

FACULDADE SETE LAGOAS- FACSETE

Lucas Torres de Oliveira

**ANÁLISE DOS PROTOCOLOS PARA TÉCNICA DE REGENERAÇÃO PULPAR EM
DENTES COM RIZOGÊNESE INCOMPLETA E NECROSE DESCRITOS NA
LITERATURA**

Osasco - SP

2022

Lucas Torres de Oliveira

**ANÁLISE DOS PROTOCOLOS PARA TÉCNICA DE REGENERAÇÃO PULPAR EM
DENTES COM RIZOGÊNESE INCOMPLETA E NECROSE DESCRITOS NA
LITERATURA**

Monografia apresentada ao curso de especialização da Faculdade Sete Lagoas – FACSETE, como requisito parcial para obtenção do título de Especialista em Endodontia.

Área de Concentração: Endodontia

Orientadora: Profa. Dra. Alessandra
Fonseca Gambini

Osasco-SP

2022



Lucas Torres de Oliveira

ANÁLISE DOS PROTOCOLOS PARA TÉCNICA DE REGENERAÇÃO PULPAR EM DENTES COM RIZOGÊNESE INCOMPLETA E NECROSE DESCRITOS NA LITERATURA

Trabalho de conclusão de curso de especialização *Lato sensu* da Faculdade Sete Lagoas, como requisito parcial para obtenção do título de especialista em Endodontia

Área de concentração: Endodontia

Aprovada em ___/___/___ pela banca constituída dos seguintes professores:

Profa. Dra. Alessandra Fonseca Gambini - ABO OSASCO

Prof. Dr. Marcelo dos Santos – ABO OSASCO

Profa. Dra. Laila Gonzales Freire – ABO OSASCO

Osasco, 02 de junho de 2022

RESUMO

Em casos de necrose pulpar em dentes permanentes com rizogênese incompleta, a regeneração pulpar é um tratamento que apresenta resultados promissores na endodontia. O objetivo dessa revisão bibliográfica é analisar os protocolos de tratamento descritos na literatura. Foram selecionados 18 artigos nas bases de dados: PUBMED, SCIELO, BIREME e Portal de Periódicos CAPES. Concluiu-se a importância de não realizar a instrumentação para a manutenção das células-tronco presentes no canal radicular e da papila apical. Além disso, a solução irrigadora deve realizar uma descontaminação com o mínimo de agressão às células pulpares, sendo assim, o hipoclorito de sódio em baixa concentração apresentou melhor resultado quando comparado à clorexidina. Quando analisado as medicações intracanal, a pasta de hidróxido de cálcio apresentou uma menor toxicidade às células da papila apical, diferente das pastas com antibióticos, que podem reduzir as células viáveis. O uso do PRF e PRP apresentam resultados positivos no tratamento. Para a realização do selamento final, o MTA possuem melhores resultados quando comparado ao Biodentine. A descontaminação do canal radicular é importante para o tratamento de regeneração, para que possibilite um ambiente adequado para a diferenciação celular e a formação de um novo tecido.

Palavras-chave: Regeneração pulpar. Solução irrigadora. Medicação intracanal.

ABSTRACT

In cases of pulp necrosis in permanent teeth with incomplete root formation, pulp regeneration is a treatment that shows promising results in endodontics. The objective of this literature review is to analyze the treatment protocols described in the literature. Seventeen articles were selected from the following databases: PUBMED, SCIELO, BIREME and CAPES Periodicals Portal. The importance of not performing instrumentation for the maintenance of stem cells present in the root canal and apical papilla is concluded. In addition, the irrigating solution must perform decontamination with minimal aggression to the pulp cells, thus, sodium hypochlorite in low concentration presented better results when compared to chlorhexidine. When analyzing intracanal medications, calcium hydroxide paste showed less toxicity to apical papilla cells, unlike pastes with antibiotics, which can reduce viable cells. The use of PRF and PRP present positive results in the treatment. To the final sealing, MTA has better results when compared to Biodentine. Root canal decontamination is important for regeneration treatment, in order to provide an adequate environment for cell differentiation and the formation of new tissue.

Keywords: Pulp regeneration. Irrigation solution. Intracanal medication.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

EDTA	ácido etilenodiamino tetraacético
MTA	agregado de trióxido mineral
CHX	gluconato de clorexidina
Ca(OH) ₂	hidróxido de cálcio
NaOCl	hipoclorito de sódio
H ₂ O ₂	peróxido de hidrogênio
PRF	plasma rico em fibrina
PRP	plasma rico em plaqueta

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	7
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	9
3	PROPOSIÇÃO	14
4	MATERIAL E MÉTODOS	15
5	DISCUSSÃO	16
6	CONCLUSÕES	18
	REFERÊNCIAS	19

1 INTRODUÇÃO

O tratamento endodôntico de dentes permanentes necrosados com rizogênese incompleta tem sido discutido devido a sua complexidade, uma vez que a necrose impede o desenvolvimento radicular, conforme Banchs *et al.*, (2004). Há algumas opções para esse quadro clínico, podendo induzir a apicificação radicular com trocas de curativo de Ca(OH)_2 , utilização do MTA para confecção de uma barreira apical ou a regeneração pulpar, proposto por Ramezani *et al.*, (2019).

Visando uma terapia endodôntica conservadora, a regeneração pulpar tem como objetivo a diferenciação celular da papila apical e células-tronco para o desenvolvimento radicular, proposto por Banchs *et al.*, (2004). Dessa forma, alguns protocolos tem sido descritas na literatura em relação a descontaminação dos sistemas de canais radiculares e medicação intracanal, para que proporcione um meio viável para a formação de um novo tecido.

Para a manutenção de células viáveis no interior do canal radicular, é descrito a necessidade de não realizar a instrumentação dos condutos radicular, uma vez que esse mecanismo, pode afetar as células presentes. Da mesma forma, as soluções irrigadoras utilizadas e a medicação intracanal devem realizar a diminuição do conteúdo septo-tóxico, porém devem ser o menos agressivos para a papila apical e as células-tronco presentes.

A indução do sangramento e a formação do coágulo no interior canal radicular pode levar células da papila apical e fatores de crescimentos induzem diferenciação de células troncos a formação de um novo tecido, resultando na regeneração pulpar. Partindo desse princípio, Shivashankar *et. al*, (2017), associou PRP e PRF no protocolo de tratamento para potencialização das células e fatores de crescimentos para obterem melhores resultados no tratamento.

Levando em considerações esses aspectos, a terapia de regeneração pulpar, apresenta fatores importantes para o sucesso do tratamento, segundo Lin, *et al.*, (2013). A descontaminação do conteúdo necrótico apresenta parte fundamental para a técnica. Além disso, as medicações e soluções irrigadoras utilizadas manifestam

ação nas células e micro-organismo presentes que podem interferir no resultado da terapia.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Para avaliação do efeito antibacteriano da pasta com ciprofloxacina, metronidazol e minociclina com e sem adição de rifampicina, Hoshino *et al.*, (1996), realizaram um estudo in vitro com bactérias de dentina cariada e polpas infectadas. Observaram que em todas as situações, houve uma diminuição considerável de bactérias, porém não houve sua eliminação total.

Para o tratamento de um segundo pré-molar imaturo com polpa necrótica, Iwaya *et al.*, (2001), realizaram a técnica de regeneração. Para a drenagem do abscesso presente, acessaram a câmara pulpar e a cavidade ficou aberta até as próximas consultas visando a melhora desse quadro. Em seguida, com o abscesso cicatrizado, foi realizada a irrigação do canal radicular com NaOCl 5% H₂O₂ 3%. Utilizaram metronidazol associado a ciprofloxacina como medicação intracanal. Nas consultas seguintes, observaram a presença de tecido vital à 5 mm apical e foi colocado Ca(OH)₂ em contato com o tecido mole do canal. Após 5 meses houve uma diminuição do diâmetro apical e com 30 meses observaram seu fechamento completo.

Devido ao ápice aberto de um pré-molar inferior com edema lingual e lesão periapical, Banchs *et al.*, (2004) optaram em realizar a tentativa de regeneração pulpar. Após acesso e drenagem do conteúdo necrótico, irrigaram o canal com NaOCl 5,25% e CHX 0,12%. Utilizaram uma pasta tri-antibiótica como medicação intracanal durante 26 dias. Na segunda consulta, a medicação foi removida com NaOCl 5,25% e induziram o sangramento até sua coagulação, seguida da colocação de MTA e a cavidade selada. Com 2 anos proervação, o paciente se encontrava assintomático, com o fechamento do ápice e o dente respondendo positivamente ao teste de frio.

Com o objetivo de caracterizar a papila apical e as propriedades de suas células-tronco, Sonoyama *et al.*, (2008), realizaram análises histológicas, imunohistoquímicas e imunofluorescência desse tecido. Notaram que a papila apical se diferencia da polpa por conter menos células e vascularização, porém a proliferação celular é de 2 a 3 vezes maior. Além disso, observaram que a polpa e a papila apical possuem resultados semelhantes na diferenciação osteo/dentinogênico quando comparados à células-tronco mesenquimais de medula óssea, que apresentam menor potencial adipogênico. Em relação à imunofenotipagem da papila apical, se comparam

com as células-tronco mesenquimais na questão do receptor do fator de crescimento e perfis gênicos osteo/dentinogênicos.

Nosrat *et al.*, (2011), relataram dois casos de regeneração de dentes permanentes que apresentavam extensa cárie coronal, rizogênese incompleta e lesão periapical. Para irrigação intracanal, utilizaram NaOCl 5,25% e utilizaram uma pasta tri-antibiótica, com quantidades iguais de metronidazol, ciprofloxacina e minociclina como medicação durante 3 semanas. Após esse período, a medicação foi removida e foi induzido o sangramento dentro dos canais e selamento da embocadura com um cimento biomaterial. Observaram durante o acompanhamento radiográfico a diminuição na lesão periapical e continuação do desenvolvimento das raízes.

Bonan *et al.*, (2011), realizaram uma revisão de literatura com o objetivo de comparar o uso de CHX e NaOCl como irrigante quanto à atividade antimicrobiana, biocompatibilidade, substantividade, dissolução de tecido pulpar, eliminação de lipopolissacarídeos, remoção de smear layer e o uso combinado. Analisaram que as duas soluções possuem efeitos antimicrobianos. A CHX possui melhor biocompatibilidade e substantividade. O NaOCl pode dissolver tecidos orgânicos. Ambos não possuem a capacidade de inativar os lipopolissacarídeos e remover totalmente a smear layer. O uso combinado pode gerar um precipitado com efeitos não são completamente conhecido.

Com o objetivo de avaliar a toxicidade da pasta tri-antibiótica, pasta di-antibiótica e $\text{Ca}(\text{OH})_2$, Ruparel *et al.*, (2012), utilizaram esses medicamentos em diferentes concentrações em células de cultura da papila apical. Observaram que as pastas com antibiótico, em todas as concentrações, houve uma redução no número de células, enquanto com o $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ocorreu uma manutenção das mesmas.

Lin *et al.*, (2013), relataram um caso de insucesso de regeneração do dente 21 com rizogênese incompleta, avulsionado e reimplantando após 40 minutos. Após 16 meses de tratamento, o paciente apresentava dor e edema local, foi optado por extração e o dente submetido à análise histopatológica. Observaram destruição completa do tecido do canal radicular. A maior parte das bactérias estavam presente na porção apical do que na coronária e formação de biofilme nas paredes do canal, penetrando nos túbulos dentinários.

Para avaliar o efeito de diferentes concentrações de NaOCl na sobrevivência de células-tronco da papila apical, Martin *et al.*, (2014), realizaram um estudo com dentes humanos extraídos e irrigados com NaOCl (0,5%, 1,5%, 3% ou 6%) seguido de EDTA

17% ou solução salina estéril. Nos canais, foram semeadas células da papila apical, cultivados por 7 dias e quantificaram as células viáveis. Observaram que o NaOCl com altas concentrações tem um efeito negativo na sobrevivência e diferenciação das células da papila apical, porém esse efeito pode ser evitado utilizando NaOCl 1,5% seguido de EDTA 17%.

Kim *et al.*, (2015), realizaram uma revisão de literatura para avaliar o efeito do Ca(OH)_2 como medicação intracanal. A maioria dos estudos indica uma redução dos microorganismos, porém não ocorre sua eliminação total e algumas espécies apresentam resistência ao Ca(OH)_2 .

Com o objetivo de avaliar a capacidade de vedação e microestrutura do Biodentine e ProRooT (MTA), Agrafioti *et al.*, (2015), realizaram um estudo com discos de dentina com esses materiais condicionados em solução salina e ácido cítrico. Notaram que ocorreu uma alteração na morfologia do Biodentine quando exposto a um ambiente ácido. Além disso, o MTA apresentou boa capacidade de selamento em ambos os ambientes, enquanto o Biodentine apresentou resultado aprimorado ao longo do tempo no ambiente ácido.

Para comparar o efeito do PRF e do PRP na técnica de regeneração, Shivashankar *et al.*, (2017), avaliaram sessenta pacientes que foram divididos em grupos onde foi feito o protocolo de indução do sangramento do canal radicular, utilizando PRF e outro com PRP. Após 12 meses todos os pacientes não apresentavam dor e sem sinal de reinfecção ou lesão periapical. PRP apresentou um melhor reposta à lesão periapical.

Após procedimento de regeneração de um molar inferior, Ramezani *et al.*, (2019), acompanharam e relataram por dois anos o caso. Na primeira sessão, utilizaram NaOCl 1,5% e soro fisiológico para irrigação. Para medicação intracanal, aplicaram Ca(OH)_2 . Depois de três semanas, irrigaram os canais com EDTA 17% e soro fisiológico, posteriormente à secagem com cone de papel, induziram o sangramento com uma lima K-file #25 à 2 mm aquém do forame. Aguardaram a coagulação sanguínea e selaram a embocadura dos canais com MTA. Com 3 meses de preservação, o paciente se encontrava assintomático e em 1 ano, observaram o completo fechamento do ápice das raízes e regressão da lesão periapical.

Para avaliar a viabilidade e potencial de mineralização do Ca(OH)_2 e da pasta tri-antibiótica nas células da papila apical, Rahhal *et al.*, (2019), realizaram um estudo *in vitro* para investigar esse efeito. Durante 5 dias as culturas de células foram mantidas

em contato com essas medicações, avaliaram a viabilidade celular, seguindo por mais 5 dias antes da induzirem ao ensaio de diferenciação. Analisaram a deposição de cálcio através de coloração após 14 e 21 dias. Observaram que o $\text{Ca}(\text{OH})_2$ induziu a proliferação celular e uma melhor capacidade de mineralização das células da papila apical, enquanto a pasta tri-antibiótica apresentou citotoxicidade significativa e uma redução de mineralização.

Widbiller *et al.*, (2019), avaliaram o efeito direto e indireto do uso da CHX nas células da papila apical. Observaram que a exposição direta de CHX afetou altamente a viabilidade celular em concentrações acima de $10^{-3}\%$, porém em concentrações mais baixas não tiveram efeito adverso. Placas de dentina condicionadas com CHX foram prejudiciais à sobrevivência celular, entretanto os efeitos deletérios foram revertidos pela neutralização com lecitina.

Com o objetivo de investigar o sucesso clínico e radiográfico da regeneração radicular utilizando $\text{Ca}(\text{OH})_2$ e CHX em gel à 2% como medicação intracanal, Pereira *et al.*, (2020), realizaram um estudo com 16 pacientes. Após acesso e irrigação dos canais radiculares com NaOCl 6%, os dentes foram medicados com uma pasta na proporção de 1:1 da mediação em estudo. Após 21 dias, os canais foram irrigados com EDTA 17% e realizaram a indução do sangramento dos condutos radiculares, seguido do selamento da embocadura com MTA. Nesse estudo, 15 dentes tiveram sucesso do tratamento observando aumento do comprimento e da largura da raiz e diminuição do diâmetro apical.

Para analisar a evolução clínica e radiográfica de regeneração em dentes com ápice aberto que sofreram algum trauma (avulsão ou severa luxação/intrusão), Mittmann *et al.*, (2020), realizaram um estudo com 16 incisivos permanentes. Após acesso cirúrgico, os canais radiculares foram irrigados com NaOCl 1% e realizada ativação ultrassônica, seguida de utilização de EDTA 17%. Utilizaram como medicação intracanal demeclociclina e triancinolona durante 7 a 10 dias. No segundo momento, a medicação foi removida com EDTA e ativação ultrassônica e subsequente, os canais foram secos e induziram um sangramento e aguardaram a coagulação para aplicação de uma esponja de colágeno. Para o selamento das embocaduras, foi inserido MTA. Observaram sucesso em 81,3% dos casos e em 18,7%, foi necessário extrair os dentes devido a severa reabsorção radicular.

Dos Reis-Prado *et al.* (2022), realizaram uma revisão de literatura com o objetivo de avaliar a influência do uso de EDTA no tratamento de regeneração pulpar.

Os estudos apresentaram liberação significativa de fator de crescimento transformador após o condicionamento com EDTA. Em relação à viabilidade celular, os artigos não mostram influência do EDTA, porém observaram maior migração, adesão e diferenciação celular. Dessa forma, os autores concluíram que a dentina tratada com EDTA apresenta bons resultados no tratamento de regeneração pulpar.

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo desse estudo foi realizar uma revisão de literatura sobre regeneração endodôntica e avaliar as técnicas utilizadas em relação aos agentes irrigantes, medicação intracanal e o selamento final utilizados sobre os componentes biológicos e microbianos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um levantamento bibliográfico nas bases de dados: PUBMED, SCIELO, BIREME e Portal de Periódicos CAPES. Como palavras chaves utilizou-se os termos: pulp revascularitation, regenerative endodontics, medication intracanal, PRP/PRF, canal irrigant. Foram selecionados 18 artigos para essa revisão de literatura com intervalo de publicação entre 1996 e 2022.

5 DISCUSSÃO

Conforme Iwaya *et al.*, (2001), Banchs *et al.*, (2004), Nosrat *et al.*, (2011), Ramezani *et al.*, (2019) e Mittmann *et al.*, (2020), a regeneração vascular é uma técnica promissora em dentes permanentes com rizogênese incompleta que apresentam lesão apical. Há uma variedade de protocolos utilizados, sendo importante o conhecimento e suas implicações no tratamento. Há um consenso entre os autores, a importância de não realizar instrumentação dos canais radiculares para a manutenção das células-tronco presentes, visando sua diferenciação celular e obtendo melhor prognóstico. Além disso, a desinfecção do canal e a preservação da células da papila apical, apresentam importante função no sucesso do tratamento, como apresentado por Shivashankar *et al.*, (2017). Segundo Hoshino *et al.*, (1996), as células da papila apical apresentam uma grande proliferação celular e potencial de diferenciação semelhante das células-tronco.

Martin *et al.*, (2014), e Widbiller *et al.*, (2019), indicaram que as soluções irrigadoras são os agentes primários utilizados para a diminuição bacteriana, sendo assim, eles precisam apresentar um maior efeito antibacteriano e bacteriostático, com um menor efeito citotóxico. Os casos clínicos apresentados, utilizam o NaOCl ou CHX como irrigantes. Ambos possuem efeitos antimicrobianos, sendo a CHX com melhor biocompatibilidade segundo Sonoyama *et al.*, (2007), porém, Widbiller *et al.*, (2019) aponta que quando aplicada diretamente sobre as células da papila apical, sua viabilidade celular é altamente afetada. Já Martin *et al.*, (2014), apresenta que o uso do NaOCl em baixa concentração (NaOCl 1,5%) há um melhor efeito na sobrevivência das células da papila apical, seguido de irrigação com EDTA 17%.

Com a revisão de literatura feita por Dos Reis-Prado *et al.*⁹, poderemos analisar que os resultados positivos do NaOCl, apesar de ser menos biocompativo comparado ao CHX, deve-se ao uso do EDTA. Dessa forma, associa-se uma solução com um bom efeito antibacteriano e outro que proporciona migração e diferenciação celular.

Visando a descontaminação bacteriana, há uma variedade de medicações intracanal utilizadas, sendo a associação de antibióticos e pasta de CaOH₂ com os casos mais relatados na literatura. Além de sua ação antimicrobiana, é importante levar em consideração a ação desses medicamentos com as células presentes no

canal radicular. Ambas as medicações reduzem significativamente a quantidade de bactérias presentes, porém não há eliminação total delas conforme Lin *et al.*, (2013) e Ruparel *et al.*, (2012). Além disso, esses autores apontam que em diferentes concentrações, quando utilizado antibiótico, pode ocorrer uma redução de células viáveis, enquanto o Ca(OH)_2 há uma manutenção. Quando avaliado a ação sobre a papila apical, o Ca(OH)_2 induz uma maior proliferação celular e mineralização que as pastas com antibiótico que apresentaram uma maior citotoxicidade segundo Rahahal *et al.*, (2019).

Sendo uma técnica que tem o princípio de descontaminação do canal radicular e viabilização de células para a diferenciação celular de dentes necróticos, vem sendo discutido o uso de PRP e PRF e seus efeitos em casos de regeneração. Para Dos Reis-Prado *et al.*, (2022), ambos apresentam bons prognósticos, sendo o PRP melhor na resposta à lesão periapical, porém mais estudos devem ser feitos para avaliar se a utilização desses mecanismo são fundamentais para o tratamento, uma vez que a manutenção de células-tronco do canal radicular e a papila apical possuem boa proliferação celular.

Para a viabilização de diferenciação celular, é necessário que ocorra uma adequada descontaminação do sistema radicular. Quando analisado casos de insucesso de regeneração, observa-se presente formação de biofilme nas paredes do canal, podendo causar uma lesão apical ou reabsorção radicular, sendo necessário extrair o dente, como apontado por Shivashankar *et al.* (2017).

Após a descontaminação, indução do sangramento e a formação do coágulo no canal radicular, é fundamental realizar o selamento com um material que possua propriedades biológicas e mecânicas adequadas. Dessa forma, é possível notar que, atualmente, nos casos de regeneração, há um maior uso do MTA como selamento por apresentar um bom material para selamento conforme Kim *et al.*, (2015).

É importante que os pacientes sejam orientados sobre o tratamento e a necessidade de acompanhamento clínico e radiográfico, para avaliação do sucesso do tratamento. Com a preservação dos casos, observa-se o aumento do comprimento e da largura da raiz e diminuição do diâmetro apical. Em casos em que ocorre o insucesso do tratamento, como a presença de lesão apical e/ou dor, é necessário a avaliação para a terapêutica necessária.

6 CONCLUSÕES

Com base na literatura, conclui-se que:

- 1- A regeneração vascular é uma técnica promissora em casos de necrose e lesão periapical em dentes permanentes com rizogênese incompleta.
- 2- A manutenção das células-tronco presentes no canal radicular e preservação da papila apical apresentam papel importante no sucesso do tratamento, dessa forma, a instrumentação do canal não é indicada e a escolha da solução irrigadora e da medicação intracanal devem levar em consideração esses aspectos. O NaOCl em baixas concentrações apresentam melhor sobrevivência das células da papila apical, quando comparado ao uso de CHX.
- 3- O uso de EDTA proporciona liberação de fatores de crescimento, migração, adesão e diferenciação celular.
- 4- Tanto o Ca(OH)_2 e as pastas com antibióticos, quando usado como medicação intracanal, apresentam uma redução microbiana adequada. Porém, as pastas com antibiótico, apresentam uma redução das células viáveis da papila apical, o que não ocorre com o Ca(OH)_2 .
- 5- O uso de PRF e PRP apresentam resultado promissores, porém mais estudos devem ser realizados para avaliar a importância desse recurso no tratamento.
- 6- Após formação do coágulo, é importante realizar o selamento da embocadura dos canais, dessa forma, o MTA apresenta melhores características biológicas e mecânicas, quando comparado ao Biodentine.
- 7- A descontaminação do canal radicular é importante para o sucesso do tratamento e a preservação é necessária para avaliar se não ocorrerá uma progressão na lesão periapical devido à alguma falha no tratamento, que em casos mais graves, poderá causar uma reabsorção radicular.

REFERÊNCIAS

Hoshino E, Kurihara-Ando N, Sato I, Uematsu H, Sato M, Kota K, Iwaku M. In-vitro antibacterial susceptibility of bacteria taken from infected root dentine to a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline. *Int Endod J.* 1996 Mar; 29(2):125-30. doi: 10.1111/j.1365-2591.1996.tb01173.x. PMID: 9206436.

Iwaya S, Ikawa M, Kubota M. Revascularization of an immature permanent tooth with apical periodontitis and sinus tract. *Dent Traumatol* 2001 Aug; 17 (4): 185-7. doi: 10.1034/j. 1600 9657.2001.017004185.x.PMID: 11585146.

Banchs F, Trope M. Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: new treatment protocol? *J Endod.* 2004 Apr;30(4):196-200. doi: 10.1097/00004770-200404000-00003. PMID: 15085044.

Sonoyama W, Liu Y, Yamaza T, Tuan RS, Wang S, Shi S, Huang GT. Characterization of the apical papilla and its residing stem cells from human immature permanent teeth: a pilot study. *J. Endod.* 2008 Feb;34(2): 166-71. doi: 10.1016/j.joen.2007.11.021. PMID: 18215674; PMCID: PMC2714367.

Nosrat A, Seifi A, Asgary S. Regenerative endodontic treatment (revascularization) for necrotic immature permanent molars: a review and report of two cases with a new biomaterial. *J Endod.* 2011 Apr;37(4):562-7. doi: 10.1016/j.joen.2011.01.011. PMID: 21419310.

Bonan RF, Batista AUD, Hussne RP. Comparação do uso do hipoclorito de sódio e da clorexidina como solução irrigadora no tratamento endodôntico: revisão de literatura. *Rev. Bras. De Ciências e Saúde* 2011;15(2): 237-44. doi: 10.4034/RBCS.2011.15.02.16.

Ruparel NB, Teixeira FB, Ferraz CC, Diogenes A. Direct effect of intracanal medicaments on survival of stem cells of the apical papilla. *J Endod.* 2012 Oct;38(10):1372-5. doi:10.1016/j.joen.2012.06.018. Epub 2012 Aug 16. PMID: 22980180.

Martin DE, De Almeida JF, Henry MA, Khaing ZZ, Schmidt CE, Teixeira FB, Diogenes A. Concentration-dependent effect of sodium hypochlorite on stem cells of apical papilla survival and differentiation. *J Endod.* 2014 Jan;40(1):51-5. doi: 10.1016/j.joen.2013.07.026. Epub 2013 Oct 25. PMID: 24331991.

Lin LM, Shimizu E, Gibbs JL, Ioghin S, Ricucci S. Histologic and histobacteriologic observation of failed revascularization/revitalization therapy: a case report. *J Endod.* 2014 Feb;40(2):291-5. doi:10.1016/j.joen.2013.08.024. Epub 2013 Oct 9. PMID: 24461421.

Kim D, Kim E. Antimicrobial effect of calcium hydroxide as an intracanal medicament in root canal treatment: a literature review – Part II. In vivo studies. *Restor Dent Endod.*

2015 May;40(2):97-103. doi:105395/red.201.40.2.97. Epub 2014 Dec 9. PMID: 25984470; PMCID:PMC4432264.

Agrafioti A, Tzimpoulas N, Chatzitheodoridis E, Kontakiotis EG. Comparative evaluation of sealing ability and microstructure of MTA and Biodentine after exposure to different environments. *Clin Oral Investig*. 2016 Sep;20(07):1535-40. doi:10.1007/s00784-015-1638-6. Epub 2015 Nov 6. PMID:26541151.

Shivashankar VY, Johns DA, Maroli RK, Sekar M, Chandrasekaran R, Karthikeyan S, Renganathan SK. Comparison of the effect of PRP, PRF and induced bleeding in the revascularization of teeth with necrotic pulp and open apex: a triple blind randomized clinical trial. *J Clin Diagn Res*. 2017 Jun;11(6):ZC34-ZC39. doi: 10.7860/JCDR/2017/22352.10056. Epub 2017 Jun 1. PMID: 28765825; PMCID: PMC5534513.

Ramezani M, Sanaei-Rad P, Hajihassani N. Revascularization and vital pulp therapy in immature molars with necrotic pulp and irreversible pulpitis: A case report with two-year follow-up. *Clin Case Rep*. 2019 Dec;8(1):206-210. doi:10.1002/ccr3.2614. PMID: 31998518; PMCID: PMC6982478.

Rahhal JG, Rovai EDS, Holzhausen M, Caldeira CL, Santos CFD, Sipert CR. Root canal dressings for revascularization influence in vitro mineralization of apical papilla cells. *J Appl Oral Sci*. 2019;27:e20180396. doi: 10.1590/1678-7757-2018-0396. Epub 2019 Apr 11. PMID: 30994774; PMCID: PMC6459230.

Widbiller M, Althumairy RI, Diogenes A. Direct and indirect effect of chlorhexidine on survival of stem cells from the apical papilla and its neutralization. *J Endod*. 2019 Feb;45(2):156-160. doi:10.1016/j.joen.2018.11.012. PMID:3071117.

Mittmann CW, Kostka E, Ballout H, Preus M, Preissner R, Karaman M, Preissner S. Outcome of revascularization therapy in traumatized immature incisors. *BMC Oral Health*. 2020 Jul 14;20(1):207. doi:10.1186/s12903-020-01193-5. PMID: 32664918; PMCID: PMC7362656.

Pereira AC, Oliveira ML, Cerqueira-Neto ACCL, Gomes BPFA, Ferraz CCR, Almeida JFA, Marciano MA, De-Jesus-Soares A. Treatment outcomes of pulp revascularization in traumatized immature teeth using calcium hydroxide and 2% chlorhexidine gel as intracanal medication. *J Appl Oral Sci*. 2020 Sep 25;28e20200217. doi:10.1590/1678-7757-2020-0217. PMID: 32997087; PMCID:PMC7518246.

Dos Reis-Prado AH, Abreu LG, Fagundes RR, Oliveira SC, Bottino MC, Ribeiro-Sobrinho AP, Benetti F. Influence of ethylenediaminetetraacetic acid on regenerative endodontics: A systematic review. *Int Endod J*. 2022 Jun;55(6):579-612. doi: 10.1111/iej.13728. Epub 2022 Mar 29. PMID: 35305029.