



ACTUALIZACIÓN EN EL CONCEPTO DE LA MEDICACIÓN
INTRA CONDUCTO
EN ENDODONCIA REGENERATIVA
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

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

Alumnos: Kathia Flores A.
Felipe Salinas A.
Docente Guía: Prof. Dra. Alicia Caro M.

Valparaíso - Chile
2018



ACTUALIZACIÓN EN EL CONCEPTO DE LA MEDICACIÓN
INTRA CONDUCTO
EN ENDODONCIA REGENERATIVA
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

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

Alumnos: Kathia Flores A.
Felipe Salinas A.
Docente Guía: Prof. Dra. Alicia Caro M.

Valparaíso - Chile
2018

Agradecimientos

Queremos agradecer a nuestras familias por todo el apoyo durante nuestra formación como odontólogas y como especialistas, además a nuestros profesores de la Universidad de Valparaíso por su esfuerzo y dedicación.

ÍNDICE

SECCIÓN	PÁGINA
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	3
1.- Objetivo General	
2.- Objetivos Específicos	4
METODO DE BUSQUEDA	5
MARCO CONCEPTUAL	
1.- Generalidades	5
2. Terapia Pulpar Guiada	5
3. Ingeniería Tisular	6
3.1.- Células Madre	7
3.2.- Matriz de Andamiaje	8
3.3.- Factores de Crecimiento	12
4. Protocolo clínico propuesto por la Universidad de Valparaíso en Terapia de Regeneración Pulpar Guiada	14
5. Importancia de la medicación intraconducto entre sesiones en la Terapia de Revascularización	24
5.1.- Medicación en Terapia de Revascularización	24
5.2.- Efecto antibacteriano	25
5.3.- Adhesión	26
5.4.- Citotoxicidad	27
6.- Medicaciones usadas según la literatura	29
6.1.- Pasta Antibiótica triple	29
6.2.- Hidróxido de calcio	29
6.3.- Moxifloxacino	30
7.- Estudios recientes	32
RESULTADOS	34
DISCUSIÓN	38
CONCLUSIONES	41
SUGERENCIAS	42
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43

INTRODUCCIÓN

En niños es común encontrar dientes permanentes inmaduros no vitales, debido a traumatismos, variaciones anatómicas como dens-invaginatus y caries no tratadas. La preparación y obturación endodóntica adecuada en estos dientes con paredes dentinarias frágiles y delgadas se hace compleja, constituyéndose en una de las situaciones más difíciles en la especialidad (1).

Como la pulpa aporta la nutrición al diente y detecta potenciales patógenos, su vitalidad es extremadamente importante para la permanencia de los dientes en boca. Se hace necesario, por tanto, desarrollar una estrategia de tratamiento eficaz para recuperar la vitalidad pulpar al atender sus patologías. Contrariamente a este concepto, el tratamiento endodóntico convencional despoja a los dientes de su vitalidad e intensifica su fragilidad, haciéndolos quebradizos y susceptibles a fracturas postoperatorias(2).

La aparición de la ingeniería moderna de tejidos y la medicina regenerativa han abierto posibilidades para la endodoncia regenerativa (3). Su objetivo es reemplazar los tejidos pulpares inflamados/necróticos, por tejidos regenerados similares a la pulpa para revitalizar los dientes y mejorar la calidad de vida del paciente. Sus procedimientos se describen como métodos basados en la biología, diseñados para reparar o reemplazar estructuras dañadas, incluyendo la estructura de la dentina y raíz, así como células del complejo pulpa-dentina (4-5).

El primer enfoque de regeneración de la pulpa dental se remonta a la década de 1960, cuando Nygaard-Ostby evaluó el rol del coágulo sanguíneo en la terapia endodóntica. Sus estudios clínicos se basaron en provocar sangramiento en el tercio apical del conducto radicular, seguido por el relleno de los dos tercios coronales con gutapercha y pasta de cloropercha(6) .

Mucho más tarde, en 2001, se publica el primer caso clínico de terapia endodóntica regenerativa, que describe un procedimiento alternativo a la apexificación de un premolar mandibular humano con formación incompleta de raíces y periodontitis apical crónica (1). Usaron agentes antimicrobianos en el interior del canal. Obteniendo a los 5 meses el inicio del cierre apical y a los 30 meses el engrosamiento de las paredes del conducto, sumado al cierre apical completo, lo que indica el potencial de revascularización (8).

En 2004, Francisco Banchs y Martin Trope describieron una técnica de revascularización en un segundo premolar permanente mandibular inmaduro con el uso de una triple pasta antibiótica, la irritación apical intencional y el uso de un sello coronal (1). En este caso, se reportó como exitoso para tener un ambiente necesario para una revascularización la combinación de un canal desinfectado, una matriz en la que podría crecer tejido nuevo y un sello coronal efectivo(31).

Desde entonces, se han publicado más de 80 estudios clínicos, series de casos e informes de casos que abarcan más de 300 dientes tratados. La mayoría de ellos publicados en los últimos años (1).

En el proceso de regeneración pulpar se han descrito varios enfoques, entre ellos, la desinfección del sistema de conductos radiculares con diversos medicamentos intracanaliculares. Este estudio se enfoca en la revisión de literatura en torno a los distintos tipos de medicación intraconducto utilizados en endodoncia regenerativa.

OBJETIVOS

1.- Objetivo General

- Realizar un estado del arte respecto a la medicación intraconducto en las terapias de endodoncia regenerativa, a través de la revisión de la literatura, a nivel mundial, en los últimos 5 años.

2.- Objetivos Específicos

- Conocer los medicamentos intraconductos utilizados en revascularización.
- Determinar cual medicación presenta una mayor cantidad de estudios y evidencia científica en endodoncia.
- Determinar que medicación intraconducto utilizada en revascularización manifiesta mejores resultados antimicrobianos

METODO DE BUSQUEDA

El método de búsqueda utilizado fue:

Artículos en PUBMED y Scopus desde 2012 a Agosto del 2017 (5 años de investigación), mediante el uso de palabras claves asociadas a la terapia de revascularización y medicación intraconducto en endodoncia regenerativa.

Encontramos en el periodo descrito 38 artículos.

- . Se seleccionaron sólo los que estaban en idioma inglés o español.
- . Se incluyeron estudios en animales y en vitro.
- . Se incluyeron estudios de casos ,reportes de casos.
- . Se excluyeron los que no describían en detalle la medicación utilizada.
- . Se excluyeron los que no contaban con datos completos. Ejemplo número de casos
- . Se excluyeron revisiones bibliográficas.
- . Finalmente quedaron para el análisis 10 artículos.

Las palabras claves fueron: Revascularization, – endodontics, dental pulp regeneration, medication of endodontics regeneration, calcium hydroxide intracanal, tissue engineering.

MARCO CONCEPTUAL

1.- GENERALIDADES

Desde el inicio de la ingeniería tisular a principios de la década de 1990, numerosos avances motivados principalmente a la síntesis de materiales únicos que actúen como andamios para el crecimiento, la diferenciación y la unión celular. Así como la identificación de nuevas fuentes de células madre y moléculas bioactivas se han centrado en la regeneración de tejidos y órganos perdidos debido a traumas y / o enfermedades. Naturalmente, la ingeniería de tejidos sigue siendo fundamental para el desarrollo y el impacto traslacional de los andamios en la odontología regenerativa.

En un esfuerzo por combatir los efectos de la infección endodóntica, la urgencia constante de la ingeniería de tejidos moderna, particularmente la selección y el diseño precisos de andamios, y la mayor comprensión del papel que desempeñan las células madre dentales en los procesos regenerativos han allanado el camino para su uso clínico exitoso en endodoncia. Con base en estos hechos, los investigadores continúan trabajando en estrategias basadas en ingeniería de tejidos para obtener evidencia más convincente y predecible con respecto a la regeneración del complejo pulpa-dentina.

El objetivo final de la endodoncia regenerativa es crear un protocolo de tratamiento práctico, predecible y económico en el que el tejido pulpar dañado y el complejo dentino-pulpar puedan ser regenerados a su estado natural no dañado, o restaurados usando materiales biomédicamente manipulados. La regeneración de la pulpa dental en estos casos, garantizaría el aumento de las paredes dentinarias, tanto en longitud como en grosor, proporcionando así una mejor opción de tratamiento y ventajas significativas en el pronóstico rehabilitador.(10-11)

Hoy el tratamiento oficial para un diente joven en necrosis son las terapias de regeneración pulpar guiada (TPG).

2.- TERAPIA PULPAR GUIADA

La regeneración pulpar guiada (TPG) es un tratamiento regenerativo basado en el tratamiento de dientes inmaduros con pulpa necrótica causado por caries o trauma, con el fin de permitir el desarrollo radicular y el depósito de tejido duro en el conducto. Se basa en el concepto de que las células madre pueden sobrevivir a la necrosis pulpar, pudiendo ser capaces de diferenciarse en odontoblastos secundarios y contribuir a la conformación del tejido radicular(60).

Los procedimientos de regeneración en endodoncia se basan, biológicamente, en restaurar la función de la pulpa dañada por la estimulación de células madre o troncales existentes en el conducto radicular y/o la introducción y estimulación de nuevas células madre bajo condiciones favorables para su diferenciación, permitiendo reemplazar estructuras dañadas de la raíz y células del complejo dentino-pulpar. Dicho objetivo se busca a través de procedimientos de desbridamiento endodóntico y una combinación de medicamentos que reducen la infección para promover la reparación (61).

Ventajas

- a) La regeneración del tejido en el conducto radicular con células sanguíneas propias del paciente evita la posibilidad de rechazo inmunológico y la potencial transmisión de patógenos a partir de la sustitución de la pulpa con un constructo generado por ingeniería tisular.
- b) Los medicamentos requeridos para la desinfección del conducto radicular se pueden obtener fácilmente y se pueden introducir por medio de instrumentos endodónticos convencionales.
- c) Evidencia radiográfica del desarrollo radicular continuo y del fortalecimiento de la raíz como resultado del refuerzo de las paredes dentinarias.
- d) Crecimiento radicular tridimensional logrando el cierre del foramen apical .(61)

3.- INGENIERÍA TISULAR

Reponer los tejidos dentarios perdidos por lesiones o patologías es uno de los más grandes retos en la práctica odontológica. En este sentido, la "*Ingeniería Tisular*", ciencia desarrollada en las últimas décadas, propone nuevas terapias para regenerar o reemplazar tejidos u órganos a través de constructos tisulares tridimensionales que devuelvan forma y función a partir de las propias células del paciente, nuevos biomateriales y biomoléculas. (12)

Corresponde a un campo interdisciplinario, que integra principios de la biología y la ingeniería para desarrollar sustitutos biológicos (13), es decir, biomateriales que favorezcan la función biológica y mecánica de las células ya que actúan como una matriz extracelular artificial. Como resultado, se espera que proporcionen a las células un espacio tridimensional para formar tejidos nuevos con estructura y función apropiada. (14).

La mayor parte de las células de mamíferos son dependientes de anclaje, es decir, pueden morir si no cuentan con una base de adhesión celular. Los biomateriales desarrollados en este campo de investigación, proporcionan un sustrato de adhesión que ofrece a las células sitios específicos en el cuerpo con una eficiencia de carga. También pueden proporcionar propiedades mecánicas que sirven de apoyo contra fuerzas, como las diseñadas con una estructura tridimensional. Además, las señales bioactivas, como los péptidos de adhesión celular y factores de crecimiento, se puede integrar junto con las células para ayudar a regular la función de las mismas (15).

Componentes.

La Ingeniería Tisular se basa en tres componentes fundamentales:

- 1.- Células Madre.
- 2.- Matriz de andamiaje,
- 3.- Factores de crecimiento (moléculas de señalización).

3.1.- Células Madre:

Se definen como células indiferenciadas capaces de autorenovarse 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. (16).

Dependiendo de su capacidad para producir diferentes tipos de células, se clasifican en pluripotentes o multipotentes; las primeras son capaces de diferenciarse en células especializadas de cualquiera de las tres capas germinales y se encuentran en los embriones en desarrollo. Las multipotentes, en cambio, se encuentran en adultos y tienen una capacidad restringida para diferenciarse. La mayoría de las células madre en la región oral son de origen mesenquimal (hueso, pulpa dental, ligamento periodontal) y, por tanto, son tejidos con una gran población de células madre adultas, cuya capacidad multipotente constituye la base para los procedimientos de endodoncia regenerativa. (17)

En conjunto, las células indiferenciadas constituyen como máximo el 1% de la población de células encontradas en la pulpa, que pueden producir múltiples células diferenciadas como respuesta a la señalización específica extracelular, pero esta cantidad se reduce a medida que envejecemos, lo que evidencia que los pacientes más jóvenes presenten una mayor tasa de reparación y regeneración. (16).

Para la regeneración endodóntica, las células madre más prometedoras son las postnatales dentales autólogas, debido a que presentan menor posibilidad de rechazo, a la vez que muestran una mayor capacidad de desarrollo odontogénico si se compara con células no dentales. Todas tienen características similares a las células mesenquimáticas, con capacidad de autorenovarse y diferenciarse en diferentes linajes celulares (19-20). En la cavidad bucal se pueden obtener de varias fuentes: (18)

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

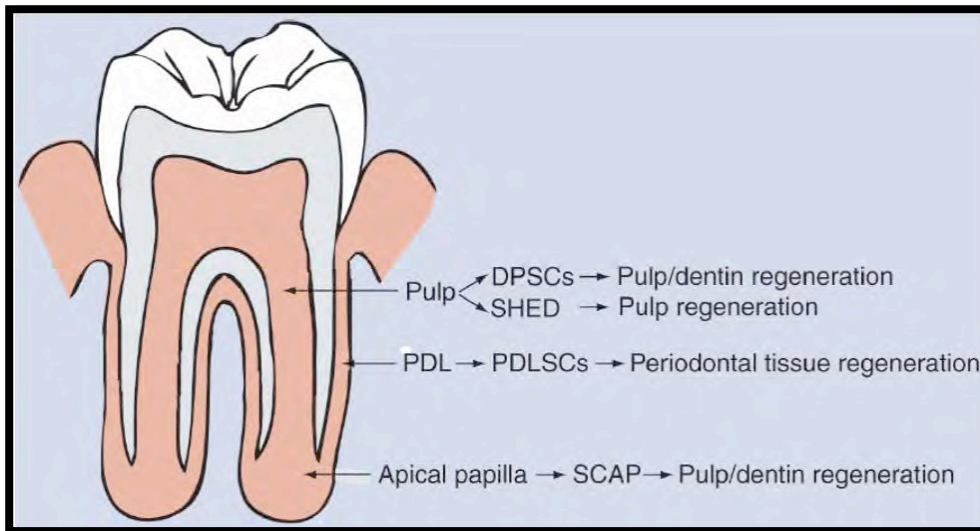


Fig.1.- Fuente de células madre dentales y uso para la regeneración del tejido dentario.

Las células madre de la pulpa dental (DPSC) son clonogénicas y proliferan rápidamente. Podrían diferenciarse en odontoblastos, lo que las hace muy significativas en la regeneración del complejo dentinopulpar. Como migran desde la cresta neural, se cree que también son candidatas para la regeneración nerviosa. (20-21)

Las células madre procedentes de la papila apical (SCAP) se encuentran en dientes incompletamente formados y serían las principales responsables del desarrollo de estos, por su alta viabilidad de supervivencia en tejidos necróticos pulpares, incluso cuando hay infección (19-21). Además, al igual que las de la pulpa, se ha demostrado que poseen una excelente capacidad de diferenciación en odontoblastos. (22).

Otros estudios refutan los hallazgos anteriores indicando que las principales fuentes de células madre serían los tejidos periapicales (PDLSC) ya que estas 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 (23).

3.2.- Matriz de Andamiaje:

Es el componente que brinda adherencia a las células y actúa como guía para el crecimiento, diferenciación y organización celular en un sitio específico. Un andamio denota una plataforma temporal para reparar o erigir un edificio. De manera similar, todos los organismos vivos multicelulares tienen andamios naturales que rodean las células y proporcionan soporte estructural para la formación y mantención de tejidos y órganos (24).

Para usarse en ingeniería de tejidos, es importante que una matriz de andamiaje no sea tóxica, pero sí biocompatible, biodegradable, no inmunogénica, de baja concentración y alta tasa de reabsorción, además de introducirse fácilmente en el canal radicular (26). También deben proporcionar nutrición a las células madre para su crecimiento y supervivencia. Deben contar con propiedades mecánicas como permeabilidad, estabilidad, elasticidad, viscoelasticidad, flexibilidad, resistencia al desgarre y plasticidad, para así generar diferentes formas o estructuras tridimensionales sólidas.(52)

Andamiajes Autólogos

Se definen como materiales extraídos del propio paciente, procesados de manera controlada y precisa, y reimplantados en la misma persona. Estos funcionan en base a los factores de crecimiento que se encuentran en las plaquetas y que estimulan procesos reparativos a nivel celular en el sitio operado (51).

1.- Plasma Rico en Plaqueta (PRP)

La matriz de andamiaje natural más popular es el plasma rico en plaquetas (PRP) que fue introducido en la práctica quirúrgica oral por Whitmann en 1997 y corresponde a la concentración de plaquetas de un volumen de plasma autólogo derivado de la sangre del propio paciente, extraída por punción venosa. Se lo centrifuga dos veces para separar los glóbulos rojos del plasma, obteniendo un concentrado de plaquetas que supera el valor basal. Su consistencia es parecida a un gel y puede introducirse fácilmente en el espacio pulpar. (6).

El PRP contiene no solo un alto nivel de plaquetas, sino también de los factores de crecimiento que son secretados activamente por las plaquetas. Además, el PRP también es rico en proteínas que actúan a nivel de la adhesión celular (fibrina, fibronectina, y vitronectina), por lo que proporciona el soporte estructural necesario para la migración celular, y para la proliferación y crecimiento tridimensional de los tejidos sobre los que actúa.

Una de las desventajas del uso del PRP es el protocolo de obtención, lo que dificulta su uso cotidiano ya que requiere de la manipulación bioquímica de la sangre como la centrifugación con anticoagulante y la posterior activación de la fibrina mediante la adición de trombina y/o clorhidrato de calcio. (52)

2.-El Plasma rico en Fibrina (PRF)

Desarrollado el año 2001 por Choukroun et al. , para su uso en cirugía maxilofacial. Es considerado como un biomaterial de cicatrización autólogo, corresponde a la segunda generación desarrollada para mejorar las propiedades del PRP.(51-53) Esta técnica no requiere anticoagulante ni trombina bovina (ni ningún otro agente gelificante). No es nada

más que sangre centrifugada sin ninguna adición, obteniéndose una *matriz de Fibrina con leucocitos, plaquetas y factores de crecimiento*, centrifugados desde una simple muestra de sangre.(53)

El protocolo de obtención del PRF es muy simple: se toma una muestra de sangre sin anticoagulante en tubos de 10 ml que se centrifugan inmediatamente a 3000 rpm (aproximadamente 400 g según nuestros cálculos) durante 10 minutos.

La ausencia de anticoagulante implica la activación en pocos minutos de la mayoría de las plaquetas de la muestra de sangre en contacto con las paredes del tubo y la liberación de las cascadas de coagulación. El fibrinógeno se concentra inicialmente en la parte alta del tubo, antes de que la trombina en circulación lo transforme en fibrina. Luego se obtiene un coágulo de fibrina en el medio del tubo, justo entre los glóbulos rojos en la parte inferior y el plasma acelular en la parte superior.(53)

Hasta el momento la obtención del PRF es la forma más simple y segura de producir un concentrado plaquetario. La arquitectura natural de la fibrina parece ser responsable de una lenta liberación de los factores de crecimiento y glucoproteínas de la matriz durante aproximadamente 7 días.

Se ha visto que el PRF muestra varias ventajas con respecto al PRP entre las que incluyen una preparación mas fácil, lo que facilita enormemente su manejo, y la no manipulación bioquímica de la sangre lo que convierte a estas preparaciones en estrictamente autólogas, es decir, preparadas sólo en base a sustancias provenientes del cuerpo del paciente.(51)

Biomateriales

En la ingeniería tisular, la generación de tejidos artificiales de naturaleza mesenquimal como el hueso, el cartílago, la dermis o la lámina propia de la mucosa oral requiere algún tipo de material que actúe como sustituto de la matriz extracelular del tejido nativo. Para ello se utilizan varios tipos de biomateriales. Así, el termino biomaterial designa a aquellos materiales utilizados en la fabricación de sistemas biológicos y que se aplican en diversas áreas de la medicina.

Los más utilizados son las biomateriales sintéticos y los biomateriales biológicos. Las sintéticos son producidos en laboratorio mediante procesos industriales; entre estos destacan los polímeros, los metales, los de origen cerámico y los nanocomposites. Los biológicos o naturales son aquellos que se obtienen a partir de productos encontrados en la naturaleza; sean de origen mineral, vegetal o animal como el colágeno, la fibrina, la agarosa, el quitosán, el alginato, etc. El uso para cada tipo depende del tejido que se va a generar. (54)

1.- Andamiajes Sintéticos

Para estos fines, también se han creado matrices de andamiaje a partir de materiales sintéticos como polímeros, como el ácido poliglicólico (PGA) y el ácido poliláctico (PLA), que son poliésteres biodegradables derivados de una variedad de fuentes renovables. Se ha demostrado que los andamios formados a partir de PGA apoyan la adhesión y la proliferación de fibroblastos pulpares (27). Los armazones de PLA promueven la adherencia tanto de células progenitoras de la pulpa dental aisladas como de células de tejidos de pulpa humana en vivo. Por otra parte, también se han usado matrices extracelulares de origen natural como el colágeno o el fosfato de calcio (6) y hay una gran variedad de materiales propuestos en la literatura como candidatos para su uso en endodoncia, incluyendo construcciones de péptidos sintéticos e hidrogeles formados a partir de moléculas biomiméticas o de origen natural (11).

Las matrices sintéticas se han usado para administrar varios agentes antiinflamatorios como ibuprofeno, dexametasona, diclofenaco, rolipram y otros como las resolvinas(11), que son moléculas originadas de precursores del omega-3 que pueden resolver oportunamente la inflamación (28), controlando la pulpitis y facilitando la reparación pulpar. Son compatibles con la regeneración de los tejidos de la pulpa y, desde la perspectiva de la regeneración endodóntica, estos polímeros resultan atractivos por sus propiedades de manejo y relativa facilidad de producción, pero tienen poca semejanza con el entorno extracelular nativo de la pulpa dental. (11).

2.- Andamiajes Naturales

También existe un interés significativo en el uso de andamios biomiméticos compuestos de materiales "naturales", aunque estos generalmente no son tan mecánicamente resilientes como los andamios de polímeros sintéticos. Los hidrogeles formados a partir de colágeno se han utilizado ampliamente para cultivar células progenitoras de pulpa dental in vitro y como vehículo para liberar células, factores de crecimiento y moléculas antiinflamatorias en diversos modelos animales, con cierto éxito en la regeneración de tejidos similares a la pulpa (11).

El colágeno es, por supuesto, prevalente en el medio extracelular y, por lo tanto, es altamente compatible con células y tejidos(11). Este junto a otras moléculas tales como la vitronectina, la fibronectina y la laminina son las principales proteínas de la matriz extracelular que forman el andamio natural. En cuanto a sus funciones, el colágeno ayuda en la inmovilización de los factores de crecimiento, mientras que la laminina promueve la diferenciación odontoblástica y la fibronectina promueve tanto el crecimiento ameloblástico como la diferenciación (25). Todos, junto con la vitronectina, tienen un papel importante en la regeneración de los tejidos dentales (6), a la vez que actúan como marco estructural, proporcionan anclaje celular, eliminan factores de crecimiento y señalización celular para la migración, diferenciación y proliferación a través de las vías de señalización mediadas por

receptores de integrinas.

Sin embargo, los hidrogeles formados a partir del colágeno a menudo son débiles estructural y químicamente conduciendo a una menor cito-compatibilidad. El alginato es un polisacárido natural que puede formar hidrogeles porosos, que han sido ampliamente propuesto para su uso en variadas aplicaciones de ingeniería de tejidos. Estos hidrogeles son compatibles con las células progenitoras mesenquimales derivadas de la encía y el ligamento periodontal y, cuando se cargan con TGF β 1, inducen la diferenciación de las células odontoblásticas en un modelo de corte dental en humanos (11).

3.3.- Factores de Crecimiento:

Una amplia variedad de proteínas y nucleótidos juegan un papel importante en la proliferación y diferenciación de las células. Estos elementos son secretados de forma endógena por las células o bien, son el resultado de señales paracrinas con células vecinas. Estas proteínas son los factores de crecimiento. Estas moléculas deben inducir el desarrollo y la diferenciación celular dentro del tejido artificial, como lo hace de forma natural la matriz extracelular en los tejidos nativos, mediante señalizaciones intracelulares que inhiben o inducen funciones celulares específicas (54).

Estructuralmente son polipéptidos con capacidad de unirse a receptores específicos en las células diana (células madre y otras células pulpares) para modular o facilitar actividades como la migración, proliferación, diferenciación y apoptosis (25). A diferencia de las hormonas, que actúan de manera sistémica, los factores de crecimiento tienen una acción exclusivamente local en las células diana, donde cumplen un papel importante en la atracción y diferenciación, tanto de las células pulpares como de las células madre dentro del canal (6). Estas sustancias solubles influyen de manera significativa en el comportamiento y función de la célula que los asimila.

En cuanto a su clasificación, los factores de crecimiento se clasifican según sea su especificidad: amplia o reducida. Los de especificidad amplia como el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) y el factor de crecimiento epidérmico (EGF) actúan sobre muchas clases de células, entre las cuales tenemos: fibroblastos, fibras musculares lisas, células neurogliales, y el EGF, además, sobre células epiteliales y no epiteliales. Como ejemplo de factor de crecimiento de especificidad reducida tenemos a la eritropoyetina, que solo induce la proliferación de los precursores de los hematíes(52).

Los factores de crecimiento han sido estudiados en medicina regenerativa debido a las sorprendentes y aún no del todo conocidas formas de interacción de estos con las células y la matriz celular nativas que, mediante vías de señalización, definen el comportamiento y funciones celulares. Debido a que los factores de crecimiento se encuentran distribuidos en la compleja arquitectura de proteínas, polisacáridos y proteoglicanos de la matriz, es claro el hecho de que ambos componentes, proporcionan a las células madre un microambiente que influye en su patrón de crecimiento y desarrollo (54).

Los principales eventos y sus factores de crecimiento asociados son los siguientes: (6)

1.- Reparación y regeneración:

PDGF (Factor de crecimiento derivado de plaquetas).
TGF (Factor transformante de crecimiento).
BMP (Proteína morfogénica ósea).
VEGF (Factor de crecimiento endotelial vascular).
FGF (Factor de crecimiento de fibroblastos) y,
IGF (Factor de crecimiento de insulina).

2. Angiogénesis:

FGF2.
PDGF.
VEGF 3.

3. Crecimiento Neuronal:

NGF (Factor de crecimiento Neuronal).

4. Diferenciación:

TGF β .
PDGF.
FGF2.
BMP 2, 4,7,11.
IGF.
NGF.

5.- Proliferación:

FGF2.
SDF-1.
TGF β 1.
VEGF.
PDGF.

6.- Quimiotaxis:

SDF-1.
TGF β 1.
PDGF.
FGF2.

Los factores más relevantes en la regeneración corresponden al factor transformante de crecimiento (TGF) y la proteína morfogénica ósea (BMP). Para la diferenciación y odontoblástica son relevantes los factores TGF β que actúan en la diferenciación y secreción de dentina. La proteína morfogénica ósea (BMP) induce a una formación mayor y más homogénea de dentina reparativa. Como moléculas angiogénicas, son relevantes el Factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) (20-29-30).

4.- PROTOCOLO CLÍNICO PROPUESTO POR LA UNIVERSIDAD DE VALPARAÍSO EN TERAPIA DE REGENERACIÓN PULPAR GUIADA

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, evaluación de la respuesta pulpar a los cambios de temperatura, evaluación del estado del desarrollo radicular y presencia de lesión osteolítica periapical. 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.

2. Consentimiento Informado

Es común que en este tipo de tratamientos los pacientes sean menores de edad, por lo tanto se debe 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 ya no son considerados experimentales y es el tratamiento de primera elección en pacientes con necrosis y foramen apicales mayores a 1mm de diámetro según la AAE. Esto debido a que conseguimos con la terapia de regeneración endodóntica, un tratamiento predecible que logra eliminar la etiología causal, resolver signos/síntomas, promover el desarrollo radicular e incluso en algunos casos recuperar la sensibilidad dentaria. 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.

3. Anestesia

Durante la 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 realizar una medición de mayor exactitud apoyada con 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 entregará 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 la longitud de trabajo cuando la lima casi alcanza la altura apical entre ambas paredes radiculares.

5. Preparación biomecánica en regeneración endodóntica (PBM)

EL protocolo de la Universidad de Valparaíso, ha incluido la preparación biomecánica completa como pilar fundamental argumentando que existen una serie de factores que se deben analizar:

1. Consideración de las características anatómicas de los dientes a tratar. Se debe tener en cuenta el diámetro aumentado que presentan estos conductos en todo su trayecto, por lo cual los instrumentos siempre trabajarán holgadamente, lo que permite ejercer una presión controlada durante la preparación. Además, presentarán la forma de 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.
2. La remanencia de tejidos necróticos en la región pulpar provoca gangrena por descomposición de las proteínas, en la que intervienen productos intermedios como el indol, escatol, cadaverina y putrecina, los cuales favorecen la activación de los macrófagos a través de *citocinas* (ej: IFN y) y *productos microbianos que se unen a los TLR u otros receptores celulares*, perpetuando así la inflamación crónica de la región (Imhof y Aurrand-Lions, 2004). 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 gran parte de las lesiones tisulares que ocurren en la inflamación crónica y que imposibilitarían la formación de nuevos tejidos en forma adecuada, orientando más a un proceso *reparativo que regenerativo* (liderado por fibroblastos y colágeno desorganizado). (Gordon y Taylor 2005).
3. 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 y Haapasalo, 1990; Svensater y Bergenholtz, 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*. (Fouad y Verma, 2014). En presencia de infección, las células madre pulpares que sobreviven parecen ser incapaces de lograr mineralización y la aposición de un puente de dentina terciaria. (Murray y cols., 2007).
4. La naturaleza de las células madre encargadas de diferenciarse a odontoblastos y continuar con la formación radicular no está esclarecida y todo apunta a que podrían tener diversos orígenes. No existe certeza de que la sobrevivencia de las *células madre pulpares (DPSC)* sea la única posibilidad de éxito de tratamiento, ya que se estaría descartando la viabilidad que podrían otorgar las *células del ligamento periodontal (PDLSC)* y las *células de la papila apical (SCAP)* (Lin y cols., 2014) que no se verían afectadas si el límite de trabajo es coronal a estas regiones.

Clínicamente esta preparación será realizada hasta la longitud de trabajo anteriormente determinada, con una lima K gruesa, que llegue a la longitud deseada sin necesidad de ser

forzada excesivamente, y se ejercerá 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 hipoclorito de sodio (NaOCl) al 1,5%, con una aguja de calibre 18G (*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. Seguido a esto se realizará un lavado con 20mL de EDTA al 17% por 5 minutos y un enjuague final con suero fisiológico.

7. Medicación Intraconducto en REP

La medicación intraconducto es fundamental para alcanzar una mayor desinfección del sistema de canales radiculares previo acto de revascularización. La medicación utilizada es el hidróxido de Calcio debido a su eficiencia y baja toxicidad. Se aplicará en forma de pasta, con una lima de segunda serie para facilitar la inserción hacia el interior del conducto radicular, siempre manteniendo una profundidad de aplicación que no supere la longitud de trabajo, ya que se debe dejar espacio suficiente para los nuevos tejidos que se pudiesen formar durante este periodo.

8. Sellado Temporal.

Una efectiva acción del medicamento va a depender de prevenir una 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, 2012)

SEGUNDA SESIÓN

Luego de 2 semanas se continua con el tratamiento. 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 aún así no se logra el objetivo inicial de la terapia, se deben repetir sesiones de medicación y repaso de la preparación biomecánica hasta que remiten los signos y síntomas. 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

Este 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.

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 ftalato) 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.

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 2.800 RPM durante 12 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.
- 3) Células rojas en el fondo del tubo.

El coágulo de fibrina es la porción del PRF utilizada y esta se forma mediante un proceso de polimerización natural que ocurre durante la centrifugación.



Imagen 2: Plasma rico en fibrina obtenido tras proceso de centrifugación.

Foto pertenece a Tesis: Validación de protocolo de "Terapia de regeneración pulpar guiada para dientes inmaduros con necrosis pulpar" propuesta por la cátedra de endodoncia de Universidad de Valparaíso entre los años 2012 y 2016

2. Anestesia

Previo al aislamiento con goma dique se coloca anestesia sin vasoconstrictor (*Scandicaine 3% sin vasoconstrictor. Septodent*) con el fin de evitar la isquemia de los tejidos que se encuentran aledaños a la región periapical y así facilitar la etapa de inducción mecánica del sangrado.

3. Repaso de la preparación biomecánica e Irrigación.

Posterior al retiro de la restauración temporal de debe eliminar minuciosamente la medicación intraconducto con abundante suero fisiológico y realizar un cuidadoso repaso de la PBM con el último instrumento utilizado sin traspasar los límites dentarios .Se utiliza abundante irrigación con hipoclorito de sodio al 1.5% que no debe ser menor a los 20 mL hasta asegurar 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% , el cual vamos a dejar actuar por 1 minuto.

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 odontoblasticas.

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.

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 cercana a la fase roja es el que contiene la mayor cantidad de plaquetas y leucocitos, por lo tanto, el que se privilegia a utilizar en apical. Se lleva 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.

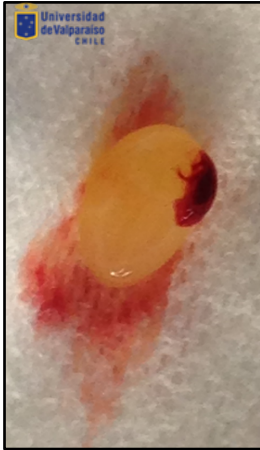


Imagen 3: Secuencia de manipulación de PRF para ser llevado al interior del diente a tratar. Imagen 3a segmento seleccionado de PRF. Imagen 3b corte en pequeños trozos para ser llevado al interior del conducto radicular. Imagen 3c ubicación de PRF al interior del diente.

Fotos pertenecen a Tesis: Validación de protocolo de "Terapia de regeneración pulpar guiada para dientes inmaduros con necrosis pulpar" propuesto por la cátedra de endodoncia de Universidad de Valparaíso entre los años 2012 y 2016

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

Alcanzada la consistencia deseada (del FRP), se propone como variación a los protocolos publicados, el cubrir la matriz con un sustituto bioactivo de dentina en base a *silicato tricálcico* (*Biodentine*TM-*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.

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 Dentsply*) que debe tener un espesor de a lo menos 3 mm.

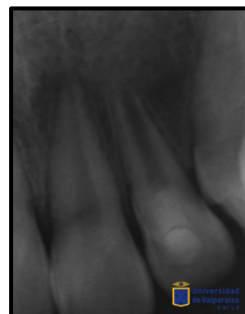
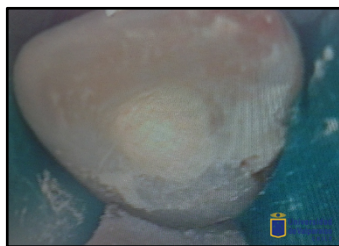


Imagen 4: Cavidad coronaria cubierta con *Biodentine*TM tras haber ubicado PRF al interior del conducto

Imagen 5: Radiografía periapical post tratamiento de regeneración endodóntica con cubierta de Biodentine™ y obturación temporal de vidrio ionómero.

Foto pertenece a Tesis: Validación de protocolo de "Terapia de regeneración pulpar guiada para dientes inmaduros con necrosis pulpar" propuesto por la cátedra de endodoncia de Universidad de Valparaíso entre los años 2012 y 2016

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 .

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 buenos resultados, también es cierto que presenta ciertas falencias entre las que destacamos:

Deficientes 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.

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 y Parirokh, 2010).

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 y Parirokh, 2010). 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.

Ante estas desventajas del MTA, para la ejecución de este protocolo se utilizó el biocerámico Biodentine™ (*Septodont*) cuya composición 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).

Propiedades de sus componentes:

- 1.-Silicato tricálcico: es el principal componente del polvo y es quien regula la reacción de fraguado.
- 2.-Carbonato de calcio: es un relleno.
- 3.-Dióxido de zirconio: otorga radiopacidad al cemento.
- 4.-Cloruro de calcio: es un acelerador.
- 5.-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, 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 mejoró 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. 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.

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

CONTROL A LOS 15 DÍAS POSTERIORES A LA RESTAURACION DEFINITIVA

1. Evaluación clínica de signos y síntomas.
2. Control radiográfico.
3. Control de vitalidad en dientes vecino, y diente tratado, con:
 - Vitalómetro Denjoy Dental Serie N° DYE000243.
 - Test por calor con gutapercha caliente.

A 1 MES REALIZADO EL PROCEDIMIENTO (3RA SESION)

1. 1er Control: Evaluación clínica de signos y síntomas.
2. Control de vitalidad en dientes vecino, y diente tratado, con:
 - Vitalómetro Denjoy Dental Serie N° DYE000243.
 - Test por calor con gutapercha caliente.

A 2 MESES REALIZADO EL 1ER CONTROL:

1. Evaluación clínica de signos y síntomas.
2. Control de vitalidad en dientes vecino, y diente tratado, con:
 - Vitalómetro Denjoy Dental Serie N° DYE000243.
 - Test por calor con gutapercha caliente.

A 3 MESES REALIZADO EL 1ER CONTROL

1. Evaluación clínica de signos y síntomas.
2. Control radiográfico.
3. Control de vitalidad en dientes vecino, y diente tratado, con:
 - Vitalómetro Denjoy Dental Serie N° DYE000243-
 - Test por calor con gutapercha caliente.

A 4 MESES REALIZADO EL 1ER CONTROL:

1. Evaluación clínica de signos y síntomas.
2. Control de vitalidad en dientes vecino, y diente tratado, con:
 - Vitalómetro Denjoy Dental Serie N° DYE000243.
 - Test por calor con gutapercha caliente.

A 5 MESES REALIZADO EL 1ER CONTROL.

1. Evaluación clínica de signos y síntomas.
2. Control de vitalidad en dientes vecino, y diente tratado, con:
 - Vitalómetro Denjoy Dental Serie N° DYE000243.
 - Test por calor con gutapercha caliente.

A 6 MESES REALIZADO EL 1ER CONTROL:

1. Evaluación clínica de signos y síntomas.
2. Control radiográfico.
3. Control de vitalidad en dientes vecino, y diente tratado, con:
 - Vitalómetro Denjoy Dental Serie N° DYE000243
 - Test por calor con gutapercha caliente.

A 9 MESES REALIZADO EL 1ER CONTROL:

1. Evaluación clínica de signos y síntomas.
2. Control radiográfico.
3. Control de vitalidad en dientes vecino, y diente tratado, con:
 - Vitalómetro Denjoy Dental Serie N° DYE000243
 - Test por calor con gutapercha caliente.

A 12 MESES REALIZADO EL 1ER CONTROL:

1. Evaluación clínica de signos y síntomas.
2. Control radiográfico.
3. Control de vitalidad en dientes vecino, y diente tratado, con:
 - Vitalómetro Denjoy Dental Serie N° DYE000243
 - Test por calor con gutapercha caliente.

UNA VEZ AL AÑO POR 5 AÑOS CONTROLAR:

1. Evaluación clínica de signos y síntomas.
2. Control radiográfico.
3. Control de vitalidad en dientes vecino, y diente tratado, con:
 - Vitalómetro Denjoy Dental Serie N° DYE000243
 - Test por calor con gutapercha caliente.

5.- IMPORTANCIA DE LA MEDICACIÓN INTRACONDUCTO ENTRE SESIONES EN LA TERAPIA DE REVASCULARIZACION

5.1.- Medicación en Terapia de Revascularización

Prevenir la reinfección es un requisito para el éxito de la terapia en el largo plazo.

El hidróxido de calcio, el medicamento intracanal más popular en la terapia del conducto radicular tiene sus deficiencias en la eliminación de las bacterias dentro del canal, porque la dentina y la hidroxiapatita tienen efectos inhibitorios sobre la actividad antimicrobiana del hidróxido de calcio. La pasta triple antibiótico (ciprofloxacina, metronidazol y minociclina) utilizada en la terapia de endodoncia regenerativa de los dientes permanentes inmaduros con pulpas necróticas también pueden tener limitaciones para eliminar las bacterias intracanal. Se ha demostrado que la pasta triple antibiótica era capaz de desinfectar la dentina y de eliminar de bacterias in vitro, sin embargo, estos estudios in vitro no simulaban exactamente la situación clínica en la cual los dientes indicados para la terapia de endodoncia regenerativa generalmente están, es decir, una larga historia de infección con biofilm bien establecido en las paredes del canal y bacterias en los túbulos dentinarios. Los estudios in vivo también muestran que la pasta triple antibiótica es capaz de eliminar la mayoría pero no todas las bacterias en los conductos radiculares infectados artificialmente. La ciprofloxacina inhibe la síntesis de girasa, el metronidazol inhibe la síntesis de ADN y la minociclina inhibe la síntesis de proteínas, por eso estos antibióticos son efectivos cuando los microbios están en un estado activo de replicación y síntesis de paredes celulares, proteínas o ADN, pero no en estado estacionario. Por lo tanto, bacterias residuales es probable que permanezcan en el espacio radicular de dientes permanentes maduros o inmaduros con necrosis después de la desinfección del conducto radicular con irrigación con hipoclorito de sodio y medicación intracanal con hidróxido de calcio y / o pasta antibiótica triple. (55)

Dentro de las desventajas de las pastas antibióticas incluyen citotoxicidad debido a concentraciones excesivas descritas en su uso, el problema de la remoción y el desarrollo de resistencia y riesgo de sensibilización, que son particularmente problemáticos en pacientes jóvenes. Por lo tanto, las recomendaciones hasta la fecha tienden hacia el uso de hidróxido de calcio, que no presenta citotoxicidad en pruebas con células madre de la papila apical y se ha utilizado con éxito en varios informes de casos y series de casos (Cotti 2008 , Cehreli 2011 , Chen 2012) .(57)

En la terapia de endodoncia regenerativa, la inducción de sangrado periapical y generación de tejido en el espacio del canal puede contribuir a la eliminación de las bacterias residuales que permanecen en el conducto radicular, también podrían ser eliminadas por los mecanismos de defensa inmunes del tejido vital “regenerado”. (55)

En el futuro, podría considerarse la incorporación de antibióticos en un material de andamio para su colocación temporal en el conducto radicular como sistema de administración de fármacos antimicrobianos biológicamente seguros.(57)

5.2.- Efecto antibacteriano

Se sabe que la combinación de 3 antibióticos (ciprofloxacina, metronidazol y minociclina; 3Mix) ha sido ampliamente utilizado en endodoncia regenerativa. En 2014 se efectuó un estudio para determinar la capacidad regenerativa de células de pulpa dental humana aisladas (DPC) y células de papila apical (APC) después de un tratamiento de 7 días con dosis seleccionadas de 3Mix. (35). Los resultados mostraron que un miligramo por mililitro de 3Mix tuvo una fuerte toxicidad para los DPC / APC cuando se aplicó por 7 días, mientras que 0.39 mg / ml 3Mix no mostró toxicidad, pero aún afectó al potencial de proliferación y mineralización de las células. Sin embargo, no hay diferencias en el gen dentinogénico, donde se observaron expresiones entre los grupos tratados con 3Mix y sin tratar (35).

Recientes estudios, indican como segura una concentración de 3Mix en el rango de 0.39 mg / mL y 1 mg / mL porque a mayores concentraciones pueden limitar la regeneración de los tejidos. (48)

Ruparel y cols. (43), bajo el precepto de que las medicaciones intraconducto usadas en endodoncia regenerativa (bi pasta, tri pasta e hidróxido de calcio) tienen un efecto nocivo sobre las células madre humanas de la papila apical (SCAP), plantearon la hipótesis que solo cuando los medicamentos intracanales se usan en altas concentraciones llegan a ser tóxicos para las SCAP. Para probarlo, se cultivaron las SCAP y se sometieron a un tratamiento farmacológico a varias concentraciones que incluyen TAP, DAP, TAP modificado (ciprofloxacina, metronidazol y cefaclor), Augmentin (Champs Pharmacy, San Antonio, TX) o Ca(OH)₂. Los recuentos de células madre viables se obtuvieron usando un método automatizado de detección de tinte azul de tripano luego de 3 días después del tratamiento. Los 4 antibióticos redujeron significativamente la supervivencia de SCAP en una concentración dependiente. Por el contrario, el Ca(OH)₂ propició la supervivencia de SCAP en todas las concentraciones. Así concluyeron que las concentraciones de antibióticos tienen un efecto perjudicial en la supervivencia de SCAP, mientras que concentraciones más bajas de estos, al igual que el Ca (OH) ₂ en todas las concentraciones probadas, son propicias para su supervivencia y proliferación.

Mandras y cols. investigaron el potencial de eficacia antimicrobiana de combinaciones de antibióticos alternativos 3-MIX C (claritromicina); 3-MIX F (fosfomicina)] contra bacterias de canales radiculares infectados. El efecto bactericida de 3-MIX C y 3-MIX F fue significativamente superior a la de 3-MIX convencional y 2-MIX, contra microorganismos anaeróbicos aislados de dientes permanentes necróticos; 3-MIX C muestra mayor capacidad para eliminar patógenos endodónticos in vitro comparado con 3-MIX F; tanto 3-MIX C como 3-MIX F pudieron evitar el efecto de tinción permanente de la corona dental.(42)

En general estos estudios destacan que, clínicamente, los medicamentos intraconducto deben usarse en concentraciones que sean bactericidas y con efectos mínimos en la viabilidad de las células madre.

En 2015, Sabrah y cols. Publicaron una investigación sobre el efecto de varias diluciones de medicamentos antibióticos utilizados en la regeneración endodóntica sobre la supervivencia de las células madre de pulpa dental humana (DPSC) y así determinar su efecto antibacteriano contra *Enterococcus Faecalis* presentes en el biofilm endodóntico de los retratamientos. Los efectos citotóxicos y antibacterianos de la triple pasta antibiótica (TAP) y la doble pasta antibiótica (DAP) se probaron en distintas diluciones (0,125, 0,25, 0,5, 1 y 10 mg / ml), tanto contra *Enterococcus faecalis* como contra DPSC.(35)

La biopelícula bacteriana se expuso a diluciones de antibióticos por 3 días. Luego, se hizo una recolección de fragmentos de biofilm, para determinar la cantidad de unidades formadoras de colonias bacterianas (UFC/ml). El efecto citotóxico, se midió mediante la lactatodeshidrogenasa (LDH) y ensayos de viabilidad celular (WST-1). Todas las diluciones de antibióticos disminuyeron significativamente la cantidad de UFC bacteriana/ml. Para los ensayos WST-1, todas las diluciones antibióticas excepto la de 0.125 mg/ml redujo significativamente la viabilidad de DPSC. Para los análisis de LDH, las tres concentraciones más bajas probadas de DAP (0.5, 0.25, 0.125 mg/ml) y las dos concentraciones más bajas de TAP (0.25 y 0.125 mg/ml) no fueron tóxicos para DPSC. (35)

En un estudio del 2016, Tagelsir y cols. evaluaron el efecto de varios antimicrobianos. utilizados en la regeneración endodóntica en un biofilm de *Enterococcus faecalis*. El biofilm se cultivó en muestras de dentina estandarizada durante 3 semanas. Las muestras de dentina infectadas fueron aleatorizadas en 8 grupos experimentales (n = 8) y tratados con hidróxido de calcio (Ca[OH]₂), 500 mg/ml de pasta biantibiótica (DAP, partes iguales de metronidazol y ciprofloxacina), bajas diluciones de DAP (1 o 0.1 mg/MI en un sistema de vehículo de metilcelulosa), pasta salina estéril o placebo (solo metilcelulosa) por 7 días. Los otros grupos experimentales fueron tratados con una solución de hipoclorito de sodio (NaOCl) al 1,5% o clorhexidina (CHX) al 2% durante 5 minutos. Después de los tratamientos, las biopelículas bacterianas se separaron de la dentina y se cuantificaron usando una máquina de conteo automatizada. La dentina infectada tratada con NaOCl al 1,5% o 500 mg / ml de la DAP proporcionó la erradicación completa de la biopelícula bacteriana. Además, la dentina infectada tratada con 2% de CHX, Ca (OH)₂, o 1 mg/ml de DAP tuvo un efecto antimicrobiano comparable sobre la biopelícula bacteriana, pero no pudieron erradicarla por completo. Finalmente, no hubo diferencia significativa en el efecto antibiótico entre 500 mg/mL de DAP, Ca(OH)₂, 1,5% de NaOCl y 2% de CHX. Por tanto, concluyeron que al menos se necesita 1 mg/ml de DAP diluido en una solución de metilcelulosa para eliminar una cantidad de biofilm de *E. faecalis*. Además, el efecto antimicrobiano de 1.5% NaOCl y 2% de soluciones de irrigación de CHX fueron comparables con los de 500 mg/mL de DAP y Ca(OH)₂. (36).

5.3.- Adhesión

Para evitar más debilitamiento de los dientes inmaduros, se recomienda una mínima instrumentación mecánica pero, como el tejido pulpar requiere de un ambiente estéril para reaccionar frente a la terapia de regeneración endodóntica, se indica el uso de irrigantes y medicamentos intraconducto para lograr la desinfección de los conductos radiculares. Para obtener los efectos terapéuticos efectivos de los medicamentos, se debe mantener esta medicación por cierto periodo, que varía de semanas a varios meses. Sin embargo, aparecen

alteraciones en las propiedades de la superficie y deterioro de las propiedades mecánicas de la dentina del conducto radicular. (38).

El pretratamiento de la dentina infectada usando irrigantes o medicamentos puede influir en la fuerza de unión de los cementos silicatos al diente, lo que constituye un factor importante ya que la estructura dental está expuesta a fuerzas oclusales constantemente y eso podría desalojar el cemento después de su colocación. Recientemente, Topcuoglu et al. (40) informó que una aplicación de tres semanas de medicamentos usualmente usados en endodoncia regenerativa, redujo la fuerza de adhesión del MTA colocado en el canal radicular.

Por esto, en 2015, Turka y Fidlerb, evaluaron los efectos de los medicamentos intraconducto usados en endodoncia regenerativa en la fuerza de enlace de MTA y BD al diente. En el estudio, los medicamentos antibióticos usados (pasta tri y biantibiótica) parecían disminuir la fuerza de enlace de MTA y BD después de un período de aplicación de dos semanas. Por el contrario, el hidróxido de calcio no influyó en la fuerza de enlace de BD y parecía contribuir a una fuerza de enlace más alta al usarlo con el MTA. (37)

Yassen y cols. (41) investigaron los cambios en las propiedades fisicoquímicas de la superficie dentinaria después de realizar diferentes protocolos de regeneración endodóntica. Usaron fragmentos de dentina humana aleatorizadas en 4 grupos de tratamientos y 1 grupo control no tratado (n = 10). Un grupo de tratamiento fue irrigado con hipoclorito de sodio (NaOCl) durante 5 minutos seguido de EDTA durante 10 minutos. Los otros 3 grupos de tratamiento se irrigaron con NaOCl; los 4 grupos de tratamiento se trataron por 4 semanas con pasta antibiótica triple (TAP), pasta antibiótica triple diluida (DTAP) o hidróxido de calcio (Ca(OH)₂); y luego irrigados con EDTA. Después del tratamiento, se evaluaron las superficies, midiendo la aspereza superficial y la composición química.

Todos los grupos de tratamiento mostraron cambios significativos tanto en la reducción de la humectabilidad como en aumento de la rugosidad superficial en comparación con la dentina no tratada. La menor humectabilidad se evidenció en la dentina tratada con Ca(OH)₂. No hubo diferencia significativa en la humectabilidad entre dentinas tratadas con protocolos DTAP y TAP, sin embargo, la tratada con TAP tenía una rugosidad superficial significativamente mayor comparada con los demás grupos. La dentina no tratada y la dentina tratada con NaOCl + EDTA presentaban diferencias significativas, con mayor cantidad de calcio y fósforo y menor contenido de carbono en comparación con la dentina tratada con Ca(OH)₂, DTAP y TAP.

5.4.- Citotoxicidad

Como ya hemos mencionado, según Ruparel et al (2012) la medicación intraconducto más utilizada en revascularización es una combinación propuesta por Hoshino et al. compuesta por ciprofloxacino, metronidazol y minociclina en proporción 1:1:1, también conocida como triple pasta antibiótica (TAP). Diversos estudios tanto in vitro como in vivo han demostrado su alta eficacia contra bacterias habituales en infecciones del sistema de conductos radiculares (43)

Sin embargo tuvo como efecto secundario tinción dentaria debido a la minociclina. Por esto se propuso la utilización de una bipasta (DAP) que eliminaba la micociclina, causante de la tinción, utilizando solo ciprofloxacino y metronidazol

También se ha utilizado una combinación de metronidazol, ciprofloxacino y cefaclor, conocida como triple pasta antibiótica modificada (mTAP)

La eficacia del poder antibacteriano de estos medicamentos es conocida, sin embargo, se han presentado importantes desventajas:

- Posible resistencia bacteriana.
- Citotoxicidad.

La citotoxicidad es la cualidad de ser tóxico para las células. Cuando las células son expuestas a un compuesto citotóxico pueden responder de diferentes maneras. Pueden sufrir necrosis, en el que pierden integridad de la membrana y mueren rápidamente como resultado de la lisis celular; pueden dejar de crecer y dividirse; o pueden activar un programa genético de muerte celular controlada, denominado apoptosis.

Ruparel et al (2012) ,en un estudio in vitro demuestra la citotoxicidad que presentan la triple pasta antibiótica (TAP), bipasta antibiótica (DAP) y triple pasta antibiótica modificada (mTAP) sobre las células madre de la papila apical (SCAP), teniendo un efecto perjudicial en la supervivencia celular. (43)

Chuensombat en 2013, también en un estudio in vitro, evaluó la citotoxicidad de la triple pasta antibiótica (TAP), y de ciprofloxacino, metronidazol y minociclina por separado, en cultivos de células madre de la pulpa dental (DPSC) y en células madre de la papila apical (SCAP). Todos los antibióticos, excepto el metronidazol fueron citotóxicos, siendo mayor la citotoxicidad cuando se utilizó la triple pasta antibiótica, que utilizando los antibióticos por separado.(46)

6.- MEDICACIONES USADAS SEGÚN LA LITERATURA

6.1.- Pasta Antibiótica triple

Estudios realizados desde 1993 muestran que 3Mix elimina las bacterias de tejidos infectados de dientes deciduos y permanentes, constituyéndose una excelente alternativa para piezas deciduas con indicación de pulpectomía. Consta de un polvo, formado por una combinación de tres antibióticos: Metronidazol, Ciprofloxacino y Minociclina en partes iguales y un líquido, que es una combinación de Macrogol y Propylen Glicol, también en igual proporción, los que actúan como vehículos transportadores de los antibióticos.

Se indica prepararla usarla durante el mismo día del tratamiento pero, al terminar la jornada laboral, debe descartarse el sobrante. Para su preparación se adquieren los medicamentos en su forma comercial y los mezcla el operador, para asegurar la consistencia y proporciones correctas.

Una revisión del año 2012 concluye que la combinación de irrigación y desinfección con la pasta antibiótica triple con propilenglicol, en el procedimiento de endodoncia no quirúrgica regenerativa, permite la entrada eficiente y profunda en los túbulos dentinarios y más allá del cemento, permitiendo el cierre apical radicular y la curación de lesiones periapicales y periradiculares (48)

6.2.- Hidróxido de calcio

Tiene una acción indirecta como resultado de la obliteración de los conductillos dentinarios, lo que minimiza la utilización de nutrientes por los microorganismos alojados en dentina, al tiempo que absorbe el dióxido de carbono. Su acción directa resulta del contacto con las bacterias, por tres mecanismos, a través de los grupos hidroxilo:

1. Oxidación de los ácidos grasos insaturados de la membrana celular (pérdida de un átomo de hidrógeno) generando radicales libres (HO-) con un número impar de electrones y de una elevada reactividad química que los lleva a unirse con cualquier otra molécula de la que sustraen electrones y forman nuevos radicales libres.
2. El pH elevado induce ruptura de los enlaces iónicos en la estructura terciaria de las proteínas, perdiendo el ordenamiento global y la interrelación de las diversas regiones o dominios, dejando muchas enzimas inactivas biológicamente, con lo que alteran el metabolismo celular.
3. Daño en las cadenas de ADN por desnaturalización de las mismas, inhibiendo la multiplicación celular.

De la mayoría de los estudios realizados hasta el presente, surge que la principal acción del hidróxido de calcio depende básicamente de su disociación iónica, particularmente en la acción de los iones hidroxilo generadores de pH alcalino y responsables de la desnaturalización de las proteínas, con el consiguiente daño del ADN bacteriano y de la modificación del gelsol de los tejidos.

Aunque algunos trabajos mencionan que la alcalinización de la dentina se produce en periodos de 1 a 7 días, otros registraron que en periodos mayores (7 a 30 días), este producto proporciona una desinfección más efectiva del conducto radicular, pero tiene como contrapartida el riesgo de mantener el diente con una restauración provisional por plazos extensos. Estas diferencias complican determinar un período mínimo necesario para que la medicación temporaria con H. De Calcio ejerza un efecto antibacteriano apreciable. (50)

La experiencia clínica aconseja concluir el tratamiento endodóntico lo más rápido posible. Para protocolizar, se recomienda el uso de medicación temporaria con hidróxido de calcio entre sesiones, por un período de 7 días. Como opción en casos con grandes lesiones periapicales o reabsorciones nítidas o ambas afecciones, este fármaco podrá dejarse hasta por 30 días. (49). Los tiempos recomendados de permanencia de estas pastas varía según los signos y síntomas del paciente, pero generalmente toma entre 2 y 4 semanas. (33)

En relación a endodoncia regenerativa, Ruparel et al (2012) evaluó la citotoxicidad del hidróxido de calcio en células madre de la papila apical, interesantemente, hubo supervivencia de células madre de papila apical (SCAP) en todas las concentraciones utilizadas [100mg/mL – 0.01mg/mL]. (43)

La Asociación Americana de Endodoncia (AAE) 2015 y Kenneth Hargreaves en 2014, han propuesto la utilización de hidróxido de calcio como medicación del sistema de conductos radiculares en endodoncia regenerativa. (56)

6.3.- Moxifloxacino

Es una 8-metoxiquinolona de amplio espectro antibacteriano que incluye a patógenos respiratorios típicos, atípicos e intracelulares, Gram-negativos y bacterias anaerobias estrictas. También es activo frente a microorganismos resistentes a penicilinas, macrólidos, tetraciclinas y algunas quinolonas.

Desde 2004 más ampliamente ha sido estudiado, mostrando una excelente biodisponibilidad, prolongada vida media y buena penetración tisular. Además tiene muy buena tolerancia.

El moxifloxacino presenta buena actividad in vitro contra E. Faecalis y parece ser una buena alternativa para pacientes alérgicos a la penicilina o aquellos que muestran resistencia a los antibióticos prescritos normalmente.

Limeres J. (2007), investigó el espectro de acción in vitro del moxifloxacino, se exponen a continuación los resultados. (50)

BACTERIAS GRAM-POSITIVAS

El moxifloxacino es muy activo contra *Streptococcus pneumoniae*. En un estudio realizado en aislamientos, que incluían cepas altamente resistentes a penicilina, se obtuvo una actividad antibacteriana resultó 5 veces superior a la de levofloxacino. También es muy activo frente a estafilococos y *Mycobacterium tuberculosis*.

BACTERIAS GRAM-NEGATIVAS

El moxifloxacino ha demostrado una importante actividad frente a bacterias Gramnegativas responsables de infecciones de las vías respiratorias, como *Haemophilus influenzae*, *Moxarella catarrhalis* y *Klebsiella pneumoniae*. Su espectro incluye también bacterias resistentes a ampicilina, ceftazidima, bacterias productoras de betalactamasas y ha mostrado una actividad moderada frente a *Pseudomonas*.

GÉRMENES ATÍPICOS

Se han obtenido resultados satisfactorios frente a microorganismos como *Legionella* spp., *Mycoplasma* spp. y *Chlamydia pneumoniae*,

ANAEROBIOS

Se obtuvo sensibilidad bacteriana frente a moxifloxacino en los géneros: *Clostridium* spp., *Fusobacterium* spp., *Eubacterium* spp., *Prevotella* spp., *Peptostreptococcus* spp., así como *Propionibacterium acnes* y algunas cepas de *Bacteroides* spp.

7.- ESTUDIOS RECIENTES

Estudios clínicos de bajo nivel, que consisten principalmente en series de casos y los informes de casos dominan la literatura, pero tienen escasa confiabilidad en el establecimiento de procesos y protocolos de acción, evidenciando la necesidad de realizar ensayos clínicos aleatorizados. Por lo tanto, ya que el nivel de la mejor evidencia disponible no fue lo suficientemente alta, las conclusiones no pudieron dar con un resultado definitivo con respecto a la endodoncia regenerativa. Sin embargo, la mayoría de los casos presentados en los estudios incluían como resultado, la resolución de la radiolucidez periapical, la continuación del desarrollo de la raíz y eventualmente el cierre apical.(45).

Como se mencionó previamente, el primer artículo clínico que aplicó RET a un diente permanente joven con periodontitis apical, ocupó el protocolo clínico inicial de las técnicas regenerativas (Iwaya, 2001), en el que no se efectuaba instrumentación mecánica, para mantener la vitalidad de las células madre de los tejidos periapicales. La desinfección del conducto radicular se efectuó mediante irrigación con soluciones de hipoclorito de sodio (NaOCl) y peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y se eligió una mezcla de antibióticos como medicación intracanal. La radiografía postoperatoria de 30 meses mostró un cierre apical de la raíz y un engrosamiento de las paredes de la misma. (45).

Desde la publicación de Kontakiotis en 2015 , los estudios posteriores difieren en los protocolos de tratamiento aplicado, incluida la instrumentación mecánica de las paredes del canal, la solución de irrigación utilizada, el medicamento intracanal utilizado, la creación de coágulos sanguíneos intracanal y el uso de barreras coronales.(45)

En la mayoría de los artículos clínicos, se usa una combinación de antibióticos en forma de pasta como medicamento intracanal, basándose en la capacidad de la pasta antibiótica para eliminar las bacterias que colonizan los túbulos dentinarios, coincidiendo con la recomendación de la AAE para el uso de pasta antibiótica o pasta de Ca (OH) 2, sin embargo, estudios in vitro han demostrado que las pastas de antibióticos en concentraciones iguales o superiores a 1 mg/ml son perjudiciales para la supervivencia de las SCAP, a diferencia de Ca (OH) 2 que promovió la proliferación de las SCAP. (44,46), factor importante de considerar si se tiene en cuenta que la supervivencia y diferenciación de células madre mesenquimatosas, como las SCAP, en el espacio del conducto radicular en un procedimiento regenerativo, es crucial para la regeneración del complejo pulpa-dentina.

Aunque los procedimientos clínicos de endodoncia regenerativa a menudo resultan en la resolución de signos y síntomas de patología, en el crecimiento y desarrollo radicular y, a veces, el restablecimiento de la vitalidad, la naturaleza de los tejidos formados en este procedimiento y su previsibilidad son cuestionables. De hecho, la mayoría de los informes de histología humana y animal después de estos procedimientos demuestran la formación de un tejido mineralizado a lo largo de las paredes dentinales que se asemeja al cemento u osteodentina. Por lo tanto, parece que actualmente los procedimientos de endodoncia regenerativa no regeneran el tejido que se asemeja al complejo pulpodentinario con exactitud. Además, la cinética del desarrollo de la raíz radiográfica requiere años de

seguimiento, lo que se contrapone con estudios preclínicos de ingeniería tisular que demuestran el cierre apical dentro de los 3 meses. Por lo tanto, existe una fuerte necesidad de investigación optimizando el protocolo de tratamiento para regeneración clínica en endodoncia. (33).

Según Turka y Ales Fidlerb en 2015, los tipos y los tiempos de aplicación de los medicamentos utilizados para la endodoncia regenerativa deben optimizarse para proporcionar el máximo efecto antimicrobiano, mientras crea un ambiente favorable para la unión de células madre y la adhesión de los cementos bioactivo

RESULTADOS

De los 38 artículos utilizados en esta revisión, solo seleccionamos 10 de ellos, aquellos que contaran con los datos completos (número de casos usados) y que no fuesen revisiones bibliográficas.

Tabla N° 1. Resumen de estudio encontrados

N°	AÑO	REVISTA	AUTOR	N° CASOS	MEDICACIÓN
1	2012	JOE	Nikita B. Ruparel	2 muestras de células madre	TAP, DAP, TAP modificado (ciprofloxacina, metronidazol y cefaclor), Augmentin/ amoxicilina con ácido clavulánico (Champs Pharmacy, San Antonio, TX) e Ca (OH) 2 n = 6 por grupo.
2	2013	International Journal of Immunopathology & Pharmacology	N. Mandras	29 muestras de bacterias obtenidas de canales radiculares	Una mezcla de ciprofloxacina (2 ug / ml), metronidazol (8 ug / ml) y minociclina (4llg / ml): 3-MIX S; -Una mezcla de ciprofloxacina (2 µg / ml), metronidazol (8 µg / ml) y fosfomicina (64ug / ml): 3-MIX F; -Una mezcla deciprofloxacina (2 llg /ml), metronidazol (8 ug / ml) y claritromicina (2 ug /ml): 3-MIX C; -Una mezcla de ciprofloxacina (2 ug / ml) y metronidazol (8 ug / ml): 2- MIX. De cada muestra se obtuvieron CFU en las que se probaron todas las pastas.
3	2013	JOE	Adriana de Jesus Soares	1 diente	Hidróxido de calcio asociado con gel de clorhexidina 2%.
4	2014	JOE	Panupat Phumpatratom y Tanida Srisuwan,	30 muestras de papila apical	Ciprofloxacina (Khandelwal, Mumbai, India), metronidazol (Piramel Healthcare, Gujarat, India) y la minociclina (Qualimed, Samut Prakarn, Tailandia) pesado y disuelto por separado en agua destilada desionizada y luego se esteriliza pasando a través de papeles filtrantes de 2 mm (Whatman; Maidstone, Kent, UK) y microfiltros de 0.2 mm 2 grupos (1 de control y 1 de tratamiento).

5	2014	JOE	Riyadh I. Althumair y	24 muestras de células de papila apical	TAP (Farmacia de Champs, San Antonio, TX) que contiene metronidazol, ciprofloxacina y minociclina en una proporción de 1: 1: 1 y DAP (Farmacia de Champs) que contiene metronidazol y ciprofloxacina en una proporción de 1: 1 mezclada con agua para generar TAP y DAP a concentraciones de 1 mg / ml (una consistencia acuosa) o 1000 mg / mL (una consistencia de pasta). El hidróxido de calcio se usó el disponible comercialmente (Ultracal; Ultradent, South Jordan, UT). 5 grupos n= 4.
6	2015	Clin Oral Invest	Alaa H. A. Sabrah, Ghaeth H. Yassen	30 muestras para cultivos bacterianos	Triple pasta antibiótica (TAP), pasta triple antibiótica diluida (DTAP) e hidróxido de calcio (Ca [OH] 2); 3 grupos n= 10.
7	2015	Biotechnology & Biotechnological Equipment	Tugba Turka y Ales Fidlerb	102 dientes	Hidróxido de calcio (CH) o triple medicamento antibiótico en pasta (TAP) durante dos semanas. 3 grupos n=34 (2 de tratamiento y 1 de control).
8	2015	Journal of endodontics	Ghaeth H. Yassen	50 dientes	Efectividad de las diferentes diluciones de TAP y DAP (0.125, 0.25, 0.5, 1, y 10 mg/ml) 4 grupos de tratamiento y 1 grupo de control n= 10.
9	2016	JOE	Azza Tagelsir	64 muestras de cultivos bacterianos	Hidróxido de calcio (Ca [OH] 2), 500 mg / ml de doble pasta antibiótica (DAP, partes iguales de metronidazol) y ciprofloxacina), diluciones bajas de DAP (1 o 0.1 mg / mL cargado en un sistema de vehículo de metilcelulosa), estéril solución salina, o pasta de placebo (solo metilcelulosa) para 7 días. 8 grupos de tratamiento n= 8.
10	2017	J Appl Oral Sci.	Luciane Geanini Pena dos Santos	50 dientes	TAP (ciprofloxacino, metronidazol y minociclina) TAPM (ciprofloxacina, metronidazol, amoxicilina), DAP (ciprofloxacino y

					metronidazol) Hidróxido de calcio 4 grupos de tratamiento y 1 grupo de control n= 10
--	--	--	--	--	---

De los 38 artículos seleccionados entre 2012-2017, 10 de ellos contaban con datos completo de número de casos y de las medicaciones utilizadas en la terapia de regeneración endodóntica. Los estudios fueron desarrollados en distintos países, siendo 6 de estos publicados por la revista Journal of Endodontics (JOE), Solo el autor Ghaeth Yassen se repite en dos estudios diferentes publicados el mismo año 2015, diferenciándose en el tipo de muestra .

Tabla N° 2. Tipos de medicaciones usadas.

N° DE ESTUDIOS	MEDICACIÓN USADA
9	PASTA ANTIBIÓTICA TRIPLE, DOBLE, MODIFICACIONES DE ESTAS O SUS DILUCIONES. ciprofloxacina, metronidazol y cefaclor ciprofloxacina, metronidazol y minociclina 3-MIX S o TAP original ciprofloxacina, metronidazol y fosfomicina 3-MIX F deciprofloxacina, metronidazol y claritromicina 3-MIX C ciprofloxacina y metronidazol 2- MIX o DAP ciprofloxacina, metronidazol y amoxicilina amoxicilina y ácido clavulánico
1	HIDRÓXIDO DE CALCIO ASOCIADO CON GEL DE CLORHEXIDINA 2%

Las medicaciones utilizadas fueron pastas antibióticas y el Hidróxido de Calcio. Las pastas antibióticas mas utilizadas fueron las TAP que contiene metronidazol, ciprofloxacina y minociclina, DAP, constituida de metronidazol y ciprofloxacino en proporción 1:1, y por último la TAPM compuesta por ciprofloxacina, metronidazol y amoxicilina, siendo estas pastas modificadas tanto en su concentración como en su dilución. Cinco estudios compararon el efecto del hidróxido de calcio frente a las pastas antibióticas y/o sus diluciones. Solo un estudio no ocupo las pastas antibióticas, realizando su investigación asociando el hidróxido de calcio con un gel de clorhexidina al 2%.

Tabla N° 3. Tipos de muestras usadas.

N° de estudios	Tipo de muestras usadas	Resultados obtenidos mayoritariamente
3	Células madre de papila apical	<p>Los antibióticos usados son concentración dependiente en la viabilidad de células SCAPs</p> <p>TAP en las concentraciones 1, 10, y 100 mg / ml resultaron en 58.0% 12.4%, 8.0% 1.8%, y 1.3% 0.5% de supervivencia de SCAP, respectivamente.</p> <p>Se observaron resultados similares para DAP, mTAP e hidróxido de calcio.</p>
3	Cultivos bacterianos	<p>El porcentaje de reducción bacteriana en 3-MIX C y 3-MIX F (99.49% y 97.31% respectivamente) fue mayor que el logrado en 3-MIX S y 2-MIX (92.95% y 88.46% respectivamente) de acuerdo con la carga bacteriana, la diferencia entre los grupos es estadísticamente significativo (P <0.05).</p>
4	Muestras de dientes (humanos o de animales)	<p>Los tipos y los tiempos de aplicación de los medicamentos utilizado para RET deben ser optimizados para proporcionar el máximo efecto antimicrobiano, mientras se crea un ambiente favorable para la unión de células madre y no interferir en la adherencia del cemento a usar (ya sea MTA o biodentine).</p> <p>Si bien se ha demostrado que TAP es la pasta que mayormente modifica el color dentario, usando técnicas de clareamiento dental, se puede recuperar satisfactoriamente el color dental.</p>

En cuanto al tipo de muestras utilizadas 4 fueron desarrollados en dientes humano y 202 en animales, 3 en cultivos bacteriano y el mismo numero para células madre de la papila-apical.

DISCUSIÓN

La terapia de endodoncia regenerativa se inició sustancialmente a principios de la década de 2000. Desde entonces, y según un análisis clínico realizado por Evangelos G. Kontakiotis et al en 2015, se han llevado a cabo aproximadamente 60 estudios relevantes. La mayoría de ellos (66%) se han publicado entre los años 2012 y 2014. Al examinar esas publicaciones, varias variaciones en el protocolo clínico para la terapia pulpar guiada se pudieron identificar. A su vez también pudieron concluir que la falta de altos niveles de evidencia para el resultado de la terapia, inhibe el desarrollo de un buen protocolo estandarizado y aceptado por toda la comunidad endodóntica. (46).

Para nuestro estudio encontramos 38 estudios en los que se usaban protocolos para terapia de revascularización, pero no todos contaban con especificaciones sobre sus protocolos, por lo que para confeccionar nuestras tablas, usamos aquellos que contaban con toda la información que necesitábamos (número de muestra, medicamentos usados) que eran 10 estudios.

A pesar del aumento dramático en el número de publicaciones e informes / series de casos en endodoncia regenerativa, ha quedado claro que no se ha establecido un protocolo estandarizado para estos procedimientos. Sin embargo, una característica común en estos casos es el esfuerzo en controlar la infección como el primer paso hacia un exitoso procedimiento. Los medicamentos intracanal son una intervención farmacológica clave utilizada para lograr este objetivo.

A pesar que la literatura analizada indica que el uso de pastas antibióticas tendrían un efecto citotóxicos para la viabilidad de las células madre aún se siguen utilizando en gran medida como podemos ver en la tabla 1 de los 10 estudios analizados 9 de ellos usan pastas antibióticas.

Ruparel et al, en 2012 mostraron que los medicamentos y las concentraciones de estos, actualmente utilizado en procedimientos de endodoncia regenerativa, con la excepción de Ca (OH) 2, tienen un efecto perjudicial sobre la supervivencia de SCAP. Así, estos hallazgos sugieren que los medicamentos utilizados en procedimientos regenerativos necesitan ser cuidadosamente seleccionados y utilizados en concentraciones adecuadas para tener la eficacia antibacteriana pertinente y aún no evocar toxicidad a las células. (43)

TAP en las concentraciones 1, 10, y 100 mg / ml resultaron en 58.0% 12.4%, 8.0% 1.8%, y 1.3% 0.5% de supervivencia de SCAP, respectivamente. Por el contrario, las más bajas concentraciones de 0.1 y 0.01 mg / mL no tuvieron efectos detectables en la supervivencia de SCAP. Se observaron resultados similares para DAP, mTAP (modificado con cefaclor) y Augmentin (amoxiciclina y ácido clavulánico)

Si bien, se sabe que la minociclina puede producir decoloración dentaria, se sigue usando en los estudios a lo largo de los años y sirve como patrón de referencia. 8 de los 10 estudios usó minociclina.

Según los resultados obtenidos en 2013 por Mandras et al. el porcentaje de reducción bacteriana en 3-MIX C y 3-MIX F (99.49% y 97.31% respectivamente) fue mayor que el logrado en 3-MIX S y 2-MIX (92.95% y 88.46% respectivamente) de acuerdo con la carga bacteriana, la diferencia entre los grupos es estadísticamente significativo ($P < 0.05$). Por lo que se podría suponer que la claritromicina tendría las propiedades antimicrobiana necesarias para sugerir su uso clínico como un medicamento antimicrobiano endodóntico en terapias de revascularización.

En un reporte de caso de 2013, Soares publicó que se puede usar gel de clorhexidina al 2% para el tratamiento de conductos radiculares inmaduros necróticos en combinación con hidróxido de calcio. En su reporte, durante el período de seguimiento, el espacio del conducto radicular mostró una disminución progresiva en el ancho, una aposición de tejidomineralizado en las paredes del conducto radicular y cierre apical. Una tomografía computarizada con haz de cono tomada en el seguimiento de 2 años confirmó estos hallazgos y no mostró obliteración por calcificación del conducto radicular.

Lo más nuevo fue realizado el 2017 por Luciane Geanini Pena dos Santos et al, quienes hicieron un análisis espectométrico para ver la variación de color de los dientes sometidos a la terapia pulpar guiada usando las medicaciones más comunes: TAP (ciprofloxacino, metronidazol y minociclina), TAPModificado (ciprofloxacino, metronidazol, amoxicilina), DAP (ciprofloxacino, metronidazol) e hidróxido de calcio. Obteniendo como resultados que todas las medicaciones varían en un cierto grado el color dentario, siendo TAP el material que induce una modificación más intensa del color. Por otro lado, el material de sellado cervical (MTA blanco) no interfiere en la decoloración dental. Sin embargo, el clareamiento dental fue capaz de recuperar, al menos parcialmente, y en una primera aplicación, el color dentario. (58)

En un estudio también realizado en 2017, se analizaron otros materiales que podrían incorporarse en la terapia de revascularización. Determinando que los materiales alcalinos juegan un papel integral en los procedimientos endodónticos regenerativos como desinfectantes irrigantes, medicamentos intracanal y cementos usados para la creación de una barrera intracanal sobre el coágulo de sangre. Nombrando entre ellos al biodentine; el material enriquecido en calcio (CEM) que se compone principalmente de óxido de calcio, trióxido de azufre, pentóxido de fósforo y silicio dióxido, que se mezcla con agua, es un material alcalino con un pH de 10.7, tiene un tiempo de fraguado más corto que MTA y capacidad de sellado similar y propiedades biológicas; y finalmente al EndoSequence Bioceramic Putty que es una masilla lista para usar que consiste principalmente de silicato de calcio, fosfato de calcio monobásico, óxido de zirconio y óxido de tántalo. El fabricante dice que la humedad presente en los túbulos dentinarios es suficiente para que el material fragüe, tiene un pH mayor que 12; por lo tanto, es un material alcalino, además tiene una capacidad de sellado similar y propiedades biológicas de MTA. Pero estos 2 últimos materiales han sido

usados solo en un estudio cada uno respectivamente. (59). Por lo que se requieren más estudios al respecto.

Un tema fundamental es que los estudios son realizadas ex vivo e in vitro para analizar el efecto antibiótico de las pastas, o reduciendo la evidencia in vivo a reportes de casos. Es por esto que según Agrafioti et al. en 2015, sin lugar a dudas, existe la necesidad de ensayos controlados aleatorios relacionado con Terapia pulpar guiada. La falta de altos niveles de evidencia dificulta el desarrollo de un protocolo clínico bien estandarizado junto con un determinación exhaustiva de los factores pronósticos sobre el resultado de la terapia. Sin embargo, los estudios existentes revelan una modalidad de tratamiento con resultados clínicos y radiográficos muy alentadores. El nivel de la evidencia disponible puede no ser ideal, pero esto no debe retener al clínicos de tomar la decisión de administrar a sus pacientes este tratamiento. (46)

CONCLUSIONES

1.- Los medicamentos utilizados en las terapias de revascularización son 3: la pasta triple antibiótica, la pasta biantibiótica y el hidróxido de calcio. Existiendo a su vez variantes o modificaciones de las TAP, reemplazando la minociclina por otro antibiótico (cefaclor, claritromicina, fosfomicina, amoxicilina) con propiedades similares pero que no tienen el efecto de tinción de la minociclina.

2.- La medicación que presenta mayor estudios compete al hidróxido de calcio, presentándose en el 100% de los estudios analizados. Por ser el más inocuo sobre las células madre, fue ampliamente utilizado en los grupos de control, obteniendo resultados satisfactorios.

3.- De los estudios analizados la medicación que demostró mejores resultados antimicrobianos clínicos y de laboratorio con mínimas complicaciones fue el Hidróxido de Calcio.

SUGERENCIAS

La AAE ha desarrollado consideraciones de tratamiento basadas en una revisión de estudios de casos en 2013, y el documento se actualizó en 2015 y está disponible en el sitio web de AAE. Sin embargo, la AAE hace un llamamiento a los practicantes que usan este protocolo para que investiguen activamente los nuevos hallazgos dada la naturaleza en rápida evolución de este campo. (56)

Se están llevando a cabo consideraciones para extender los procedimientos de endodoncia regenerativa a los dientes permanentes, tal como se realizó en los estudios de Paryani y Kim en 2013 y de Saoud en 2015. Se demostró que incluso en los dientes con formación de raíz completa, la provocación de hemorragia en el canal provoca una afluencia de células madre mesenquimales (MSC). Estas células expresaron marcadores MSC, mostraron un potencial de diferenciación distinto y se encontraron compartimentadas en el nicho perivascular en las lesiones perirradiculares. Este aspecto interesante abre nuevas perspectivas y ofrece una base biológica para tales procedimientos en dientes permanentes. Sin embargo, desde un punto de vista biológico y de desarrollo, parece más probable lograr la reparación en lugar de la regeneración en estos casos. (57)

No existen protocolos de seguimiento estandarizados para procedimientos de endodoncia regenerativa. Los períodos de seguimiento en la literatura varían de 6 meses según Jeeruphan en 2012 a 5 años según Jung en 2008. Los puntos de tiempo factibles para la retirada son a los 3, 6, 12, 18 y 24 meses, después de eso anualmente durante los próximos 5 años. Cada 3 meses durante el primer año, los retiros de 6 meses a menos que se desarrollen síntomas clínicos. (56)

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Feigin K, Shope B. Regenerative Endodontics . Journal of Veterinary Dentistry 2017, Vol. 34(3) 161-178 .
- 2.- Andreasen JO, Farik B, Munksgaard EC. Long-term calcium hydroxide as a root canal dressing may increase the risk of root fracture. Dent Traumatol. 2002;18(3):134-137 .
- 3.- Kim S, Review Infection and Pulp Regeneration, Dent. J. 2016, 4, 4; doi:10.3390/dj4010004.
- 4.- Yang J, Yuan G and Chen Z (2016) Pulp Regeneration: Current Approaches and Future Challenges. Front. Physiol. 7:58. doi: 10.3389/fphys.2016.00058
- 5.- Yassen, G. H., Sabrah, A. H. A., Eckert, G. J., & Platt, J. A. (2015). Effect of Different Endodontic Regeneration. Protocols on Wettability, Roughness, and Chemical Composition of Surface Dentin. Journal of Endodontics, 41(6), 956–960. <http://doi.org/10.1016/j.joen.2015.02.023>.
- 6.- G Pankaj, G Sneha, S Heeresh. Regenerative Endodontics: An Evidence Based Review. J Cont Med A Dent January-April 2015 Volume 3 Issue 1 .
- 7.- Hargreaves KM, Diogenes A, Teixeira FB. Treatment options: biological basis of regenerative endodontic procedures. J Endod. 2013;39(suppl 3):S30-S43
- 8.- Iwaya SI, Ikawa M, Kubota M. Revascularization of an immature permanent tooth with apical periodontitis and sinus tract. Dent Traumatol. 2001;17(4):185-187.
- 9.- Miltiadous, Maria-Elpida A. and FLORATOS, Spyros G. Regenerative Endodontic Treatment as a Retreatment Option for a Tooth with Open Apex. A Case Report. Braz. Dent. J. [online]. 2015, vol.26, n.5, pp.552-556. ISSN 0103-6440. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-644020130218>.
- 10.- Agrafioti A, Deimezi M, Evangelos K: The Decision for Regenerative Endodontics Therapy. Int J Stem Cell Res Ther 2015, 2:008
- 11.- Colombo J, Moore A. Scaffolds to Control Inflammation and Facilitate Dental Pulp Regeneration. J Endod. 2014 April ; 40(4 0): S6–12. doi:10.1016/j.joen.2014.01.019.
- 12.- ROSALES-IBÁÑEZ ET AL, Tissue Engineering in Dentistry REVISTA ADM 2012;69(4): 164-167 .

- 13.- Segdley CM et al. Dental Stem Cells and Their Sources. Dental Clinics of North America Volume 56, Issue 3, July 2012, Pages 549-561.
- 14.- Bairo F, Vitale-Brovarone C. Three-dimensional glass-derived scaffolds for bone tissue engineering. J Biomed Mater Res A 2011;97(4):514-535
- 15.- Kretlow JD. Young S, Klouda L. Wong M. Mikos AG. Injectable biomaterials for regenerative complex craniofacial tissues. Adv Mater 2009;21(32-33):3368-3393.
- 16.- Alastair S, Waddington R. Dental pulp stem cells: what where, how? International J of Paediatric dentistry 2009 ; 19:61-70.
- 17.- Egusa H, Sonoyama W, Nishimura M, Atsuta I, Akiyama K. Stem cells in dentistry—part I: stem cell sources. J Prosthodont Res 2012; 56: 151–165.
- 18.- Hargreaves K, Geisler T: Regeneration potential of Young permanent tooth: what does the future hold? J Endod 2008; 34:S51-S56.
- 19.- Honda M, Imaizumi: Dental follicle stem cell and tissue engineering. Journal of oral science , 2010 ; 52(4):541-552.
- 20.- Zhang W, Yelick P: Vital pulp therapy: current progress of dental pulp regeneration and revascularization. International Journal of Dentistry 2010; 1-9.
- 21.- Sonoyama W, Yamaza T, Tuan R: Characterization of the apical papilla and its residing stem cells from human immature permanent teeth : a pilot study . J Endod 2008; 34: 166-171.
- 22.- Evangelos G. Kontakiotis, et al. Regenerative Endodontic Therapy: A Data Analysis of Clinical Protocols. J Endod 2015; 41:146-156.
- 23.- Law AS. Consideration for regeneration procedures. J Endod 2013; 39:S44-56.
- 24.- Peter E. Murray, Constructs and Scaffolds Employed to Regenerate Dental Tissue, Dent Clin N Am ,2012,56 ,577– 588.
- 25.- Kim SH, Turnbull J, Guimond S. Extracellular matrix and cell signalling: the dynamic cooperation of integrin, proteoglycan and growth factor receptor. J Endocrinol 2011;209:139–151
- 26.- Almeida HA, Bartolo PJ. Structural and vascular analysis of tissue engineering scaffolds, part 2: topology optimisation. Methods MolBiol 2012;868:209–36.
- 27.- Yu N, Plachokova A, Yang F, Walboomers XF, Jansen JA. Engineering of Dental Tissues: Scaffolds and Preclinical Models. Stem Cells in Craniofacial Development and Regeneration. 2013:409–429.
- 28.- Payal K, Levi B. Resolvins and protectins: mediating solutions to inflammation. BJP ; Volume 158, 2009:960–971.

- 29.- Bansal R: Regenerative endodontics : a state of the art. Indian J Dent Res 2011 ; 22:122-131.
- 30.- Estrela C, Alencar A, Kitten G, Vencio E: Mesenchymal stem cell in the dental tissues : perspectives for tissues regeneration. Braz Dent J 2011 ; 22 (2) : 91-98
- 31.- Banchs F, Trope M: Revascularization of Immature Permanent Teeth With Apical Periodontitis: New Treatment Protocol?. J Endodontics April 2004 Volume 30, Issue 4, Pages 196–200
- 32.-Effect of Dentin Conditioning with Intracanal Medicaments on Survival of Stem Cells of Apical Papilla Riyadh I. Althumairy, DDS, Fabricio B. Teixeira, DDS, MS, PhD, and Anibal Diogenes, DDS, MS, PhD. 2013
- 33.-Diogenes A, Henry MA, Teixeira FB, Hargreaves KM. An update on clinical regenerative endodontics. Endod Topics 2013;28:2–23.
- 34.-Regenerative Capacity of Human Dental Pulp and Apical Papilla Cells after Treatment with a 3-Antibiotic Mixture Panupat Phumpatrakom, DDS,* and Tanida Srisuwan, DDS, Dip Clin Dent, PhD. 2014
- 35.-The effect of diluted triple and double antibiotic pastes on dental pulp stem cells and established Enterococcus faecalis biofilm Alaa H. A. Sabrah & Ghaeth H. Yassen & Wai-Ching Liu & W. Scott Goebel & Richard L. Gregory & Jeffrey A. Platt. 2015
- 36.-Effect of Antimicrobials Used in Regenerative Endodontic Procedures on 3-week-old Enterococcus faecalis Biofilm Azza Tagelsir, BDS, MSD, Ghaeth H. Yassen, BDS, MSD, PhD, Grace F. Gomez, BDS, MPH, and Richard L. Gregory, PhD. 2016
- 37.-Effect of medicaments used in endodontic regeneration technique on push-out bond strength of MTA and Biodentine Tugba Turka and Ales Fidlerb. 2015.
- 38.-Yassen GH, Vail MM, Chu TG, et al. The effect of medicaments used in endodontic regeneration on root fracture and microhardness of radicular dentine. Int Endod J. 2013;46:688695.
- 39.-Elnaghy AM. Influence of acidic environment on properties of biodentine and white mineral trioxide aggregate: a comparative study. J Endod. 2014;40:953957.
- 40.-Topcuoğlu HS, Arslan H, Akcay M, et al. The effect of medicaments used in endodontic regeneration technique on the dislocation resistance of mineral trioxide aggregate to root canal dentine. Int Endod J. 2014;46:688695.

- 41.- Effect of Different Endodontic Regeneration Protocols on Wettability, Roughness, and Chemical Composition of Surface Dentin Ghaeth H. Yassen, BDS, MSD, PhD,* Alaa H.A. Sabrah, BDS, MSD, PhD,*† George J. Eckert, MAS,‡ and Jeffrey A. Platt, DDS, MS*. 2015.
- 42.- Antibacterial efficacy and drug-induced tooth discolouration of antibiotic combinations for endodontic regenerative procedures n. Mandrasl, 1 roanal, y.allizondl, d.pasqualinf, p.crosass03, m.burland03, g.banchel, t.denisova2, e.berutfanda.m.cuffinp. 2013.
- 43.- Direct Effect of Intracanal Medicaments on Survival of Stem Cells of the Apical Papilla Nikita B. Ruparel, DDS, MS, PhD,* Fabricio B. Teixeira, DDS, MS, PhD,* Caio C.R. Ferraz, DDS, MS, PhD,† and Anibal Diogenes, DDS, MS, PhD*. 2012.
- 44.- Kontakiotis EG, Filippatos CG, Agrafioti A (2014) Levels of evidence for the outcome of regenerative endodontic therapy. J Endod 40: 1045-1053.
- 45.- The Decision for Regenerative Endodontic Therapy Anastasia Agrafioti, Maria Deimezi and Evangelos G. Kontakiotis*. 2015.
- 46.-Kontakiotis EG, Filippatos CG, Tzanetakis GN, Agrafioti A (2015) Regenerative endodontic therapy: a data analysis of clinical protocols. J Endod 41: 146-154.
- 47.-L. Rodríguez-Varo, J. Pumarola, C. Canalda. “Acción antimicrobiana in vitro de distintas medicaciones sobre Enterococcus faecalis y Actinomyces israelii”. Endodoncia 2009; 27 (Nº1):7-12.
- 48.- Regenerative Endodontic Therapy: A Data Analysis of Clinical Protocols Evangelos G. Kontakiotis, DDS, PhD, Christos G. Filippatos, DDS, Giorgos N. Tzanetakis, DDS, MSc, and Anastasia Agrafioti, DDS, PhD. 2015.
- 49.- Varalakshmi R Parasuraman, Banker Sharadchandra Muljibhai. “3Mix- MP in Endodontics – An overview”. Journal of Dental and Medical Sciences (JDMS) ISSN: 2279-0853, ISBN: 2279-0861. Volume 3, Issue 1 (Nov.- Dec. 2012), PP 36-45.
- 50.-medicacion intraconducto en endodoncia. Dra. Francisca Burgos Zamorano. Cirujano Dentista. Postgrado Endodoncia, Universidad de Valparaiso. Agosto 2013.
- 51 .- Dr. Kiran N K1, Dr. Mukunda K S2, Dr.Tilak Raj T N3.Platelet Concentrates: A Promising Innovation In Dentistry. Journal of Dental Sciences and Research. Volume 2 Issue 1. February 2011
- 52.- Jordi Rodríguez Flores, María Angustias Palomar Gallegob y Jesús Torres García-Dencheb. Plasma rico en plaquetas: fundamentos biológicos y aplicaciones en cirugía maxilofacial y estética facial. r e v e s p c i r o r a l m a x i l o f a c . 2 0 1 2 ; 3 4 (1) : 8 – 1 7

- 53.- Dohan DM, Choukroun J, Diss A, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second- generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2006; 101:e37–e44.
- 54.- Serrato Ochoa, D., Nieto Aguilar, R., Aguilera Méndez, A. Ingeniería de tejidos. Una nueva disciplina en medicina regenerativa. Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes. Número 64: 61-69, enero-abril 2015.
- 55- Regeneration and Repair in Endodontics—A Special Issue of the Regenerative Endodontics—A New Era in Clinical Endodontics Tarek Mohamed A. Saoud 1 , Domenico Ricucci 2 , Louis M. Lin 3,* and Peter Gaengler 4 27 February 2016 dentistry journal
- 56- AAE Clinical Considerations for a Regenerative Procedure Revised , available online:https://www.aae.org/uploadedfiles/publications_and_research/research/currentregenerativeendodonticconsiderations.pdf (accessed on 25 February 2016).
- 57- procedimientos clínicos para la revitalización: conocimiento actual y consideraciones km galler. 30 de diciembre de 2015.international endodontic journal
- 58.- Crown discoloration promoted by materials used in regenerative endodontic procedures and effect of dental bleaching: spectrophotometric analysis. Luciane Geanini Pena dos SANTOS. J Appl Oral Sci. 2017;25(2):234-42
- 59- Alkaline Materials and Regenerative Endodontics: A Review Bill Kahler 1,* ID , Nadia Chugal 2 and Louis M. Lin 3 Published: 5 December 2017
- 60.- Méndez GV y cols. Revascularización en dientes permanentes con ápice inmaduro y necrosis pulpar , Revista ADM 2014; 71 (3): 110-114.
- 61.- Murray PE, Garcia-Godoy F, Hargreaves KM. Regenerative endodontics: a review of current status and a call for action. J Endod. 2007; 33: 377-390.

