLÍNICO EN PROCESOS DE REGENERACIÓN ENDODÓNTICA.

En base a la evidencia científica y los conocimientos biológicos actuales es que proponemos un nuevo protocolo que busca la continuidad de la formación radicular en dientes definitivos que no han alcanzado su desarrollo en amplitud de las paredes dentinarias y cierre de la porción apical. Este se desarrollará en dos sesiones posteriores al diagnóstico. En una primera instancia se realizará la desinfección y medicación del canal radicular y en una segunda sesión, 15 días después realizaremos la estimulación del sangrado, implantación de la matriz de fibrina rica en plaquetas, y el sellado cameral. La restauración definitiva se postergará hasta comprobar la evolución positiva del cuadro. A continuación se detalla cada etapa del procedimiento y los argumentos que ofrece la evidencia científica.

PRIMERA SESIÓN

1. Examen Clínico.

Se debe realizar una valoración clínica y radiográfica, esta valoración puede arrojar alteración de los tejidos blandos, presencia de dolor, cambios de coloración dentaria, respuesta pulpar a los cambios de temperatura, el estado del desarrollo radicular y presencia de lesión osteolítica periapical. (R. Wiggler. 2013). Serán candidatos al tratamiento aquellos pacientes que presenten dientes permanentes inmaduros con necrosis pulpar, con o sin lesión apical y desarrollo radicular incompleto cuyo diámetro apical mida 1 mm o más. Si bien en la actualidad se sabe que es viable la regeneración al interior de la cámara pulpar en dientes cuyo foramen apical mida desde 0,32 mm (W.G. Laureys. 2013) nosotros descartamos a estos pacientes debido a que presentan alternativas de tratamiento con resultados predecibles, como la endodoncia convencional o la utilización de un tapón de MTA si es que el desarrollo radicular es apto en amplitud.

2. Consentimiento Informado

Es común que en este tipo de tratamientos enfrentemos a menores de edad, por lo tanto tenemos el deber de informar adecuadamente a los padres o tutores responsables del niño por escrito y en forma verbal. Es importante dar a conocer que los alcances de este tratamiento aún están en fase experimental, con directrices no estandarizadas y que muestran resultados no predecibles en el 100% de los casos. Además, se debe informar la obligatoriedad de los controles en el tiempo, las alternativas de tratamiento, y la posibilidad de no cumplir las expectativas a cabalidad (R. Wiggler. 2013). El consentimiento informado utilizado durante nuestra investigación se detalla en el *anexo 2*.

3. Anestesia

Durante esta primera sesión se utilizará anestesia con vasoconstrictor (*ALPHACAINE 100, lidocaína HCl 2% más epinefrina 1:100.000. DFL*), se debe realizar aislamiento absoluto con goma dique y desinfección del campo de trabajo. Luego se procederá a la apertura cameral con alta velocidad y adecuada irrigación de tal manera de eliminar por completo el tejido dentario y exponer completamente la cámara pulpar.

4. Determinación de la Longitud de Trabajo

En este tipo de tratamientos la exploración del conducto se dará con facilidad debido al diámetro que este presenta. Se debe determinar 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 será dependiente del diámetro del conducto, pero se recomienda utilizar calibres mayores a los usados en la endodoncia convencional (limas de 3° Serie), ya que nos dará menor capacidad de movilidad del instrumento dentro del conducto. Esta debe ingresar en el conducto hasta que el LAE marque 0,0. La

longitud de trabajo se obtiene al restar 1 mm a la longitud indicada por el LAE, y deberá ser corroborada radiográficamente. Se determina correcta nuestra longitud de trabajo cuando la lima casi alcanza la altura apical entre ambas paredes radiculares. (Chen MY. 2012 – Reynolds K. 2009)

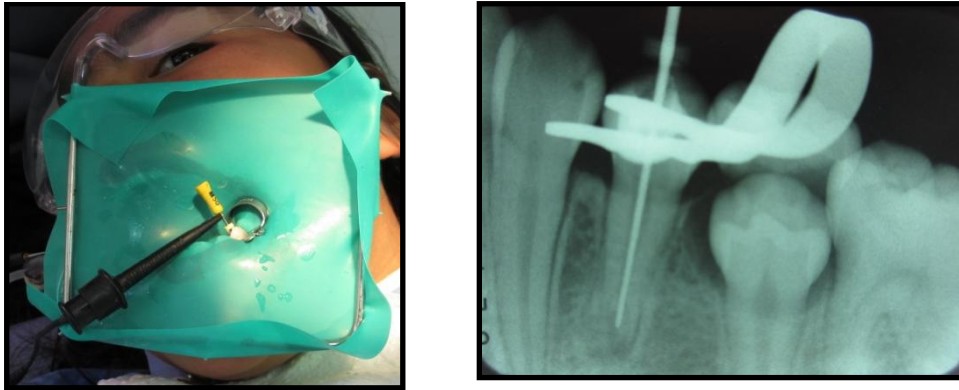


Fig 1: Determinación de la longitud de trabajo con LAE y radiografía de control de longitud de trabajo

5. Preparación biomecánica en regeneración endodóntica. (PBM)

De acuerdo a la mayoría de las publicaciones en protocolos clínicos de revascularización endodóntica (68%) no se debe realizar instrumentación mecánica de ningún tipo y en el resto de la evidencia se recomienda solo un leve desbridamiento de las paredes del conducto, (Evangelos G. 2015) por lo tanto, la desinfección debe lograrse sólo mediante el uso de soluciones irrigantes y medicación intracanal entre citas (2015; Wigler R. 2013) Este concepto ha llegado a ser parte de las consideraciones clínicas recomendadas por la Asociación Americana de Endodoncia (AAE)

Esta tendencia se basa en que el desbridamiento mecánico de las paredes del canal se debe evitar para proteger la vitalidad de las células mesenquimáticas sobrevivientes al interior de la región pulpar y células madre de los tejidos apicales (SCAP) responsables de la regeneración dentaria (Law AS. 2013, Wigler R. 2013).

Por otra parte los detractores a la instrumentación mecánica argumentan que esta produciría un aumento de la debilidad de las paredes dentinarias, lo que llevaría a

un resultado opuesto a los objetivos deseados por la terapia regenerativa. (Torneck. CD. 2009).

Nosotros hemos incluido la preparación biomecánica como pilar fundamental dentro de nuestro protocolo contraargumentando que existen una serie de factores que se deben analizar:

El primer lugar debemos tomar en cuenta las diferencias anatómicas que presentan estos dientes. Debemos considerar el diámetro aumentado que encontramos en estos conductos en todo su trayecto, por lo cual nuestros instrumentos siempre trabajarán holgadamente, lo que nos permite ejercer una presión controlada durante la preparación. Además presentarán la forma un cono invertido hacia apical. Esta variación protege al sector apical de un posible desgaste excesivo que podría generar la lima al momento de realizar la PBM, limitando la fricción hacia los sectores más coronales.

La remanencia de tejidos necróticos en la región pulpar provoca la 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 B. 2004). 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 S. 2005).

Por otro lado, es bien conocido que las bacterias, colonizan las paredes de los conductos y penetran en los túbulos dentinarios a través de una organización compleja llamada *biofilm bacteriano*, el cual posee sus propias barreras defensivas y redes nutricias. Estas propiedades le dan la capacidad de ser extremadamente resistente a los irrigantes y medicamentos intraconducto (Orstavik D. 1990; Svensater G. 2004). 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*. (Ashraf F. 2014). En presencia de infección, las células madre pulpaes que sobreviven parecen ser incapaces de lograr mineralización y la aposición de un puente de dentina terciaria. (Murray PE. 2007).

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 tenemos la certeza que la sobrevivencia de las *células madres pulpaes (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 LM. 2014) que no se verían afectadas si nuestro limite de trabajo es coronal a estas regiones.

Clínicamente esta preparación la realizaremos hasta la longitud de trabajo anteriormente determinada, con una lima K amplia, 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.

6. Irrigación

La remoción del tejido necrótico del canal radicular será acompañada por una copiosa irrigación con NaOCl al 2,5% aproximadamente. Para la preparación del

NaOCl se disolvieron 5 mL de hipoclorito al 5% en 5 mL de suero y de esta solución se utilizaron 20 mL en total (2 cargas en jeringas de 10 mL) con una aguja de calibre 21G (*Jeringas y aguja hipodérmica Nipro®*), 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 (Parirokh M. 2010). Seguido a esto realizaremos un lavado con 2mL con EDTA al 17% por 1 minuto y un enjuague final con suero fisiológico. Banchs F. 2004, Iwaya SI. 2001, Thibodeau B. 2007, Essner MD. 2011)

El hipoclorito de sodio es un potente agente antimicrobiano y un disolvente de sustancias orgánicas y tejidos necróticos. (Haapasalo M. 2010). Su potencia de disolución será dependiente de la concentración y frecuencia de recambio (Parirokh M. 2010). Esta capacidad de disolución será la responsable de una disminución en la sobrevivencia de las células madre. Un estudio enfocado en evaluar la sobrevivencia de las *células madres de la papila apical (SCAP)* a distintos agentes químicos utilizados como irrigante (Trevino EG. 2011) determinó que el condicionamiento con EDTA al 17% permite la sobrevivencia en gran medida de las SCAP, mientras que el uso de NaOCl al 6% produce una caída en el número de estas células, por otro lado se descubrió que el uso de EDTA posterior al uso del hipoclorito al 6% atenúa este efecto indeseable.

Estudios Independientes han demostrado que el acondicionamiento dentinario con NaOCl al 5-6% impide la diferenciación de las *células madre a odontoblastos* tanto en modelos "*in vitro*" (Casagrande L. 2010) como en "*in vivo*". (Galler KM. 2011). Además, se ha visto que el efecto citotóxico persiste incluso después de la remoción del irrigante, lo que sugiere que el NaOCl tiene un efecto tanto directo como indirecto en la toxicidad celular (Essner MD. 2011) que podría ser atribuido a la desnaturalización que produce este irrigante sobre algunos factores de crecimiento como el *factor de crecimiento vascular endotelial* (Roberts-Clark DJ 2000) y el *factor de crecimiento transformante beta 1* (Cassidy N. 1997), los cuales juegan un rol fundamental en la proliferación y diferenciación de las células madre

mesenquimáticas hacia odontoblastos y que son atrapados en la matriz dentinaria durante la dentinogénesis. (Smith AJ. 1991 - 1998)

Con el fin de aclarar como las distintas concentraciones afectan los tejidos periapicales, Martin el año 2014, realizó un estudio que busca determinar como distintas concentraciones del NaOCl afectan la capacidad de sobrevivencia y diferenciación de las *células madre de la papila apical* (SCAP) fue así como realizó diversas muestras que fueron irrigadas con NaOCl al 6%, 3% y 1,5%, la mitad de estas recibieron una segunda irrigación con EDTA al 17% y a todas se les realizó un enjuague final con abundante suero fisiológico con el fin de eliminar cualquier residuo de agentes químicos, para finalmente ser cultivadas por 7 días. Se encontró que la sobrevivencia y la capacidad de diferenciación fueron directamente dependientes de la concentración en la dentina condicionada con NaOCl, sin embargo, a una concentración del 1,5% los efectos eran mínimos. Por otro lado el uso de EDTA como paso final en la irrigación produce una disminución de los efectos generados por el NaOCl (Martin DE. 2014). Este efecto citotóxico del NaOCl al 6% y el efecto positivo generado por EDTA al 17% es coincidente con diversos estudios de otros autores. (Trevino EG. y Demarco FF)

La restricción de introducir la aguja a 1 mm de la longitud de trabajo se basa en que está comprobado que al realizar presión leve y en forma lenta, el irrigante no alcanza más allá de 1 mm de la punta de la aguja. (Ram Z. 1977).

7. Medicación Intraconducto en REP

La Medicación Intraconducto que se utilizará en este estudio consta de una bipasta compuesta de moxifloxacino de 400 mg, junto con metronidazol de 500 mg en una proporción 1:1. disueltos en un vehículo de 1ml de suero aproximadamente hasta lograr una consistencia de pasta similar a la que se alcanza con el hidróxido de calcio, para ser aplicada dentro del conducto radicular. Este se aplicará con una lima de segunda serie para facilitar la inserción del medicamento hacia el interior del conducto regular, siempre manteniendo una profundidad de aplicación

que no supere la longitud de trabajo, ya que debemos dejar espacio suficiente para los nuevos tejidos que se pudiesen formar durante este periodo. (Bose R. 2009)



Fig 2: Medicación con moxifloxacino 400 mgs/metronidazol 500 mgs. Ambos comprimidos son triturados hasta alcanzar un polvo homogéneo que se disuelve en aprox 1 mL de suero fisiológico hasta alcanzar consistencia de pasta.

Los procedimientos regenerativos no solo buscan como resultado la desinfección, sino también el fortalecimiento de los dientes involucrados. Este resultado es difícil de evaluar, los científicos pueden mostrar el control de la infección endodóntica dentro de 1-2 años; Sin embargo, el fortalecimiento de los dientes requiere décadas de monitoreo. La Apexificación con hidróxido de calcio se ha demostrado que fracasa en muchos casos dentro de los 5 años, en particular en los casos con una dentina muy delgada (Cvek M. 1972). Se especula que esto puede estar relacionado al debilitamiento de la dentina expuesta al hidróxido de calcio a largo plazo. El MTA no parece debilitar la dentina como el hidróxido de calcio; sin embargo, el diente permanece estructuralmente débil y puede fracturarse en el largo plazo (Ashraf F. 2014).

Debido a que el desarrollo de una infección endodóntica juega un papel crítico en las consideraciones del tratamiento y el éxito de los procedimientos de regeneración endodóntica, es esencial examinar el tipo y las características de la

infección que resulta después de la necrosis pulpar. El clínico debe ser capaz de entender la ubicación del biofilm bacteriano, las características de virulencia, la adhesión microbiana, y la sensibilidad antibiótica de los organismos involucrados. Este conocimiento podría ayudar a identificar las mejores estrategias antibacterianas (Ashraf F. 2014).

Varias generaciones de tecnologías moleculares han dado lugar a una notable mejora en el conocimiento de la microbiología endodóntica. Estudios moleculares de antaño sólo investigaron la presencia de organismos que habían sido identificados por cultivo o usando metodologías de clonación y secuenciación ineficientes y de alto precio. Recientemente, los estudios de secuenciación de nueva generación han puesto de manifiesto la diversidad y la riqueza no reconocida previamente en infecciones endodónticas. También hay diferencias notables observadas en las muestras de diferentes pacientes y la expresión de diferentes rasgos de virulencia en diferentes cepas de la misma especie microbiana. Estos hechos hacen que sea muy difícil la identificación de microorganismos específicos que son responsables de síntomas clínicos, la resistencia a los agentes antimicrobianos, y los marcadores de la persistencia de la enfermedad (Ashraf F. 2014).

En cuanto a la medicación intraconducto utilizado en REP, el medicamento más popular usado dentro de los últimos años es una pasta compuesta por una combinación de antibióticos. Sato et al (Sato I. 1996) afirmó que una mezcla de 3 antibióticos (ciprofloxacino, metronidazol, y minociclina) fue capaz de eliminar las bacterias colonizadoras de los túbulos dentinarios profundamente. En los primeros artículos clínicos pertinentes, los investigadores usaron una pasta antibiótica doble que contiene ciprofloxacino y metronidazol y luego tripasta anteriormente mencionada como medicamentos intraconducto (Evangelos G. 2015; Banchs F. 2004; Iwaya SI. 2001). Investigadores posteriores utilizaron diversas combinaciones de antibióticos para controlar la infección del conducto radicular. La comprobada capacidad de esta pasta de antibióticos para erradicar las bacterias en los túbulos dentinarios (Hoshino E. 1996) fue la razón principal para el amplio

uso de antibióticos. Sin embargo, en estudios posteriores *in vitro* detectaron efectos perjudiciales de pastas de antibióticos en concentraciones igual o mayor a 1 mg / ml en la supervivencia de las SCAPs (Ruparel NB. 2012; Althumairy RI. 2014). En contraste, el Ca(OH)₂ promovió la proliferación de SCAPS (Ruparel NB. 2012; Althumairy RI. 2014). Las consideraciones clínicas de la AAE (2015) recomiendan el uso, ya sea de la pasta combinada de antibióticos o la pasta de Ca (OH) 2. Sin embargo, la pasta de antibiótico se observa con mayor frecuencia en los estudios clínicos publicados relacionados en REP.

Actualmente en el ámbito farmacológico, el ciprofloxacino ha sido mejorado por la creación del levofloxacino y el moxifloxacino, los cuales presentan una mayor actividad frente a microorganismos gram (+), especialmente frente a *Staphylococcus* y *Streptococcus*. Son menos activos frente a gram (-) como *Haemophilus influenzae* y *Moraxella catarrhalis*, independiente de que las cepas sean o no productoras de β-lactamasa. La actividad frente a otras bacterias gram (-): *Acinetobacter* spp, *Klebsiella pneumoniae* y otras enterobacterias, es comparable a la de ciprofloxacino. Levofloxacino muestra una actividad intermedia frente a anaerobios; siendo ésta para moxifloxacino mucho más elevada. Su sustantividad es marcadamente superior, permitiendo mantener su efecto durante varios días, logrando ser mucho más activos que ciprofloxacino frente a microorganismos propios de las infecciones endodónticas y bacterias atípicas tales como *Chlamydia*, *Mycoplasma*, *Coxiella* y *Legionella* (Carmona García PM. 2001).

Es con estos fundamentos que hemos propuesto utilizar el moxifloxacino de 400 mg, como complemento al metronidazol de 500 mg. con el objetivo de ampliar nuestro espectro antibacteriano, asegurando de esta manera, la desinfección satisfactoria del sistema de conductos radiculares, sin producir reacciones adversas que podrían contravenir los resultados esperados.

8. Sellado Temporal.

Una efectiva acción del antibiótico va a depender de prevenir una efectiva microinfiltración durante el proceso de medicación entre sesiones. Con el fin de

alcanzar este objetivo se introducirá una mota de algodón estéril y sobre esta una capa de 4 mm de CIV (*ChemFil Superior Dentsply*) de autocurado. Este debe ser capaz de soportar las fuerzas masticatorias y resistir al desalojo hasta 14 días. Es importante destacar que se debe evitar el uso de restauraciones temporales con materiales en base a eugenol, ya que inhiben el proceso de polimerización de las resinas compuestas, material mayoritariamente utilizado como restauración final en este tipo de pacientes. (Pameijer C. 2012)

No existe documentación respecto al tiempo óptimo que debe establecerse entre una sesión y otra, los estudios proponen rangos que varían entre 7 días y varias semanas. En nuestro estudio determinamos como dos semanas un periodo adecuado con el fin de permitir actuar al antibiótico de forma efectiva y minimizar el riesgo de fractura coronaria entre sesiones. (Wigler R. 2013)



Fig 3: Sellado temporal con cemento ionómero de vidrio.

SEGUNDA SESIÓN.

Antes de continuar con la siguiente fase del tratamiento es importante verificar la completa erradicación de los signos y síntomas. En el caso que estos persistan, se deben repetir las etapas de la primera sesión y si aun así no se logra el objetivo inicial de la terapia, se debe considerar la apexificación como procedimiento alternativo. Si los resultados de la primera sesión son positivos se procederá a confección de la *matriz de andamiaje* en paralelo a la preparación del lecho biológico para la recepción de ésta.

1. Matriz de andamiaje

Nuestro protocolo propone la utilización de Fibrina rica en plaquetas (PRF) como matriz de andamiaje, ya que como biomaterial 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.

Este fue introducido el 2000 el Dr. Choukrun, médico anestesista dedicado al tratamiento del dolor para el manejo de heridas de difícil reparación como tratamiento del dolor crónico, introduciendo el protocolo de PRF en Odontología desde el 2001.

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, solo es necesario realizar una punción.



Fig 4: Toma de muestra atraumática con sistema Vacutainer

Ambos tubos son puestos en la centrifuga (Centrifuga de Laboratorio Merck ®) en forma contralateral de manera de alcanzar equilibrio de peso entre ambos tubos. Luego se realiza el centrifugado a 3.000 RPM durante 10 minutos, de esta manera obtenemos una muestra formada por 3 capas claramente delimitadas:

- 1). *Plasma acelular (plasma pobre en plaquetas) en la superficie*
- 2) *Coágulo de fibrina en el medio (Dohan et al. 2006)..*
- 3) *Células rojas en el fondo del tubo,*

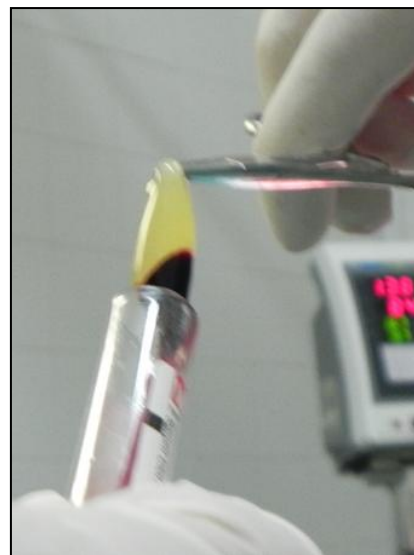


Fig 5: Centrifuga utilizada y matriz de FRP obtenida del centrifugado.

Este último puede ser usado directamente como un coágulo de fibrina o después de la compresión como una fuerte membrana. El coágulo de fibrina se forma mediante un proceso de polimerización natural que ocurre durante la centrifugación. (Dohan et al, 2009).

EL PRF es considerado como un biomaterial de cicatrización autólogo que incorpora una *matriz de Fibrina con leucocitos, plaquetas y factores de crecimiento*, centrifugados desde una simple muestra de sangre. Hasta el momento este protocolo de PRF es la más simple y segura forma de producir un concentrado plaquetario. (Del Corso M. 2010) La arquitectura natural de fibrina parece ser responsable de una lenta liberación de los factores de crecimiento y glucoproteínas de la matriz durante aproximadamente 7 días

La activación de las plaquetas se produce por sustancias estimulantes tales como trombina, cloruro de calcio y colágeno, entre otros, lo que conlleva a la agregación plaquetaria, y la liberación de los gránulos alfa que contienen en su interior a los *factores de crecimiento* (GFs) (Chen D. 2000) que son señales peptídicas moleculares capaces de modificar las respuestas biológicas celulares, estando sobretodo involucradas en el control del crecimiento y diferenciación celular, son mediadores biológicos que regulan la migración, proliferación, diferenciación y metabolismo celular. (García V. 2004), algunos de los factores de crecimiento encontrados en gránulos plaquetarios son:

- **PDGF (factor de crecimiento derivado de las plaquetas)**, está implicado en la reparación celular y en los mecanismos de proliferación celular. Además de su actividad mitógena es quimiotáctico para monocitos y macrófagos. También estimula la fagocitosis en los neutrófilos y monocitos. Estimula la síntesis de colágeno (Bennett NT, 1993; Stephan EB, 2000; Strayhorn CL, 1999).

- **VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular)**, es un mitógeno selectivo para células endoteliales, su importancia queda de manifiesto por su acción angiogénica in vivo (Bennet NT, 1993).

- **TGFbeta (factor de crecimiento transformado)**, mejora la deposición de matriz extracelular, aumentando la síntesis e inhibiendo la degradación (Sumner DR, 1995; Alevizopoulos N, 1997).
- **IGF-I (factor de crecimiento insulínico tipo I)**, es el más abundante en el tejido óseo, lo producen los osteoblastos y estimula la formación del hueso induciendo la proliferación celular, la diferenciación y la biosíntesis de colágeno tipo I (Ogata N, 2000); también se encuentra en cantidades importantes en las plaquetas. Cuando es liberado por éstas, es un agente quimiotáctico potente para las células vasculares endoteliales, originando un aumento de la neovascularización de la herida.
- **EGF (factor de crecimiento epidérmico)**, sus niveles plasmáticos no son detectables, pero en las plaquetas se encuentra en cantidades importantes. Tras la activación plaquetaria, se libera en cantidad suficiente para inducir la mitosis y la migración celular (Bennet, 1993).

Las plaquetas son atraídas a la herida o sitio injuriado, estimulando la formación de *fibrina* y la cascada de la coagulación. Las *plaquetas activas o degranuladas* liberan numerosas sustancias incluyendo los *Factores de crecimiento*. Estos estimulan y atraen las células madre indiferenciadas hacia el sitio de la herida, promoviendo la mitosis celular y estimulando la osteogénesis y angiogénesis. Las *citoquinas* también son liberadas de los gránulos plaquetarios y estas modulan los procesos de activación, proliferación y diferenciación de los leucocitos, jugando un papel importante en la inmunología (mecanismo de la inflamación). Los concentrados plaquetarios entonces buscan elevar el nivel de plaquetas normales en el sitio de la herida, permitiendo una temprana migración celular al sitio afectado y por lo tanto acelerando el proceso de reparación. (Carol A. 2009)

Estudios sugieren que el PRF puede disminuir el efecto doloroso de la inflamación natural para un acto quirúrgico, mediante la corrección de ciertos excesos destructivos nocivos durante el proceso de reparación de los tejidos de la herida y por lo tanto, podría ser un modo regulador inmune con habilidades de retro-control

inflamatorio y por lo tanto explicar la reducción de la infección post-operatoria. (Vivek G. 2011)

En promedio se encontraron un 97% de plaquetas y un 50% de leucocitos más en la matriz de PRF, mostrando además una específica distribución tridimensional, dependiendo de las fuerzas de la centrifugación. Lo que le da mucho mejores cualidades en cuanto a recepción celular y sustancias que participan en la reparación de tejidos, además de una mejor manipulación clínica. (Dohan E. 2010)

2. Anestesia

Previo al aislamiento con goma dique debemos anestesiar, en esta segunda sesión sin vasoconstrictor (*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 mecánico del sangrado (Miller EK. 2012).

3. Repaso de la preparación biomecánica e Irrigación.

Posterior al retiro de la restauración temporal de debe eliminar minuciosamente la medicación intraconducto y realizar un cuidadoso repaso de la PBM con el último instrumento utilizado sin traspasar los límites dentarios y con abundante irrigación con hipoclorito de sodio al 2,5% (aproximadamente) 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 (Yamauchi R. 2011). Luego se realizará una irrigación final con abundante suero, repitiendo el protocolo de irrigación de la primera sesión. Recientes estudios han demostrado que el EDTA como solución irrigante final en protocolos de regeneración es capaz de descalcificar la superficie dentinaria, exponiendo así las fibras colágenas, lo cual promocionaría la adhesión de nuevas

células, además la descalcificación que se produce en la dentina libera factores de crecimiento que tienen la capacidad de atraer nuevas células y promover su diferenciación en células odontoblásticas. (Galler KM. 2011).

4. Inducción del sangrado.

Posteriormente debemos introducir una lima K #20 a 2 o 3 mm más allá del foramen apical con el fin de estimular el sangrado al interior del canal radicular. Este sangrado 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 coagulo al interior del canal. (Banchs F. 2006, Wigler R. 2013).

5. Manipulación de la matriz de andamiaje.

Al abrir el tubo con la muestra centrifugada, lo primero será separar los segmentos obtenidos. La sección roja se elimina en su totalidad y la porción amarilla se divide en tres. El segmento más cercano al coagulo es el que contiene la mayor cantidad de plaquetas y leucocitos, por lo tanto, el que se privilegia a utilizar en apical. Lo llevamos a la entrada de la cámara pulpar, empacando con conos de papel estéril de la segunda serie invertidos, esta maniobra se repite hasta alcanzar el relleno completo del canal radicular desde apical y procurando que la matriz tenga cierta firmeza al ejercer presión, sin sobre comprimir ya que esto podría causar el deterioro del componente celular.

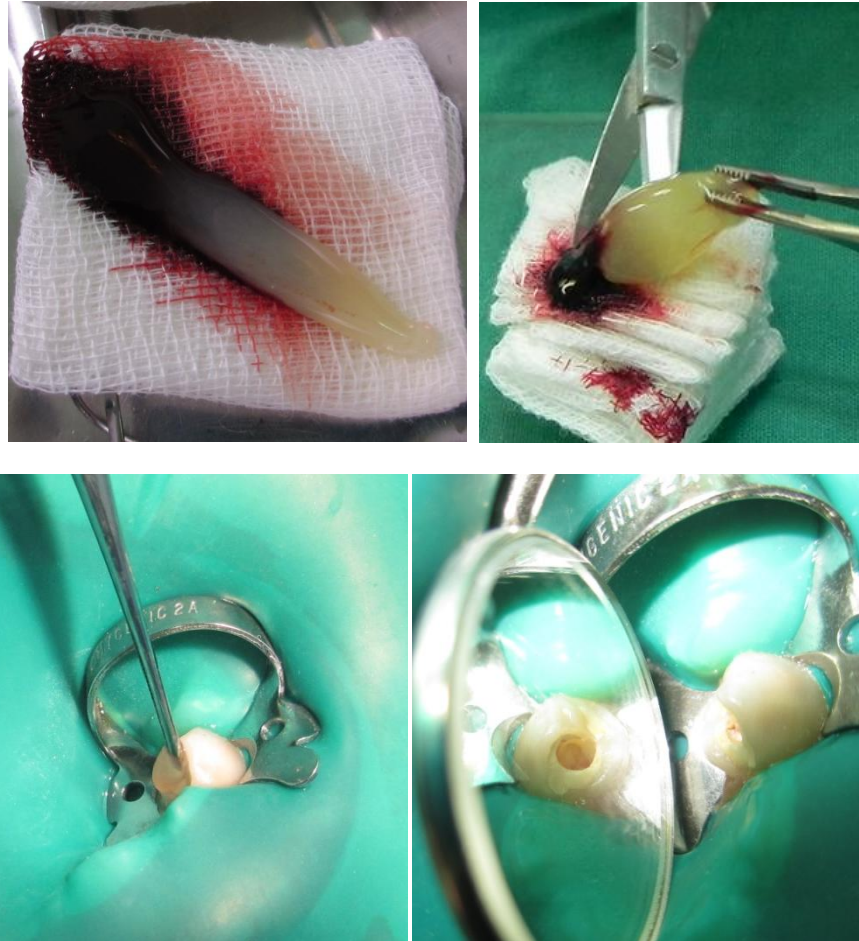


Fig 6: Manipulación de la matriz de andamiaje de FRP desde el retiro del tubo hasta la inserción al interior del conducto.

6. Protección y sellado. (Uso de *Biodentine™*)

Alcanzada la consistencia deseada (del FRP), proponemos como variación a los protocolos publicados, el cubrir nuestra matriz con un sustituto bioactivo de dentina en base a *silicato tricálcico (Biodentine™-Septodont)*, ya que presenta propiedades superiores a los cementos actualmente utilizados en relación al *tiempo de fraguado, propiedades mecánicas y manipulación*. Este, corresponde un material relativamente nuevo, con excelente biocompatibilidad, lo que lo hace un material adecuado para este tipo de procedimientos. (Cedillo J. 2013).

Para esto, preparamos el cemento según las indicaciones del fabricante y cubrimos con el material dejando una base de aproximadamente 3-4 mm,

esperamos 12 minutos y realizamos la restauración intermedia con ionómero de vidrio para restauraciones (*ChemFil Superior Destsply*) que debe tener un espesor de a lo menos 3 mm.

En la actualidad, el material con mejores resultados, según lo describe la literatura, en los procesos regenerativos es el *Agregado de Trióxido Mineral (MTA)*, el cual ha sido utilizado tradicionalmente en endodoncia para reparaciones de perforaciones radiculares y del piso pulpar, apexificaciones, obturación apical en endodoncia quirúrgica y en reparaciones de las resorciones internas y externas, esto gracias una serie de características como: *biocompatibilidad, buen sellado periférico, no reabsorbible, radiopacidad, bacteriostático y capacidad de inducir la regeneración de tejidos perirradiculares* (Evangelos G. 2015).

Este cemento esta basados en los materiales del cemento Portland (75% *Silicato tricálcico, Aluminato tricálcico, Silicato dicálcico, Aluminato férrico tetracálcico, óxido de Bismuto, 4.4 % Sulfato de calcio dihidratado*); que contienen ciertas concentraciones de impurezas metálicas, provenientes de los minerales naturales utilizados como materia prima. Si bien su uso ha presentado bueno resultados, también es cierto que presenta ciertas falencias entre las que destacamos:

Malas propiedades mecánicas: Principalmente por la presencia de aluminio, el cual hace el producto frágil. La fuerza compresiva del MTA en 21 días es de alrededor de 70 Mpa (Megapascuales), la cual es comparable a la del IRM y Super-EBA, pero significativamente menor que la amalgama. Esto ya que fue creado principalmente para su uso en la región apical y en áreas muy limitadas, si queremos utilizarlo como material de base de una restauración, debemos considerar este factor como una de sus principales condicionantes. (Lauent P. 2008)

Compleja manipulación: El MTA requiere humedad para fraguar; por lo que al dejar la mezcla en la loseta o en el papel se origina la deshidratación del material adquiriendo una textura seca que al momento de ser utilizado dificulta su empacamiento. (Torabinejad. M 1999).

Prolongado tiempo de fraguado: La hidratación del MTA resulta en un gel coloidal que solidifica de 3 a 4 horas, las características del agregado dependen del tamaño de la partícula, de la proporción polvo líquido, temperatura, presencia de agua y aire comprimido. (Torabinejad. M 2002). Además para llevar a cabo su reacción de endurecimiento necesita de humedad, lo que en tratamientos de regeneración obliga a una segunda sesión para remover la mota de algodón encargada de entregar la hidratación.

El cemento utilizado en nuestro protocolo busca controlar la pureza del silicato de calcio, eliminando el aluminio y otras impurezas, por tal motivo, incrementa las propiedades físico-químicas (endurecimiento rápido, alta dureza mecánica).

Polvo	Vehículo
Silicato tricálcico ($3\text{CaO}\cdot\text{SiO}_2$)	Cloruro de calcio dihidratado ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
Carbonato de calcio (CaCO_3)	Polímero hidrosoluble
Dióxido de zirconio (ZrO_2)	H_2O

Componentes del silicato tricálcico purificado (Biodentine)

Propiedades de sus componentes:

Silicato tricálcico: es el principal componente del polvo y es quien regula la reacción de fraguado.

Carbonato de calcio: es un relleno.

Dióxido de zirconio: otorga radiopacidad al cemento.

Cloruro de calcio: es un acelerador.

Polímero hidrosoluble: reduce la viscosidad del cemento. Se basa en un policarboxilato modificado, que logra una alta resistencia a corto plazo,

reduciendo. La cantidad de agua requerida por la mezcla y manteniendo su fácil manipulación.

- **Ventajas del Biodentine™**

Tiempo de fraguado menor: El silicato tricálcico tiene un tiempo de fraguado inicial, de 6 minutos y un tiempo de fraguado final de 10-12 minutos. Esta mejoría, al ser comparado con los ionómeros de vidrio de alta densidad y MTA, es el resultado del cambio en el tamaño de las partículas, puesto que a mayor superficie es menor el tiempo de fraguado; la adición de *cloruro de calcio* como vehículo, consiguió acelerar la reacción y la disminución del contenido líquido el tiempo de fraguado. (Cyril V. 2010)

Mejora en la resistencia mecánica: Una de las principales desventajas de los cementos ya existentes en base a silicato de calcio, es la resistencia a la compresión, principalmente a causa de componentes como los aluminatos, contaminantes que determinan la fragilidad del producto. Para mejorar este aspecto, fue controlada la pureza del silicato de calcio, y se redujo el nivel de porosidad. El resultado de estas dos modificaciones mejoraron las propiedades físicas del material, obteniendo como resultado mayor resistencia mecánica. Además se incorporó al contenido líquido, un agente reductor de agua, que corresponde al *polímero hidrosoluble*. (Nonat. A. 2006). Estas características hacen de este material, un excelente sustituto de la dentina y un material ideal para ser utilizado en restauraciones, ya que su resistencia mecánica, de acuerdo a las investigaciones, es de 131.5 MPa en el primer día y va aumentando hasta llegar a 300 MPa en un mes, donde se estabiliza y llega a tener la resistencia mecánica similar a la dentina 297 Mpa. (O'Brien J. 2002).

Mejora en su presentación comercial y facilidad de aplicación: La engorrosa manipulación que presenta el MTA es ampliamente conocida, así como su imprecisa preparación, mientras *Biodentine* viene en una presentación comercial capsula/pipeta dosificados por porciones, están se mezclan en vibrador por 30 segundos, además si se desea una consistencia más gruesa, se deben esperar 30 segundos adicionales, sin sobrepasar el tiempo de trabajo. La consistencia

alcanzada es una pasta similar al fosfato de calcio, manipulable con espátula, lo que permite una aplicación notoriamente más simple. (Septodont Departament. 2010)

7. Controles Post-Operatorios

La mayoría de los reportes de casos muestran seguimiento de hasta 5 años post tratamiento. En la mayoría de los casos se aprecia resolución del defecto óseo en un periodo de 6 meses y una consecuente elongación radicular y cierre apical entre 12 y 24 meses. La mayoría de los clínicos recomiendan controles cada 3 meses durante el primer año seguido por seguimientos cada 6 meses a partir del segundo año. (Neha. K 2011, Wiggler R. 2013).

Nosotros proponemos un control postoperatorio 15 días después destinado principalmente a evaluar el endurecimiento efectivo del *Biodentine* y realizar la restauración definitiva. Luego un control a los tres meses, a los 6 meses, y al año, para posteriormente realizar controles periódicos cada 6 meses hasta completar los 5 años post-tratamiento.

8. Futuro de la Endodoncia Regenerativa

Enfoques basados en Regeneración de células Pulpares

El aislamiento de células madre derivados de la pulpa dental ha abierto nuevas vías para la odontología regenerativa. Las células madre de dientes permanentes o temporales se han utilizado en estudios realizados por varios grupos de investigación. Existe suficiente evidencia por ahora que la ingeniería del tejido pulpar dental después del trasplante de células madre de la pulpa dental con un sistema portador adecuado es posible. Estos enfoques proporcionan una prueba de que el trasplante de células madre puede dar lugar a la regeneración del complejo dentino pulpar dentro del canal radicular. Las células madre podrían ser adquiridas de los dientes permanentes o temporales, pero otras fuentes celulares

de células madre mesenquimales podrían ser consideradas, tales como tejido adiposo o de médula ósea.

Regeneración Clínica del tejido Pulpar: Enfoques libres de células

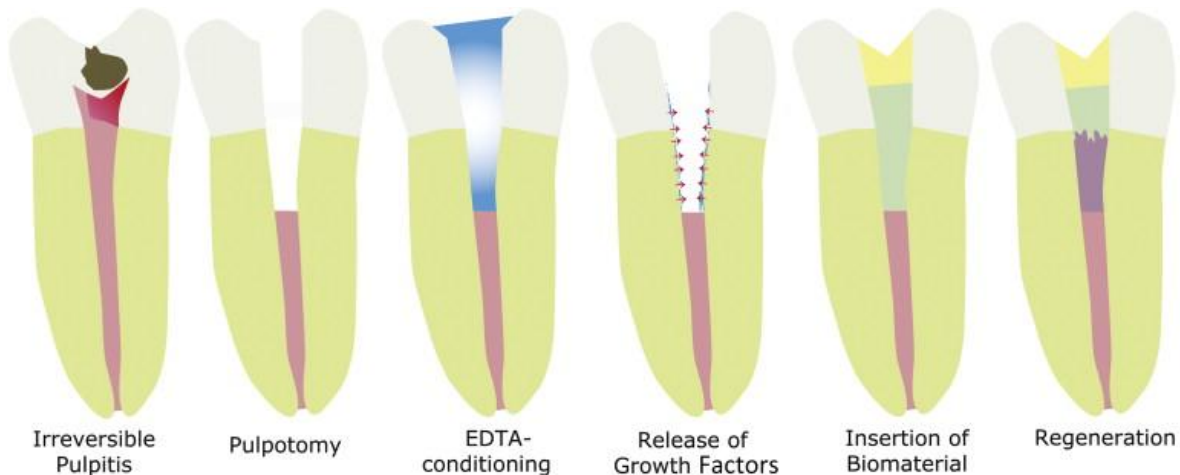
En la búsqueda de alternativas de tratamiento, los enfoques libres de células en la ingeniería tisular de la pulpa dentaria pueden ser considerados. Algunos informes de casos clínicos muestran que la regeneración pulpar sin el trasplante de células madre es posible en pacientes jóvenes con dientes inmaduros y con formación radicular incompleta.

Otra alternativa corresponde a células madre que son transferidas de poblaciones que ya están presentes en el cuerpo del paciente y que pueden ser reclutadas para el sitio de la lesión para estimular los mecanismos de autocuración y desbloquear los poderes regenerativos innatos. Métodos "*in vitro*" de regeneración de tejidos van a depender de la presencia de células endógenas, de la estimulación funcional y de las respuestas tisulares locales, las cuales son muy prometedoras porque en los últimos estudios de prueba de este concepto documentan variados éxitos. En cuanto a la regeneración pulpar, este enfoque involucra lo siguiente:

1. Las células madre endógenas de tejidos residentes, ya sea de la pulpa dentaria o la región periapical.
2. Un andamio bioactivo inyectable, que finalmente serán sometidos a la degradación mediada por células que se reemplazarán por la matriz extracelular natural.
3. Quimioatrayentes y factores de crecimiento potentes para inducir la migración celular, la proliferación y la diferenciación

Por lo tanto, "In vitro" la regeneración del tejido pulpar sigue el enfoque de la ingeniería de tejidos clásica en contraste con el "protocolo regenerativo". Se

describe en los informes de casos mencionados anteriormente, que no implican andamios exógenos o factores de crecimiento.



El procedimiento clínico previsto para la regeneración de la pulpa dentaria utilizando un enfoque libre de células se ve más o menos como se muestra en la imagen superior. Después de la eliminación de tejido inflamado, la dentina luego de ser acondicionada utilizando EDTA expone los factores de crecimiento en la superficie de esta. Luego se inserta un biomaterial en el conducto, mientras tanto los factores de crecimiento pueden estar unidos y protegidos de la degradación proteolítica. Las células madre residentes que provienen del tejido pulpar restante podrían ser atraídas por los factores de crecimiento derivados de la dentina; migrar, poblar, y degradar el biomaterial; para finalmente diferenciarse y formar nuevo tejido pulpar.

Estos enfoques libres de células utilizando andamios bioactivos, células endógenas y factores de crecimiento nos podrían permitir que se regenere pulpa dentaria en el futuro. Los factores de crecimiento podrían incorporarse en el biomaterial a través de mecanismos tales como la heparina para lograr una vida media prolongada y bioactividad duradera después de la liberación. Los factores de crecimiento de la dentina pueden actuar como quimioatrayentes para las

células madre endógenas, que residen en tejido pulpar restante sano o potencialmente en la región periapical. Después del reclutamiento de células, estas células podrían poblar el andamio y adherirse, proliferar, diferenciarse, y, finalmente, formar nuevo tejido. Debido a la mayor concentración de factores de crecimiento en la pared dentinaria del conducto radicular después del acondicionamiento (con EDTA), es de esperar que la diferenciación terminal se llevará a cabo sólo en contacto con la pared dentinaria.

La mezcla así como la concentración de los factores de crecimiento individuales después de la liberación de la matriz dentinaria, y por lo tanto del propio cuerpo del paciente podrían proporcionar una mezcla óptima, tanto en términos de composición y concentraciones, para el enfoque de la regeneración pulpa dental. La recreación de tejido pulpar funcional podría ser una meta que vale la pena.

DESARROLLO CLÍNICO EN PACIENTES TRATADOS CON LOS PROCEDIMIENTOS DE ENDODONCIA REGENERATIVA DE LA CÁTEDRA DE ENDODONCIA DE LA UNIVERSIDAD DE VALPARAISO.

En este estudio se realizaron 5 procedimientos de endodoncia regenerativa (REP) en 4 pacientes, entre los años 2013 y 2014, los cuales fueron atendidos en la *Clínica de Postgrado de la Facultad de Odontología de la Universidad de Valparaíso*

Los pacientes fluctuaban entre 8 y 11 años de edad al momento de ingresar; y presentaron como diagnóstico: *necrosis pulpar, sintomatología periapical y ápice inmaduro*

En todos los casos se utilizó el protocolo detallado anteriormente, y fueron atendidos por los mismos profesionales. Previamente se hizo firmar al apoderado responsable del menor el consentimiento informado.

PRIMER CASO CLÍNICO:

Paciente sexo masculino de 9 años de edad.

Fecha de inicio del tratamiento: 3 de Diciembre 2014.

Fecha de término de tratamiento: 4 de enero 2015

Motivo de consulta: Pacientes acude con fractura coronaria complicada de los dientes 8 y 9 posterior a traumatismo dentoalveolar con fecha superior a 1 año.

Examen clínico: Dientes 8 y 9 sin sintomatología, sin respuesta a los test térmicos de sensibilidad pulpar, con presencia de fístulas activas en el fondo de vestíbulo de los dientes afectados. Diente 9 presenta cambio de coloración grisáceo.

Diagnóstico inicial: Necrosis pulpar y Periodontitis apical crónica.



Fig 1: Fotografía clínica de los dientes 8 y 9 pre-operatoria que muestra fractura coronaria de ambos centrales, la presencia de fístulas activas y exudado purulento, diente 9 presentó coloración grisácea.



Fig 2: Fotografía clínica posterior a la medicación y previa al proceso de regeneración con matriz de FRP (17 de Diciembre 2014) se observa una notoria disminución clínica del proceso infeccioso en relación al diente 8 y casi total en el diente 9.

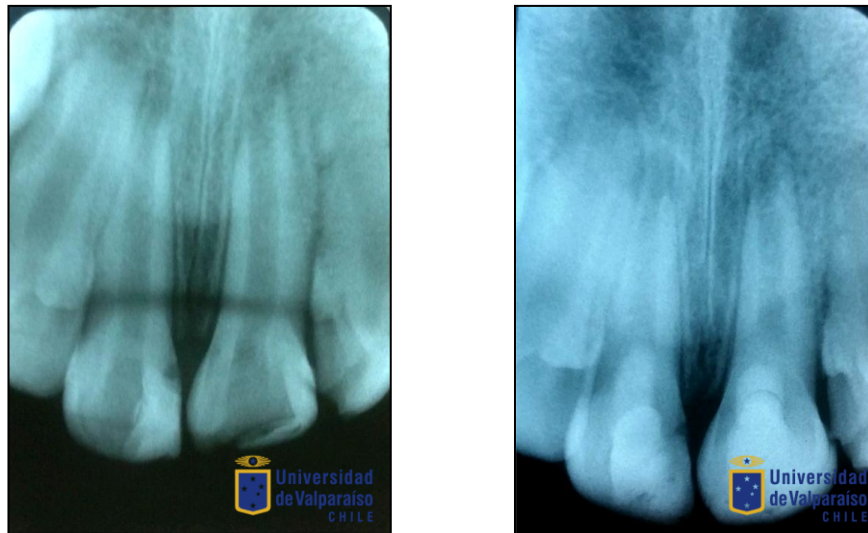


Fig 3: A la izquierda radiografía preoperatoria donde se aprecian los ápices inmaduros y signos radiográficos de lesión periapical. A la derecha radiografía de control a los 6 meses post-tratamiento (junio 2015) el diente 8 no ha presentado grandes variaciones salvo una aparente disminución de la lesión ósea, diente 9 muestra leve formación de tejido mineralizado apical en la pared radicular distal.



Fig 4: Fotografías clínicas al término del tratamiento (enero 2015) y primer control a los 3 meses (Abril de 2015) que muestra evolución positiva sin signos clínicos de necrosis pulpar o patología periapical. Su último control fue en Junio de 2015 el cual presentó signos positivos. En la actualidad el paciente se encuentra en tratamiento en la clínica de odontopediatría de pregrado de la facultad.

SEGUNDO CASO CLÍNICO

Paciente sexo femenino de 11 años de edad.

Fecha de inicio de tratamiento: 7 de julio del 2014.

Fecha de término de tratamiento: 4 de agosto 2014

Motivo de consulta: Paciente derivada por profesional del Servicio de Salud de Valparaíso, post-trepanación del diente 28 hace más de un mes, producto de caries oclusal profunda con compromiso pulpar (diagnóstico inicial de necrosis pulpar). En esta primera atención se dejó medicación con hidróxido de calcio.

Examen clínico: Coronalmente presentó una restauración oclusal temporal (*eugenato*), dolor moderado a la percusión, sin respuesta a los test de sensibilidad pulpar (frío y calor). Los tejidos blandos no presentaron alteraciones.

Diagnóstico clínico: Necrosis pulpar, Periodontitis apical sintomática.

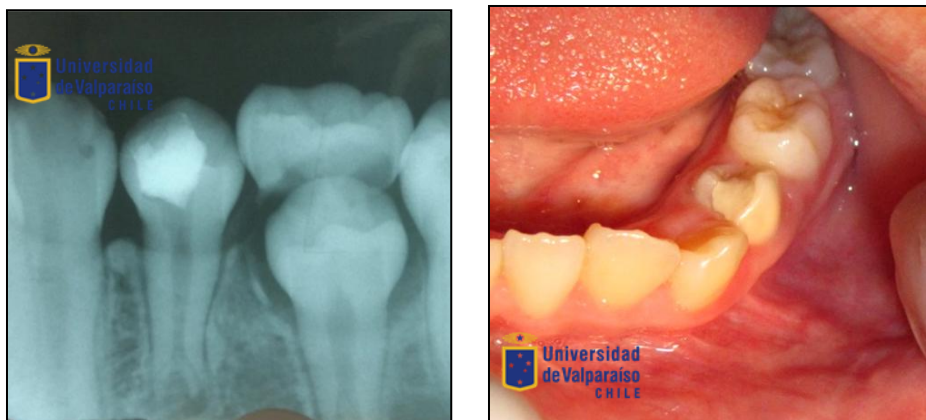


Fig 5: A la izquierda la radiografía de estudio del diente 28 (7 Julio 2014). Trepanado y con una restauración temporal radiopaca. Presenta ápice con desarrollo incompleto, lesión radiolúcida y ensanchamiento del ligamento periodontal. A la derecha fotografía clínica posterior a la sesión de medicación (21 de Julio 2014) sin alteración de los tejidos blandos, la paciente no relató molestias al test de percusión.

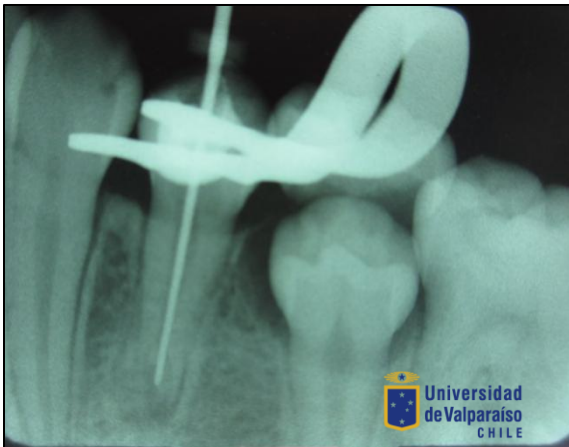


Fig 6: Radiografía de confirmación del control de longitud previa determinación a través de localizador apical. Se aprecia como la lima alcanza una longitud inferior a la altura de las paredes radiculares en formación. (Primera sesión 7 de julio 2014).



Fig 7 y 8: Fotografía al momento del alta relativa (4 de agosto 2015) con la restauración de resina terminada y los tejidos blandos indemnes. A la derecha la radiografía de control a los 6 meses (marzo 2015) donde se aprecia una involución de los signos de lesión. El próximo control se efectuará en agosto del 2015. En la actualidad la paciente no ha presentado sintomatología.

TERCER CASO CLÍNICO.

Paciente sexo masculino de 11 años de edad.

Fecha inicio del tratamiento: 22 de Julio 2014.

Fecha término de tratamiento: 18 de Agosto 2014.

Motivo de consulta: Paciente a los 8 años sufrió un traumatismo dentoalveolar que afectó los dientes 8 y 9 el cual no recibió tratamiento ya que no presentó sintomatología evidente. Posteriormente, en marzo del 2014, sufrió un segundo traumatismo dentoalveolar de mayor impacto, que afectó las mismas piezas dentarias. En el servicio de atención primaria se le realizó una férula rígida por un mes, pero al momento del control se evidenciaron signos radiográficos de lesión periapical y cambio de coloración en el diente 8, por lo cual se le realizó la trepanación y se derivó a la clínica de postgrado de la facultad.

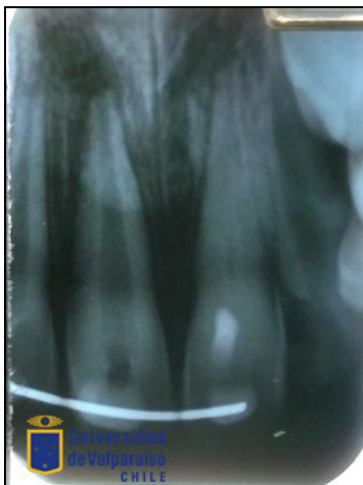


Fig 9: Radiografía de control post-traumatismo dentoalveolar, tomada en abril del 2014. Se observa la férula rígida aún en boca. Diente 8, trepanado, presenta formación radicular incompleta, lesión periapical osteolítica y ensanchamiento del ligamento periodontal. Diente 9 presenta el conducto radicular atrésico y lesión periapical.

Examen clínico: Al momento de la recepción en la clínica postgrado el diente 8 se encontraba trepanado con una restauración temporal en base a óxido de zinc y eugenol, y cambio de coloración (gris). Diente 9 presenta la corona indemne. Ambos centrales presentan signos clínicos de lesión periapical, sin respuesta a los test térmicos de sensibilidad pulpar



Fig 10: Fotografía clínica al inicio del tratamiento (22 de Julio del 2014). Diente 8 presentaba coloración grisácea. Encontramos leve aumento de volumen de la encía adherida. Sin sintomatología dolorosa ni a los test térmicos.

Diagnóstico:

Diente 8: Necrosis pulpar - periodontitis apical asintomática

Diente 9: necrosis pulpar - periodontitis apical asintomática.



Fig 11: Radiografía de control al término del tratamiento de regeneración endodóntica en el diente 8 (18 de agosto 2014), se observa la permanencia de la lesión osteolítica, ápice radicular abierto, el ligamento periodontal ensanchado. Coronalmente vemos restauración intermedia en base a CIV sobre el sustituto dentinario (Biodentine). En el diente 9 se decidió realizar tratamiento endodóntico convencional.



Fig 12: A la izquierda radiografía de control a los 6 meses (marzo 2015), se observa cierre apical e involución de los signos radiográficos de lesión osteolítica. A la derecha fotografía clínica tomada en el mismo control, el diente 8 mantuvo la coloración grisácea, pero los tejidos circundantes no muestran signos de infección o inflamación. Próximo control se realizará en septiembre del 2015 en espera de que se produzca un ensanchamiento radicular y así evaluar la posibilidad de un blanqueamiento interno post – endodoncia tradicional.

CUARTO CASO CLÍNICO.

Paciente sexo masculino de 8 años de edad.

Fecha de inicio de tratamiento: 12 de Agosto del 2013

Fecha de término tratamiento: 9 de Septiembre 2013.

Motivo de consulta: Paciente sufrió traumatismo dentoalveolar en dientes anterosuperiores 6 meses atrás (marzo 2013). Las radiografías iniciales no mostraron signos de lesión, pero posteriormente en relación al diente 9 se evidenció clínicamente un absceso submucoso, por lo cual se le realizó la trepanación de urgencia en el servicio de atención primaria y se refirió a la clínica de postgrado de la universidad.



Fig 13: radiografía de estudio tomada en Julio del 2013. Se aprecia el diente 9 en evolución extra ósea, tercio radicular en formación, área radiolúcida periapical y ensanchamiento del ligamento periodontal.

Examen clínico: Diente 9 muestra restauración temporal post-trepanación y pérdida de esmalte. Dolor moderado a la palpación y aumento de volumen en relación al diente en cuestión. Sin respuesta a los test térmicos de sensibilidad pulpar, además se aprecia drenaje de material purulento vía crévice.



Fig 14 fotografía clínica al momento del examen (agosto 2013)

Diagnóstico: Diente 9 con terapia endodóntica previamente iniciada – Periodontitis apical crónica.

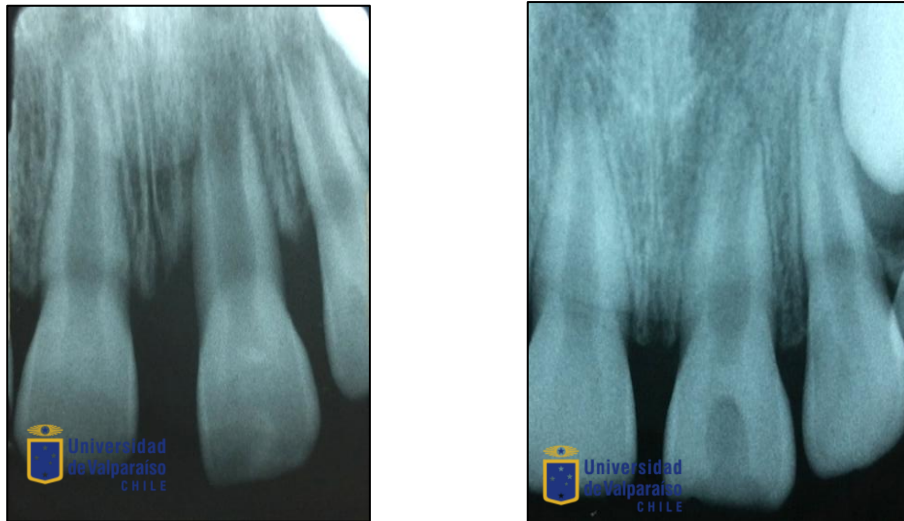


Fig 15: Radiografías de control posterior a la terapia regenerativa. A la izquierda control inmediato (23 de septiembre 2013) donde se ve la lesión radiolúcida y el tercio apical abierto en forma divergente. A la derecha radiografía de control al año de tratamiento (Septiembre 2014) donde vemos la neoformación de un tejido mineralizado en la región apical y la resolución de la lesión osteolítica.



Fig 16: Fotografía clínica de control al año, sin signos clínicos de lesión en los tejidos blandos ni cambios de coloración dentaria. En este control el paciente relató respuesta positiva al test de térmico. Próximo control se realizará en septiembre de este año.

ANEXO 1. CUADRO RESUMEN DE LOS PACIENTES TRATADOS CON ENDODONCIA REGENERATIVA.

Paciente/Sexo	Edad de ingreso	Diente	Causa	Fecha inicio de tto.	Sesión de revascularización	Fecha de alta relativa	Control 3 meses	Control 6 meses	Control 1 año
Matias Muñoz Masculino.	8 años	D 9	TDA	12/08/13	26/08/13	09/09/13	Sin alteraciones en mucosa. Sin cambios radiográficos.	Sin alteraciones en mucosa. Involución en lesión radiolúcida	Formación de tejido dentario en apical (extensión en longitud).
Ma Paz Gonzales. Femenino	11	D 28	Caries	7/07/14	21/07/14	4/08/14	Sin alteraciones en mucosa. Sin cambios radiográficos.	Sin alteraciones en mucosa. Aparente desaparición de lesión apical ósea.	
Sebastian Rubio. Masculino	11 años	D 8.	TDA	22/07/14	4/08/14	18/08/14	Sin alteraciones en mucosa. Resolución de la lesión ósea apical.	Cierre radiográfico del foramen apical	
Rene Muñoz. Masculino.	9 años	D 8	TDA	3/12/14	17/12/14	4/01/15	Sin alteraciones en mucosa. Sin variaciones radiográficas	Aparente involución de la lesión ósea apical.	
		D 9	TDA	3/12/14	12/12/14	4/01/15	Sin alteraciones en mucosa. Leve involución en lesión ósea apical	Formación de tejido dentario apical sin alcanzar el cierre del foramen	

ANEXO 2

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA REVASCULARIZACIÓN DE DIENTES INMADUROS

(La explicación del tratamiento, su objetivo, ventajas, complicaciones y alternativas de tratamiento ya han sido informados en forma verbal. Se requiere de su aceptación mediante la lectura y posterior firma de este documento. Le agradecemos su colaboración y cualquier duda, consúltenos)

Yo _____, R.U.T: _____

Domiciliado en _____

Declaro que:

He accedido a participar en el proyecto de investigación de “revascularización de dientes inmaduros necrosados mediante el uso de plasma rico en plaquetas”, con el fin de mejorar la sobrevivencia del (los) diente(s) afectado(s). Se me ha informado sobre los procedimientos clínicos necesarios, ventajas, alternativas de tratamiento y complicaciones. Los procedimientos y seguimientos serán realizados por la Dra. Daniela Vergara Olmos en las dependencias de la Facultad de Odontología de la Universidad de Valparaíso, Valparaíso.

El diente en tratamiento presenta el siguiente diagnóstico:

Se me ha explicado que la revascularización corresponde a la búsqueda del cierre apical y engrosamiento de las paredes del diente afectado con el fin de evitar daños a futuro.

Se realiza con anestesia local en 2 o 3 sesiones de tratamiento. En la segunda sesión, un profesional capacitado de la Facultad tomará una muestra de sangre de 10ml para la obtención del FRP. Una vez finalizado el tratamiento se realizarán sesiones de control clínico, radiográfico y fotográfico con el fin de controlar la evolución del proceso. (al mes, 3 meses, 6 meses, 12 meses, 18 meses). En cada sesión se obtendrán fotografías y radiografías del caso.

Se me han explicado las alternativas de tratamiento que corresponden a la Apexogénesis/Apexificación o sellado apical y posterior obturación radicular.

Dentro de las posibles complicaciones se encuentran:

1. Aparición o aumento de los síntomas del proceso infeccioso: aumento de dolor, hinchazón de la cara, otros, que se alivian con analgésicos y antiinflamatorios y/o antibióticos.
2. Cambio de coloración dentaria con posibilidades de corrección.
3. Fracaso del tratamiento y necesidad de repetición del procedimiento inicial u optar por alguno de los tratamientos alternativos.

He comprendido claramente las explicaciones que se me han entregado, y el profesional que me ha atendido me ha permitido realizar todas las consultas necesarias para aclarar las dudas planteadas. Comprendo riesgos y beneficios del tratamiento y, en tales condiciones, autorizo que se realicen los tratamientos respectivos, asumiendo las posibles complicaciones.

En caso de urgencia:

Ante cualquiera de las complicaciones mencionadas anteriormente o para realizar consultas que no hayan sido respondidas en la cita, no dude en contactarse con nosotros. El número de contacto es el : _____.

Cuidados e instrucciones postoperatorios:

1. Debo ser cuidadoso hasta que haya pasado el efecto de la anestesia para evitar daños en los labios, lengua, mejilla o dientes.
2. Evitar aplicar fuerza excesiva o anormales sobre los dientes (morder lápices, uñas, hielo, comer alimentos pegajosos, otros.)
3. En caso de requerir algún medicamento, debo seguir exactamente las instrucciones de la prescripción entregada.
4. Me comprometo y comprendo la necesidad de asistir a todos los controles que sean necesarios para obtener un tratamiento lo más exitoso posible.
5. Entiendo que puedo pedir que se me expliquen nuevamente los procedimientos a seguir para tener mayor claridad.

Firma Profesional

Firma Paciente o Apoderado

Fecha de inicio de tratamiento: _____

CONCLUSIONES

Los Procedimientos Regenerativos del complejo dentino pulpar (REP) en dientes permanentes inmaduros dependerán básicamente del diagnóstico inicial. Entre las terapias encontramos: apexogénesis, apexificación y revascularización.

El término Revascularización Dentaria ha sido utilizado justificando la posibilidad de una neoformación de vasos sanguíneos a nivel periapical y dentro del sistema de conductos radiculares, favoreciendo la respuesta de células pulpares vitales remanentes en la porción apical del conducto radicular, capaces de migrar al interior de éste, restableciendo un tejido pulpar funcional y llevando a la progresión de la formación radicular.

Para que los procedimientos de endodoncia regenerativas logren ser ampliamente disponibles y predecibles, los endodoncistas tendrán que depender de las terapias de ingeniería tisular para poder lograr regenerar el complejo pulpo dentinario (Murray PE. 2007).

Las terapias propuestas con células madre, factores de crecimiento e ingeniería tisular, todos requieren revascularización pulpar, lo que ya es un desafío enorme. Uno de los aspectos más difíciles de desarrollar en una terapia de endodoncia regenerativa es entender cómo los distintos procedimientos y componentes pueden ser optimizados e integrados para producir el resultado de un complejo pulpo-dentinario regenerado (Murray PE. 2007).

Los REP se basan en 3 principios básicos de la ingeniería de tejidos:

- 1. Fuentes apropiadas de células madre / progenitoras.**
- 2. Los factores de crecimiento** que son capaces de promover la diferenciación de células madre.
- 3. Sistemas de andamiaje** apropiado para la regulación de la diferenciación celular (Hargreaves KM, Giesler T. 2008; Hargreaves KM, Diogenes A. 2013).

A partir de la casuística analizada se puede determinar que el éxito o fracaso de esta terapia se alcanza a través de una minuciosa desinfección, aplicación de una matriz de andamiaje adecuada y posterior sellado de la zona coronaria. Esto pudo comprobarse en todos los casos desarrollados en esta investigación.

Como paso fundamental en nuestro protocolo, en pos de lograr una adecuada desinfección es importante realizar una efectiva PBM, ya que la remanencia de tejidos necróticos en la región del conducto radicular podría provocar una gangrena por descomposición de las proteínas, sumado a esto, la presencia de un organizado biofilm bacteriano podría permanecer inalterado, siendo mucho más resistente a los agentes químicos encargados de eliminarlos, y por ende, dificultando más aún la posibilidad de lograr una real regeneración, al perpetuar una inflamación crónica en la zona. (Ashraf F. 2014).

Está bien documentado en la literatura que una gran cantidad de citoquinas, factores de crecimiento y factores neurotróficos están presentes en la matriz de dentina. Secretada por los odontoblastos durante el desarrollo de los dientes, estos factores se incrustan en el colágeno presente en las paredes de dentina, al mineralizarse esta, por lo que resulta fundamental realizar maniobras adecuadas para liberar tan preciados elementos en la estimulación de la regeneración endodóntica.

Las propiedades del sistema de andamiaje son fundamentales, ya que el Plasma Rico en Plaqueta (PRP) y la Fibrina Rica en Plaquetas (FRP) se basan en la producción y liberación de factores de crecimiento diferenciados y de la activación de las plaquetas. Estos factores son fundamentales en la regulación del proceso de cicatrización de heridas y juegan un importante rol en la regulación de procesos celulares, tales como la mitogénesis, la quimiotaxis, la diferenciación y el metabolismo (Torabinejad y Turman. 2011). FRP se conoce como una segunda generación de plaquetas, la cual se define como un biomaterial autógeno compuesto por leucocitos, plaquetas y fibrina (Dohan, et al, 2009). Esta segunda generación de plaquetas elimina los riesgos del uso de trombina bovina, además de no necesitar manejo bioquímico de la sangre.

La investigación en REP también destaca la determinación de concentraciones efectivas clínica y biológicamente, en relación al NaOCl, distintas concentraciones, ya sea al 6%, 3% y 1,5% fueron usadas, recibiendo o no una segunda irrigación con EDTA al 17% y a todas se les realizó un enjuague final con abundante suero fisiológico con el fin de eliminar cualquier residuo de agentes químicos. Nos queda claro que la sobrevida y la capacidad de diferenciación fueron directamente dependiente de la concentración de NaOCl en el conducto radicular, sin embargo, a una concentración del 1,5% los efectos eran mínimos. Por otro lado el uso de EDTA como paso final en la irrigación produce una disminución de los efectos generados por el NaOCl (Martin DE. 2014). Este efecto citotóxico del NaOCl al 6% y el efecto positivo generado por EDTA al 17% es coincidente con diversos estudios de otros autores. (Trevino EG. y Demarco FF), es por ello que en nuestro protocolo se consideró que una concentración al 2.5% podría ser lo suficientemente eficiente, sin arriesgar la indemnidad del remanente dentinario.

En cuanto a la medicación intraconducto utilizado en REP, el medicamento más popular usado dentro de los últimos años corresponde a una pasta compuesta por una combinación de 3 antibióticos (ciprofloxacino, metronidazol, y minociclina). El ciprofloxacino ha sido mejorado por la creación del levofloxacino y el moxifloxacino, ambos presentan una mayor actividad frente a microorganismos gram (+), pero frente a las bacterias anaerobias moxifloxacino presenta su mayor potencial de acción, sumado a su alta sustentividad, permite mantener su efecto durante varios días, logrando ser mucho más activos que ciprofloxacino frente a microorganismos propios de las infecciones endodónticas, por lo que junto con el metronidazol muestran una potente acción científicamente comprobada para ser usada como medicación intraconducto en nuestro protocolo de REP.

Otro eslabón de la REP corresponde al material de sellado, ya que otorga protección al andamiaje y a la obturación definitiva, entre otras características, es por esto que nuestro protocolo sugiere usar un material como el Biodentine, el cual potencia sus características, tanto en resistencia mecánica, tiempo de fraguado,

presentación comercial y facilidad de aplicación, en relación con el gold estándar que corresponde al MTA.

La literatura clínica indica que los tratamientos regenerativos de endodoncia utilizando diversos métodos y materiales dan como resultado un aumento significativo en la longitud radicular y del espesor de la pared dentinaria. Este enfoque clínico es técnicamente sencillo y se puede completar mediante el uso de instrumentos y medicamentos disponibles en la actualidad. Sin embargo, para que los procedimientos de endodoncia regenerativa vayan a ser ampliamente disponibles y predecibles, parece esencial centrarse en terapias de ingeniería tisular para regenerar tejido pulpo-dentinario. La terapia propuesta puede proporcionar la construcción de una pulpa a través de ingeniería tisular para implantarla en el conducto radicular. Sin embargo, este enfoque está todavía en pañales y se necesita más investigación traslacional para seguir mejorando este método (H. Aksel. 2014).

Para determinar si esta modalidad de tratamiento podría ser considerada un éxito, es importante tener claro cuál es el objetivo buscado. Si se trata de inducir la curación del tejido periapical, estimular la regeneración ósea, y al paciente libre de cualquier signo o síntoma, entonces sería llamado un éxito. Sin embargo, si el objetivo es regenerar un tejido de la pulpa ad integrum, este tratamiento se considera un fracaso. En resumen, sería un éxito clínico pero un fallo biológico (Sthephane R.J. 2014)

Un protocolo de seguimiento adecuado y permanente en el tiempo hasta por 5 años, nos va a permitir evaluar, describir y evidenciar si nuestra terapia está dando los resultados esperados dentro de sus procesos regenerativos y reparativos.

Según la evolución de los pacientes que se sometieron a esta investigación luego del proceso de la terapia de revascularización, se lograron pesquisar los siguientes signos y síntomas de un éxito de la terapia propuesta:

- ***Disminución del tamaño de lesión apical radiográfica.***
- ***Formación de tejido mineralizado en apical, parcial y total***

- ***Se constató en un caso una respuesta (+) al test de sensibilidad pulpar.***

Con estos alentadores resultados como universidad se crea un aliciente deseo de desarrollar y poner en marcha futuros procedimientos de endodoncia regenerativa como un amplio programa de investigación dirigido a cada uno de estos componentes evaluados y su aplicación a nuestros pacientes. Los autores creen que la endodoncia regenerativa es una terapia inevitable, y que llaman a la acción de los científicos, los organismos de financiación, y a la profesión de endodoncia para reunir recursos para acelerar su desarrollo. El potencial desatado de endodoncia regenerativa puede beneficiar a millones de pacientes cada año (Murray PE. 2007).

BIBLIOGRAFÍA.

- Langer, J.P. Vacanti; **Tissue engineering**; *Science*, 260 (1993), pp. 920–926
- M.N. Rahaman, J.J. Mao; *Stem cell-based composite tissue constructs for regenerative medicine*; *BiotechnolBioeng*, 91 (2005), pp. 261–284
- O. Tecles, P. Laurent, S. Zygouritsas, A.S. Burger, J. Camps, J. Dejou, I. About **Activation of human dental pulp progenitor/stem cells in response to odontoblast injury**; *Arch Oral Biol*, 50 (2005), pp. 103–108
- M. Nakashima; **Tissue engineering in endodontics**; *AustEndod J*, 31 (2005), pp. 111–113
- Peter E. Murray, Franklin Garcia-Godoy, and Kenneth M. Hargreaves, *Regenerative Endodontics: A Review of Current Status and a Call for Action. JOE—Volume 33, Number 4, April 2007.*
- S. Friedman, C. Mor. **The success of endodontic therapy: healing and functionality.** *J Calif Dent Assoc*, 32 (2004), pp. 493–50.
- Hacer Aksel*, Ahmet Serper. **Recent considerations in regenerative endodontic treatment approaches.** *Journal of Dental Sciences* (2014) 9, 207e213.
- Nygaard-Ostby B, Hjortdal O. *Tissue formation in the root canal following pulp removal.* *Scand J Dent Res* 1971;79:333–49.
- Chueh LH, Huang GT. *Immature teeth with periradicular periodontitis or abscess undergoing apexogenesis: a paradigm shift.* *J Endod* 2006;32:1205–13.
- Hargreaves KM, Diogenes A, Teixeira FB. *Paradigm lost: a perspective on the design and interpretation of regenerative endodontic research.* *J Endod* 2014;40:S65–9.
- Banchs F, Trope M. *Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: new treatment protocol?* *J Endod* 2004;30:196–200.
- Jeeruphan T, Jantararat J, Yanpiset K, et al. *Mahidol study 1: comparison of radiographic and survival outcomes of immature teeth treated with either regenerative endodontic or apexification methods: a retrospective study.* *J Endod* 2012;38:1330–6.
- Hargreaves KM, Giesler T, Henry M, Wang Y. *Regeneration potential of the young permanent tooth: what does the future hold?* *J Endod* 2008;34:S51–6.
- Hargreaves KM, Diogenes A, Teixeira FB. *Treatment options: biological basis of regenerative endodontic procedures.* *J Endod* 2013;39:S30–43.
- Ding RY, Cheung GS, Chen J, et al. *Pulp revascularization of immature teeth with apical periodontitis: a clinical study.* *J Endod* 2009;35:745–9.
- Law AS. *Considerations for regeneration procedures.* *J Endod* 2013;39:S44–56.
- Kontakiotis EG, Filippatos CG, Agrafioti A. *Levels of evidence for the outcome of regenerative endodontic therapy.* *J Endod* 2014;40:1045–53.
- Evangelos G. Kontakiotis, Christos G. Filippatos, Giorgos N. Tzanetakis, and Anastasia Agrafioti. *Regenerative Endodontic Therapy: A Data Analysis of Clinical Protocols.* *J Endod* 2015;41:146–154.
- Ding RY, Cheung GS, Chen J, et al. *Pulp revascularization of immature teeth with apical periodontitis: a clinical study.* *J Endod* 2009;35:745–9.
- Law AS. *Considerations for regeneration procedures.* *J Endod* 2013;39:S44–56.

- American Association of Endodontics, *Clinical considerations for regenerative procedures*. Available at: www.aae.org/regenerativeendo/. Accessed Marz, 2015.
- Wigler R, Kaufman AY, Lin S, et al. Revascularization: a treatment for permanent teeth with necrotic pulp and incomplete root development. *J Endod* 2013;39: 319–26.
- Orstavik D, Haapasalo M. Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. *Endod Dent Traumatol* 1990;6:142–9.
- Svensater G, Bergenholtz G. Biofilms in endodontic infections. *Endod Topics* 2004;9:27–36.
- Paryani K, Kim SG. Regenerative endodontic treatment of permanent teeth after completion of root development: a report of 2 cases. *J Endod* 2013;39:929–34.
- Martin G, Ricucci D, Gibbs JL, Lin LM. Histological findings of revascularized/revitalized immature permanent molar with apical periodontitis using platelet-rich plasma. *J Endod* 2013;39:138–44.
- Lin LM, Shimizu E, Gibbs JL, et al. Histologic and histobacteriologic observations of failed revascularization/revitalization therapy: a case report. *J Endod* 2014;40:291–5.
- Chang YC, Huang FM, Tai KW, Chou MY. The effect of sodium hypochlorite and chlorhexidine on cultured human periodontal ligament cells. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2001;92:446–50.
- Martin DE, De Almeida JF, Henry MA, et al. Concentration-dependent effect of sodium hypochlorite on stem cells of apical papilla survival and differentiation. *J Endod* 2014;40:51–5.
- Kuruvilla JR, Kamath MP. Antimicrobial activity of 2.5% sodium hypochlorite and 0.2% chlorhexidine gluconate separately and combined, as endodontic irrigants. *J Endod* 1998;24:472–6.
- Weber CD, McClanahan SB, Miller GA, et al. The effect of passive ultrasonic activation of 2% chlorhexidine or 5.25% sodium hypochlorite irrigant on residual antimicrobial activity in root canals. *J Endod* 2003;29:562–4.
- Trevino EG, Patwardhan AN, Henry MA, et al. Effect of irrigants on the survival of human stem cells of the apical papilla in a platelet-rich plasma scaffold in humans root tips. *J Endod* 2011;37:1109–15.
- Galler KM, D'Souza RN, Federlin M, et al. Dentin conditioning codetermines cell fate in regenerative endodontics. *J Endod* 2011;37:1536–41.
- Sato I, Ando-Kurihara N, Kota K, et al. Sterilization of infected root-canal dentine by topical application of a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline in situ. *Int Endod J* 1996;29:118–24.
- Banchs F, Trope M. Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: new treatment protocol? *J Endod* 2004;30:196–200.
- Iwaya SI, Ikawa M, Kubota M. Revascularization of an immature permanent tooth with apical periodontitis and sinus tract. *Dent Traumatol* 2001;17:185–7.
- Hoshino E, Kurihara-Ando N, Sato I, et al. In-vitro antibacterial susceptibility of bacteria taken from infected root dentine to a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline. *Int Endod J* 1996;29:125–30.

- Ruparel NB, Teixeira FB, Ferraz CC, Diogenes A. Direct effect of intracanal medicaments on survival of stem cells of the apical papilla. *J Endod* 2012;38:1372–5.
- Althumairy RI, Teixeira FB, Diogenes A. Effect of dentin conditioning with intracanal medicaments on survival of stem cells of apical papilla. *J Endod* 2014;40: 521–5.
- Nosrat A, Homayounfar N, Oloomi K. Drawbacks and unfavorable outcomes of regenerative endodontic treatments of necrotic immature teeth: a literature review and report of a case. *J Endod* 2012;38:1428–34.
- Lenzi R, Trope M. Revitalization procedures in two traumatized incisors with different biological outcomes. *J Endod* 2012;38:411–4.
- Lovelace TW, Henry MA, Hargreaves KM, Diogenes A. Evaluation of the delivery of mesenchymal stem cells into the root canal space of necrotic immature teeth after clinical regenerative endodontic procedure. *J Endod* 2011;37:133–8.
- Thibodeau B, Teixeira F, Yamauchi M, et al. Pulp revascularization of immature dog teeth with apical periodontitis. *J Endod* 2007;33:680–9.
- Hargreaves KM, Giesler T, Henry M, Wang Y. Regeneration potential of the young permanent tooth: what does the future hold? *J Endod* 2008;34:S51–6.
- Ding RY, Cheung GS, Chen J, et al. Pulp revascularization of immature teeth with apical periodontitis: a clinical study. *J Endod* 2009;35:745–9.
- Huang FM, Yang SF, Zhao JH, Chang YC. Platelet-rich fibrin increases proliferation and differentiation of human dental pulp cells. *J Endod* 2010;36:1628–32.
- Torabinejad M, Parirokh M. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review—part II: leakage and biocompatibility investigations. *J Endod* 2010;36: 190–202.
- Ma J, Shen Y, Stojicic S, Haapasalo M. Biocompatibility of two novel root repair materials. *J Endod* 2011;37:793–8.
- De-Deus G, Canabarro A, Alves G, et al. Optimal cytocompatibility of a bioceramic nanoparticulate cement in primary human mesenchymal cells. *J Endod* 2009;35: 1387–90.
- Petrino JA, Boda KK, Shambarger S, et al. Challenges in regenerative endodontics: a case series. *J Endod* 2010;36:536–41.
- Jung IY, Lee SJ, Hargreaves KM. Biologically based treatment of immature permanent teeth with pulpal necrosis: a case series. *J Endod* 2008;34:876–87.
- Safwan Ashour a, \hat{A} , Roula Bayram. Development and validation of sensitive kinetic spectrophotometric method for the determination of moxifloxacin antibiotic in pure and commercial tablets. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 140 (2015) 216–222.
- Stjephan R.J. Simon, Phillip L. Tomson, and Ariane Berdal. Regenerative Endodontics: Regeneration or Repair?. *J Endod* 2014;40:S70–S75.
- Ashraf F. Fouad and Prashant Verma. Healing after Regenerative Procedures with and without Pulpal Infection. *J Endod* 2014;40:S58–S64.
- Carmona García PM, Romá Sánchez E y Cols. Moxifloxacin y su lugar en la terapéutica de infecciones respiratorias. *Atención Farmacéutica* 2001;3(3):183-193.
- David E. Martín; José Flavio A. de Almeida; Michael A. Henry; Zinz Z. Kitaing; Chistine E. Schmid; Fabricio B. Teixeira, Anibal Diogenes. Concentration-dependent Effect of Sodium

Hypochlorite on Sem Cells of Apical Papilla Survival and Differentiation. J Endod 40:51-55 2014.

- *Donal J. Kleier; Robert E. Averbach; Omid Mehdipour. The Sodium Hypochlorite Accident: Experience of Diplomate of the American Board of Endodontics. J Endod 34(11):1346-1350 2008*
- *Bonnie Rotamozo, Shah Rokn Shabahang; Neal Johnson; Ravdolfo M. Aprecio; Mahmoud Torabinejad. Minimum Contact Time and Concentration of Sodium Hypochlorite Required to Eliminate Enterococcus Faecalis. J Endod 36(3):520-523 2010.*
- *Geisler TM. Clinical considerations for regenerative endodontic procedures. Dent Clin North Am 2012;56:603-26.*