

EMPREGO DE CÉLULAS TRONCO NA ENDODONTIA REGENERATIVA USE OF STEM CELLS IN REGENERATIVE ENDODONTICS

Jeferson de Andrade Augusto¹
Paula Inara Benta Pinha da Silva²
Nilton César Pezati Boer³
Lucieni Cristina Trovati Moreti⁴

RESUMO: Tratando-se de dentes imaturos, durante anos a opção para a terapia endodôntica desses elementos, era a realização da apicificação e aplicação do hidróxido de cálcio. Porém, a conduta não permitia que o desenvolvimento e maturação do dente ocorresse de forma natural. Desta forma, foi implementado um novo conceito, na qual é estimulada a formação de um coágulo sanguíneo no interior do canal radicular, tendo como intuito uma redução considerável da sintomatologia quando se trata de infecção pulpar, promovendo uma reparação ou um espessamento das paredes dos canais radiculares, chamado de endodontia regenerativa. O objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão de literatura sobre a eficácia das células troco no tratamento endodôntico em dentes com rizogênese incompleta. Justifica-se esta revisão por considerar um recente interesse em técnicas mais avançadas da endodontia, que gerem maiores benefícios ao paciente. Portanto, a endodontia regenerativa pode ser uma alternativa terapêutica a mais para dentes permanentes jovens com comprometimento pulpar.

1369

Palavras-chave: Endodontia regenerativa. Células tronco. Tratamento endodôntico.

ABSTRACT: In the case of immature teeth, for years the option for endodontic therapy of these elements was to perform apexification and application of calcium hydroxide. However, the conduct did not allow the development and maturation of the tooth to occur naturally. In this way, a new concept was implemented, in which the formation of a blood clot inside the root canal is stimulated, aiming at a considerable reduction of symptoms when it comes to pulp infection, promoting a repair or a thickening of the walls of the canals. root canals, called regenerative endodontics. The aim of this study was to review the literature on the effectiveness of stem cells in endodontic treatment in teeth with incomplete root formation. This review is justified by considering a recent interest in more advanced techniques in endodontics, which generate greater benefits for the patient. Therefore, regenerative endodontics may be an additional therapeutic alternative for young permanent teeth with pulp involvement.

Keywords: Regenerative endodontics. Stem cells. Endodontic treatment.

¹ Graduando de Odontologia - Universidade Brasil. E-mail: jeferson.a.augusto@gmail.com.

² Enfermeira Obstetra - Mestranda - Curso de Bioengenharia - Universidade Brasil.

³ Doutor em Histologia - Universidade Brasil.

⁴ Mestre em Imaginologia - São Leopoldo Mandic.

INTRODUÇÃO

O processo de formação e maturação dos dentes permanentes ocorre na infância e na pré-adolescência, época que há maior prevalência de cáries e traumas nos elementos dentários, ocasionando a interrupção da formação das raízes, quando a polpa apresenta um diagnóstico de necrose. O dente com rizogênese incompleta possui um prognóstico instável, tornando o tratamento um desafio para o profissional (Palma PJR, 2013).

A raiz imatura com o prognóstico de polpa necrótica apresenta em sua anatomia maior complexidade em virtude de paredes finas e ápices radiculares abertos, possuindo assim um risco considerável de fratura, limitando o processo de instrumentação, além de dificultar o preenchimento e extravasamento do material obturador (Trope M, 2022).

Considerando a necrose pulpar dentes imaturos, durante anos a opção para o tratamento endodôntico desses elementos, era a realização da apicificação e aplicação do hidróxido de cálcio. Porém, a conduta não permitia que o desenvolvimento e maturação do dente ocorresse de forma natural. Além disso, a terapia necessitava de diversas sessões e tornava a raiz muito frágil, com possibilidade de fratura radicular (KIM, 2018)

O tratamento endodôntico é indicado quando surge um acometimento de bactérias na polpa ou algum trauma, evitando que ocorra necrose do tecido local. Entretanto, quando instrumentado o canal radicular fica fragilizado, além de perder minerais, comprometendo a estrutura do elemento (YANG, 2017).

Uma alternativa a esta terapia endodôntica foi a criação de uma barreira artificial, em apical, para prevenir a extrusão de material obturador durante a obturação. Assim, após o preparo químico mecânico do canal radicular, a pasta de Ca(OH)_2 e atualmente o MTA, era inserida pelo período de um mês, quando então uma barreira era realizada, Posteriormente foi empregado o MTA. Seguindo-se à colocação da barreira, o canal era obturado e a cavidade de acesso restaurada com material restaurador apropriado. A desvantagem desta técnica está na ausência de espessamento das paredes radiculares, com acentuado risco de fraturas (SOUZA TS, DEONÍZIO MA, BATISTA A, KOWALCZUCK A, SYDNEY GB, 2013).

Nas décadas de 60 e 70, Nygarrd-Ostby e Hjortdal constataram que coágulos sanguíneos poderiam ser importantes para a formação de tecidos fibrosos dentro dos canais radiculares, começando assim os estudos da regeneração pulpar (NYGAARD-OSBTBY B, HJORTDAL O,1971). Na literatura o primeiro relato foi descrito por Rule e Winter, em 1966. Desde então, inúmeros protocolos clínicos têm sido propostos para a obtenção do melhor resultado biológico (RULE D, WINTER G.,2013).

Contudo, em 2001 foi aplicado o tratamento de revascularização de um dente imaturo com periodontite apical, sendo possível perceber como vantagens desta terapia o fechamento completo do ápice, além de resposta ao teste de sensibilidade pulpar e aumento das espessuras das paredes dos canais (IWAYA S, IKAWA M, KUBOTA M, 2001).

Desta forma, foi implementado um novo conceito, na qual é estimulada a formação de um coágulo sanguíneo no interior do canal radicular. Histologicamente, podem ser observados a presença de células vasculares e tecido cementário no canal radicular. Clinicamente, não é identificado mais a presença da sintomatologia do processo infeccioso, e radiograficamente foi constatado o espessamento das paredes do canal e o fechamento apical (KIM, 2018).

Os procedimentos de revitalização e revascularização são atualmente expressados no novo conceito da endodontia regenerativa, sendo que estes termos isolados deixaram de ser os mais adequados quando se trata de reparação e organização celular. Quando se intenciona um procedimento de reparação as estruturas radiculares, diferenciação e estimulação de células que irão formar tecidos semelhantes à dentina e polpa dentária é indicado a endodontia regenerativa (DIOGENES, A., 2016)

Na endodontia regenerativa, para a formação do complexo dentino-pulpar, deve se associar a reprodução e secreção de novas células. (SMITH, A. J, 2016). Em 2000 um grupo de pesquisadores publicou um artigo científico, incluindo as células-tronco na odontologia (GRONTHOS ET AL., 2000).

Considerando a associação destas células troncos à odontologia, elas passaram a ser mais estudadas, dado o seu poder de diferenciação, com potencial de gerar novas

células, tecidos e até mesmo órgãos, devolvendo então a função do tecido doente bem como sua forma. (NICOLESCU, M, I.,2016)

Este trabalho objetivou realizar uma breve revisão literária sobre a eficácia das células troco no tratamento endodôntico em dentes com rizogênese incompleta. Justifica-se esta revisão por considerar um recente interesse em técnicas mais avançadas da endodontia, que possam gerar maiores benefícios ao paciente.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A Polpa dentária é formada por um tecido conjuntivo frouxo, contendo vasos sanguíneos, matriz celular, células e nervos. As células responsáveis pela manutenção e formação da dentina são os odontoblastos e está presente em uma grande quantidade na região da coroa sendo mais características do complexo dentino-pulpar. Além dos odontoblastos também estão presentes no complexo dentino-pulpar, células imunes, como linfócitos, macrófagos e células dendríticas, porém a célula que maior predomina na polpa são os fibroblastos, que são responsáveis pela manutenção e produção do colágeno assim como das células tronco, que tem como função a diferenciação em tecidos parecidos com o pulpar, quando sofre alguma agressão. (SIQUEIRA, J, F. et al., 2015)

O suprimento sanguíneo que irriga e forma o plexo capilar até a região coronária é dado via forame apical, que promove a oxigenação e manutenção das células, mantendo a vitalidade do órgão dentário. Essa vascularização se dá pela divisão do ramo da artéria carótida, que alimenta tanto os elementos superiores quanto os inferiores. (SIQUEIRA, J, F. et al., 2015) Em se tratando de inervações, a polpa é um dos órgãos mais inervados, assim como as arteríolas que passam pelo forame apical, e vão entranhando-se na dentina e pré-dentina, justificando assim a dor e sensibilidade quando há estímulos (ESTRELA, C., 2007)

A estrutura pulpar tem como funções defensivas, formativas e sensitivas além de apresentar uma eficiência nutritiva que é responsável por manter o elemento dentário vivo, trabalhando junto com as células responsáveis pela manutenção dentinária, sendo capaz de construir uma matriz dentinária em resposta a uma injúria ao tecido dentário. Essa resposta se dá quando ocorre uma eliminação dos

odontoblastos presente na polpa, novas células similares são depositadas no elemento, para promover uma diferenciação em células odontoblásticas com finalidade terapêutica, modulando o tecido danificado, e gerando dentina reacional com o intuito de manter a vitalidade do órgão dentário (LUIZ, L. M, 2013).

Células-tronco são classificadas como células não especializadas com capacidade de divisão e diferenciação, por meio do processo de mitose, promovendo a regeneração de um tecido ou órgão lesionado (CASAGRANDE, L. et al, 2011). Essas células podem ser consideradas células pluripotentes e multipotentes, ou seja, capazes de regenerar qualquer célula do endoderma, mesoderma, ectoderma, e quando multipotentes regenera células do tecido pelo qual são derivadas (DIOGENES, A. et al., 2013)

Quanto a localização das células tronco se dividem em dois grupos que são células embrionárias e adultas também conhecidas como pós natal. As células estaminais embrionárias possuem uma extrema habilidade de renovação e geração de novos tecidos, e podem ser encontras junto a camada interna do blastocisto logo no estágio inicial do desenvolvimento embrionário. Por este motivo existem alguns questionamentos quanto a sua utilização em ambiente laboratorial e clínico. Já as células tronco pós natal ou adultas podem ser encontradas em órgãos pulpare, medula óssea e em outros tecidos já adultos, porem sua capacidade de diferenciação é menor quando comparada com as células tronco embrionárias (CASAGRANDE, L. et al, 2011).

Na cavidade oral existem células pós-natal em várias áreas, como no ligamento periodontal, glândulas salivares, região da papila apical e em folículos dentários. Porém as células presentes na região apical se mostram mais eficazes quando se trata de procedimentos regenerativos como por exemplo, as células da polpa dentária (DIOGENES, A. et al., 2013)

Algumas dificuldades são destacadas na literatura quando se fala de células tronco, dentre elas a dificuldade de acesso para a cultura, qualidade das propriedades celulares, quantidade e a interação com os biomateriais que irá auxiliar na proliferação. Contudo as células tronco procedentes da polpa dentária, esses inconvenientes são diminuídos, por possuir um acesso facilitado, apresenta uma

ótima multiplicação celular quando combinada com biomateriais e não sofre alterações após a coleta (D'AQUINO, R. et al., 2008).

O tratamento endodôntico convencional tem como método a instrumentação e obturação dos canais radiculares com matérias termoplásticas. Estudos demonstram que esse tratamento com o passar do tempo pode sofrer reinfecções do canal através de infiltrações, podendo até levar uma fratura do elemento dentário. Tendo isso como inconveniência, pesquisadores estão buscando comprovar a efetiva eficiência da endodontia regenerativa, que tem como função regenerar o tecido conjuntivo infectado (MURRAY, P., E.; GARCIA-GODOY, F.; HARGREAVES, K. M., 2007)

A odontologia regenerativa vem ganhando seu espaço com o passar dos anos, associando biologia e ciência no intuito de aprimorar a engenharia de tecidos, buscando gerar tecidos saudáveis, frente a um trauma ou agressão (CASAGRANDE, L. et al., 2011)

Em virtude da fragilidade dos elementos e os tratamentos complexos da época, Nygaard-Ostby (1961) e Nygaard-Ostby e Hjortdal (1971), deram início a um estudo onde era estimulado a formação de um coágulo sanguíneo no interior do canal radicular. Através do exame histológico foi constatado não só a presença de células vasculares como também tecido cementário nos condutos radiculares, no período de 9 dias a 3 anos após o tratamento. Esses foram os primeiros a implantar este conceito de forma clínica e obter a confirmação da regeneração não só do tecido pulpar, mas também das células responsáveis pela formação do complexo dentino-pulpar. Radiograficamente foi observado o espessamento das paredes dos canais e fechamento apical, além de ausência de sintomatologia do processo infeccioso. Mais tarde esse procedimento veio a ser conhecido como Endodontia Regenerativa, sendo aperfeiçoadas através de novas técnicas, como a utilização de células tronco (KIM, 2018)

O emprego da endodontia regenerativa se divide em dois propósitos: O primeiro corresponde a um tratamento mais conservador, visando a preservação de estruturas dentárias, o segundo consiste em um avanço da engenharia de tecidos,

sendo empregada em reversões e prevenções de patologias (GEORGE, T.; HUANG, J., 2008)

O sucesso da utilização das células tronco na endodontia regenerativa está diretamente relacionada a preservação de células hospedeiras, já que a integridade das células estaminais é responsável pela regeneração. Evidências demonstram que o emprego da pasta tri antibiótica não apresenta alterações dessas células (DIOGENES, A, 2013). Quando ocorre o comprometimento da polpa, como consequência ocorre a colonização de microrganismos no espaço pulpar, sendo identificada pelos receptores toll-like como padrões de patógenos. Estes receptores tem a função de identificar patógenos específicos, dando a comunidade celular da polpa uma resposta imune dessa microbiota. Estudos revelam que esses receptores se ligam com as células tronco, regulando o poder de diferenciação e multiplicação celular (HARGREAVES, K. M; BERMAN, L. H, 2017).

O uso das células tronco na regeneração de tecidos está atrelado ao isolamento de células autóloga ou não, que deverá ter sua manipulação correta para descartar uma reação imunológica. Os biomateriais servirão de esqueleto para incorporar essas células e então serão depositadas no espaço endodôntico, buscando uma regeneração da polpa dentária. (DUCRET, Maxime et al., 2017)

Uma dificuldade bem comentada quando se fala de regeneração pulpar é o transporte de oxigênio e nutrição dos tecidos. Antigamente acreditava que uma baixa concentração de oxigênio no local seria mais viável já que aumentava o potencial angiogênico das células tronco pelo fator de crescimento endotelial vascular (FCEV). No entanto recentemente foi apurado que o fator de crescimento fibroblástico-2 (FCF-2) reagiu com uma maior vascularização, quando relacionado com a hipóxia (GORIN, C. et al., 2016).

Estudos realizados por Diogenes, Simon e Law (2017), mostraram que o uso de corticosteroide e fármacos das estatinas, consumido em um tempo relativamente maior, resulta em uma maior diferenciação de células presente na polpa dentaria em odontoblastos, e que através do exame radiográfico, se observa um aumento na espessura da pré-dentina e um estreitamento da câmara pulpar. Isso comprova a importância da combinação dos fatores de crescimento, já que essa união aumenta a

proliferação e diferenciação celular, e o uso do fator de crescimento endotelial e o fator de crescimento rico em plaquetas, intensifica a formação de novos vasos sanguíneos além de contribuir para a formação de tecido conjuntivo frouxo (HARGREAVES, K. M; BERMAN, L. H., 2017)

Atualmente na literatura existem inúmeros tipos de biomateriais que podem ser utilizados como esqueletos da regeneração pulpar, porém o melhor scaffold (do inglês: andaime/estrutura) deve proporcionar uma matriz extracelular semelhante a da polpa dentária (ORTI, V., 2018). Além disso, deve-se atentar a aderência e a vida útil, ele deve ser suficiente para que o processo de regeneração ocorra, permitindo a diferenciação e proliferação das células tronco, com o intuito de promover uma degradação apropriada sem a liberação de subprodutos tóxicos (DUCRET, 2017).

Os scaffolds que mais se assemelha as matrizes extracelulares são os naturais, por ser biocompatível, permite que as células exerçam sua função adequada e normal, se tornando mais vantajoso que os artificiais. Contudo existem pontos negativos, quando se trata da manipulação do seu isolamento, que impedem ou dificultam o uso em prática clínica. Por esse motivo aumentou o interesse pelo artificial, pois será construído de acordo com as condições. Para um melhor sucesso clínico estão sendo discutidos sobre a utilização de andaimes macios e injetáveis, buscando uma melhor adaptação no espaço radicular, e uma diminuta contração que só deixe rígidos o destino final.

Junto aos scaffolds poderá incluir fatores de crescimento, substâncias terapêuticas e antibacterianas tendo a presença ou não de células tronco (ORTI, V., 2018).

As características que um scaffold deverão apresentar rigidez, tamanho, forma tridimensional e volume de poros irão interferir na capacidade de proliferação e diferenciação das células. Um material que vem sendo fabricado com frequência, por apresentar uma boa biocompatibilidade é o Policaprolactona, porém se trata de um composto artificial, sendo assim bioativo. Uma maneira de driblar essa inconveniência está sendo incorporado insumos a base de cálcio como o MTA, tornando-a bioativa (BHARGAV, A., 2020).

Normalmente a estimulação de um coágulo sanguíneo autólogo tem sua utilização como Scaffold, contudo essa técnica apresenta alguns contras, como feridas de tecidos periapicais, falta de precisão da composição em relação a fatores de crescimento e presença de células imunes. No presente estudo comparou-se a estimulação do coágulo sanguíneo, o plasma rico em plaquetas e o plasma rico em fibrinas. O melhor desempenho foi do coágulo sanguíneo, porém vale destacar que nem todos os testes apresentam sucesso, apresentando em alguns casos podem causar obliteração do canal radicular por não apresentar alta concentração de fatores de crescimento. Já o uso de plaquetas além de ter um custo elevado, também expõe a dificuldade de trabalho com pacientes pediátricos, mesmo induzindo a diferenciação e proliferação celular com um risco diminuído de obliteração dos canais (ULUSOY, A. T. et al., 2019).

Para o sucesso da endodontia regenerativa, precisa-se atentar não só as células tronco e os fatores de crescimento, mas também na desinfecção biocompatível do canal radicular. A desinfecção deve ser feita de tal forma que não comprometa a viabilidade das células presentes no ducto radicular (DIOGENES, A.; HARGREAVES, K. M., 2017). Ainda hoje a comunidade clínica demonstra muitas dúvidas sobre a desinfecção de canais radiculares quando se trata de endodontia regenerativa, já que não diverge muito da desinfecção convencional.

A instrumentação mecânica é diminuída ou nunca usada, contudo para um sucesso do tratamento endodôntico utilizando células tronco, ainda é primordial o uso de soluções químicas. Para uma dissolução de matéria orgânica e ação bactericida a solução química mais utilizada é o hipoclorito de sódio, porém alguns estudos mostram que o uso em altas concentrações, compromete a diferenciação das células estaminais em células semelhantes às odontoblásticas (DIOGENES, A. R. et al., 2014).

Diversos são os fatores que definem o sucesso da técnica da regeneração pulpar sendo determinado após algum tempo de sua realização. Assim, a preservação dos casos clínicos realizados faz parte do tratamento. O sucesso da terapia endodôntica regenerativa é atingido por fases, sendo que a ausência de sintomas e a resolução da radiolucência apical são importantes; o acompanhamento com a

expectativa a maturação da raiz, obtendo maior espessura da parede e comprimento da raiz fundamentais; e o surgimento da resposta positiva ao teste de vitalidade pulpar pode coroa a terapia com total êxito (AAE. CLINICAL CONSIDERATIONS FOR A REGENERATIVE PROCEDURE REVISED 2018).

3 DISCUSSÃO

Considerando o reparo e regeneração da dentina e da polpa, podemos concluir que as células tronco possuem uma alta capacidade de diferenciação em tecidos semelhantes ao dentino pulpar. As células extraídas da polpa possuem uma eficácia maior na regeneração endodôntica, porém são encontradas também no ligamento periodontal e na medula óssea (CASAGRANDE, L. et al., 2011, DIOGENES, A. et al., 2013, PIVA, E. et al., 2017).

Estudos realizados por Piva et al. (2017), Murray; Garcia-Godoy; Hargreaves (2007), Diogenes; Hargreaves (2017), expõem que a endodontia regenerativa visa devolver ao elemento imaturo acometido por trauma ou cáries o seu desenvolvimento normal, promovendo um ganho de espessura e comprimento da raiz, devolvendo sua vascularização e inervação, além da resolução da sintomatologia e regeneração do tecido.

Para que ocorra o sucesso da multiplicação e proliferação celular, as células tronco deveram ser incorporadas a um biomaterial que servirá de esqueleto. Esse biomaterial pode ser semelhante ao órgão pulpar proporcionando aderência e consequentemente auxiliando para o sucesso regenerativo (D'AQUINO ET AL., 2008, DUCRET ET AL., 2017 E ORTI, V., 2018).

Um material bastante utilizado é a policaprolactona, porém por se tratar de um material artificial não é biocompatível, então deve-se associar materiais a base de cálcio melhorando a diferenciação celular por deixar um meio mais alcalino (BHARGAV, A. et al., 2020).

A estimulação do coágulo sanguíneo apresenta algumas desvantagens como a presença de células imunológicas além da calcificação do canal radicular causada pelas feridas provocadas no tecido periapical (ULUSOY et al., 2019)

Para Diogenes (2013); Martin et al. (2014), consideraram que o hipoclorito de sódio possui um melhor desempenho na desinfecção dos canais radiculares, contudo se a concentração for muito alta, pode causar a redução do funcionamento das células tronco presentes na papila apical.

Fator fundamental após a realização do tratamento por meio da regeneração pulpar é o acompanhamento periódico para verificar o desenvolvimento clínico. Autores apontam que o tempo mínimo para se notar algum progresso do tratamento é de seis meses (BOSE R, NUMMIKOSHI P, HARGREAVES K., 2009). Considerando a literatura, o período de preservação varia de meses a anos. Chueh et al. (2009) identificaram que a completa formação da raiz de dentes com rizogênese incompleta e necrose pulpar se desenvolve completamente em um período entre dez a treze meses do início do tratamento.

Baseado em inúmeros casos estudados na literatura, ainda não se tem estabelecido um protocolo ideal e nem o intervalo entre as sessões para realização da terapia regenerativa. A Associação Americana de Endodontia (AAE) considera o sucesso clínico da regeneração pulpar quando se alcança dois objetivos, sendo eles: a eliminação dos sintomas e reparto das estruturas periapicais; espessamento das paredes dentinária e formação radicular (Alcalde, MP; Guimarães, BM; Fernandes, SL; Silva, PAA; Bramante CM; Vivan RR; et. al., 2014).

De acordo com Souza et al. (2015) é fundamental considerar que o sucesso da regeneração deva contemplar 3 principais fatores: primeiro a eliminação dos sintomas e a evidenciação de reparo dos tecidos periapicais; segundo promover espessamento das paredes do canal e/ou a continuidade da formação radicular (desejável, mas não essencial) e terceiro, obter resposta positiva aos testes de vitalidade, que, se alcançado certamente indicará a presença de um tecido pulpar mais organizado.

CONCLUSÃO

A Utilização de células tronco na odontologia vem sofrendo uma grande evolução no método regenerativo, crescendo tanto no meio clínico como em campo de pesquisa, por conter um poder de regeneração de polpa e dentina com injurias, sem perda estrutural e por sua facilidade de acesso. A endodontia regenerativa busca

recuperar a sensibilidade e função do elemento dentário, através de reposição de matéria orgânica, unindo células tronco, biomateriais e fatores de crescimento atrelado a desinfecção dos canais radiculares. Sua indicação é para pacientes jovens, e em dentes imaturos, que apresenta diagnóstico de necrose pulpar.

REFERÊNCIAS

AAE. **Clinical Considerations for a Regenerative Procedure Revised 2018**. *Am Assoc Endodontists* [Internet]. 2015; Available from: https://www.aae.org/specialty/wp-content/uploads/sites/2/2018/06/ConsiderationsForRegEndo_AsOfApril2018.pdf Acesso em: 20 abril 2022.

Alcalde, MP; Guimarães, BM; Fernandes, SL; Silva, PAA; Bramante CM; Vivan RR; et. al. **Revascularização pulpar: considerações técnicas e implicações clínicas**. *SALUSVITA*, Bauru 2014;33(3):415-432.)

BHARGAV, A. et al. **Taguchi's methods to optimize the properties and bioactivity of 3D printed polycaprolactone/mineral trioxide aggregate scaffold: Theoretical predictions and experimental validation**. *J Biomed Mater Res B: Applied Biomaterials*, 2020;108(3):[629- 637].

Bose R, Nummikoshi P, Hargreaves K. **A retrospective evaluation of radiographic outcomes in immature theet whit necrotic root canal systems treated whit regenerative endodontic procedures**. *JOE* 2009;35(10):1343-1349

CASAGRANDE, L. et al. **Dental pulp stem cells in regenerative dentistry**. *Odontology*, 2011;99(1) [1-7].

Chueh LH, Ho YC, Kuo TC, Lai WH, Chen YH, Chiang CP. **Regenerative endodontic treatment for necrotic immature permanent teeth**. *J Endod*. 2009;35(2):1604.

D'AQUINO, R. et al. **Dental Pulp Stem Cells: A Promising Tool for Bone Regeneration**. *Stem Cell Reviews*, 2008; 4(1):[21-26].

DIOGENES, A. et al. **An update on clinical regenerative endodontics**. *Endodontics Topics*, 2013;28(1) [2-23]

DIOGENES, A. R. et al. **Translational Science in Desinfection for Regenerative Endodontics**. *J Endod*, 2014;40(4):[52-57].

DIOGENES, A. **Regenerative endodontics: a way forward**. *J Am Dent Assoc.*, v. 147, n. 5, p. 372-380, 2016.

DIOGENES, A.; HARGREAVES, K. M. Microbial Modulation of Stem Cell and Future Directions in Regenerative Endodontics. J Endod, 2017;43(9): [S95-S101].

DUCRET, Maxime et al. Current challenges in human tooth revitalization. Biomed mater Eng, 2017;28(S1):[159-168].

ESTRELA, C. Ciência Endodôntica. Artes Médicas. São Paulo, 2007.

GEORGE, T.; HUANG, J. A paradigm shift in endodontic management of immature teeth: Conservation of stem cells for regeneration. J Dent, 2008;36(6):[379-386].

GORIN, C. et al. Priming Dental Pulp Stem Cells With Fibroblast Growth Factor-2 Increases Angiogenesis of Implanted Tissue-Engineered Constructs Through Hepatocyte Growth Factor and Vascular Endothelial Growth Factor Secretion. Stem Cells Transl Med, 2016; 5(3):[392-404].

HARGREAVES, K. M; BERMAN, L. H. Cohen Caminhos da Polpa. II. Ed. Ilan Rotstein, 2017

Iwaya S, Ikawa M, Kubota M. Revascularization of an immature permanent tooth with apical periodontitis and sinus tract. Dent Traumatol 2001; 17: 185-7.

KIM, S. G. Regenerative Endodontics: a comprehensive review. Int Endod J, v. 51, n. 12, p. 1367-1388, 2018.

LUIZ, L. M. Células-tronco mesenquimais: isolamento e caracterização de populações derivadas de alvéolo dental humano e identificação e caracterização de populações de polpas dentais de camundongos. Tese (Doutorado em Patologia e Estomatologia Básica e Aplicada). São Paulo: Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, 2013.

MARTIN, D. E. et al. Concentration-dependent Effect of Sodium Hypochlorite on Stem Cells of Apical Papilla Survival and Differentiation. J Endod, 2014; 40(1):[51-55].

MURRAY, P., E.; GARCIA-GODOY, F.; HARGREAVES, K. M. Regenerative Endodontics: A Review of Current Status and a Call for Action. J Endod, 2007;33(4):[377-390]

NICOLESCU, M. I. Regenerative Perspective in Modern Dentistry. Dent J., v. 4, n. 2, p. 10, 2016.

Nygaard-Osbtby B, Hjortdal O. Tissue formation in the root canal following pulp removal. Eur J Oral Sci. 1971;79(3):333-49

ODORICO, J. S.; KAUFMAN, D. S.; THOMSON, J. A. **Multilineage differentiation from human embryonic stem cell lines.** *Stem Cells, Basel*, v. 19, no. 3, p. 193-204, 2001.

ORTI, V. **Pulp Regeneration Concepts for Nonvital Teeth: From Tissue Engineering to Clinical Approaches.** *Tissue Eng Part B: Rev*, 2018;24(6):[419-442].

Palma PJR. **Apexificação e revascularização pulpar em dentes permanentes imaturos: estudo experimental in vivo [tese].** Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra; 2013. Available from: <http://estudogeral.sib.uc.pt/jspui/handle/10316/23562> Acesso em: 20 abril 2022.

PIVA, E. et al. **Dental pulp tissue regeneration using dental pulp stem cells isolated and expanded in human serum.** *J Endod*, 2017;43(4): [568-574].

Rule D, Winter G. **Root growth and apical repair subsequent to pulpal necrosis in children.** *Br Dent J*. 1966;120(12):586). (804- 2013 regen endo e protocolo)

SIQUEIRA, J,F. et al. **Endodontia Biologia e Técnica.** 4.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015. 12.

SMITH, A. J. et al. **Exploiting the Bioactive Properties of the Dentin-Pulp Complex in Regenerative Endodontics.** *J Endod*, 2016;42(1):[47-56].

Souza TS, Deonízio MA, Batista A, Kowalczyk A, Sydney GB. **Regeneração endodôntica: existe um protocolo?** *Rev Odontol Bras Central*. 2013;22(63):128-33. 804-2013 regen endo e protocolo)

Trope M. **Treatment of the immature tooth with a non-vital pulp and apical periodontitis.** *Dent Clin North Am [Internet]*. 2010;54(2):313-24. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cden.2009.12.006> Acesso em: 20 abril 2022.

ULUSOY, A. T. et al. **Evaluation of Blood Clot, Platelet-rich Plasma, Platelet-rich Fibrin, and Platelet Pellet as Scaffolds in Regenerative Endodontic Treatment: A Prospective Randomized Trial.** *J Endod*, 2019;45(5):[560-566].

YANG, B. **Application of Stem Cells in Oral Disease Therapy: Progresses and Perspectives.** *Front Physio.*, v. 3, n. 8, p. 197, 2017.