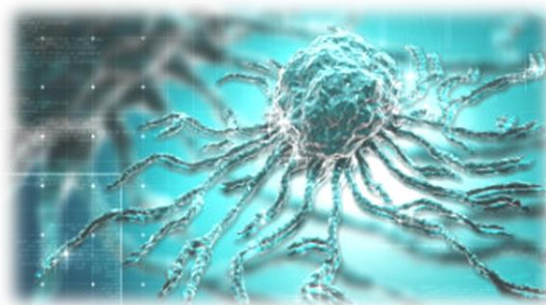




EL POTENCIAL BIOLÓGICO EN ENDODONCIA REGENERATIVA: REVITALIZACIÓN PULPAR



Autora: Dra. Magel Simón

Tutora: Dra. Maria Noel Martinez

Co-Tutora: Dra. Verónica Champrét

**CARRERA DE ESPECIALIZACIÓN EN ENDODONCIA
ESCUELA DE GRADUADOS- FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

URUGUAY, AÑO 2019

SUMARIO

RESUMEN

PALABRAS CLAVES

1. INTRODUCCIÓN.....	6
2. OBJETIVOS.....	7
2.1 Objetivo general.....	7
2.2. Objetivos específicos.....	7
3. MÉTODOS.....	7
4. ANTECEDENTES.....	8
5. DESARROLLO.....	10
5.1. ORGANOGÉNESIS DENTARIA.....	10
5.1.1. Etapa de iniciación.....	12.
5.1.2. Etapa de morfogénesis.....	13
5.1.3. Etapa de histodiferenciación.....	16
5.2. INGENIERÍA TISULAR.....	22
5.2.1. Células madre.....	22
5.2.2. Factores de crecimiento.....	26
5.2.3. Soportes o andamios.....	27
5.3. ENDODONCIA REGENERATIVA.....	29
5.3.1. Microbiología endodóntica.....	32
5.3.2. Indicaciones de Técnicas de Endodoncia regenerativa.....	33
5.3.3. Revitalización/Revascularización.....	35
5.3.4. Tejidos formados en el conducto radicular posterior a la técnica de revitalización.....	37
5.3.5. Tratamiento con células madre o "regeneración basada en células".....	44

5.3.6.	Tratamiento libre de células o “regeneración libre de células”	44
5.3.7.	Teorías de formación radicular	46
5.3.8.	Protocolos de revitalización/revascularización	47
5.3.9.	Irrigantes	54
5.3.10.	Medicación intraconducto	57
5.3.11.	Materiales de obturación cervical	60
5.3.12.	Resultados posteriores a la revitalización	68
6.	DISCUSIÓN	70
7.	CONCLUSIONES	74
8.	REFERENCIAS	77
9.	AGRADECIMIENTOS	87

RESUMEN

Las piezas permanentes jóvenes con pulpas necróticas con o sin enfermedad periapical, representan múltiples retos para lograr un tratamiento exitoso; presentan paredes radicales delgadas y ápices abiertos, por lo cual tienen alto riesgo de fracturas y limitan el tratamiento endodóntico. El tratamiento de primera elección de estas piezas durante mucho tiempo fue la apexificación, seguida por tratamiento de conductos convencional. Este tratamiento tiene varias desventajas, entre ellas que no continúa el desarrollo radicular, las paredes permanecerán con un espesor dentinario delgado sobre todo en tercio medio y cervical predisponiendo a fracturas.

Actualmente surge la técnica de revitalización/revascularización que forma parte de la endodoncia regenerativa para el tratamiento de estas piezas, estimulando a la raíz para que continúe su crecimiento en ancho y largo y se genere el cierre apical. También resuelve signos y síntomas como dolor, inflamación y revierte lesiones periapicales. Tiene como objetivo la regeneración de tejido pulpar dentro del conducto después de inducir la entrada de células madre.

El presente trabajo es una revisión de la literatura científica sobre la endodoncia regenerativa junto con los avances y aplicaciones en estas técnicas. Además describir la técnica más empleada que es la revitalización/revascularización, junto con los protocolos de las principales agrupaciones mundiales de endodoncia, la Asociación Americana de Endodoncia y la Sociedad Europea de Endodoncia.

Existen diferentes protocolos para las técnicas de revitalización, pero es común a todos la descontaminación del sistema de conductos, esto es clave para el éxito del procedimiento, ya que en condiciones de infección las pocas células madre de la pulpa que sobreviven son incapaces de regenerar.

Una vez limpio el conducto se genera un coágulo a partir de una irritación mecánica intencional de los tejidos periapicales, la sangre que ocupa el conducto genera una matriz de fibrina que funciona como soporte o andamio natural, junto con factores de crecimiento y células madre, pueblan el andamio, induciendo engrosamiento de la pared del conducto. Esta técnica tiene las ventajas de ser simple, fácil y de bajo costo

Luego de la revitalización a través de muestras histológicas se ha observado tejido fibroso, cemento o tejido óseo dentro del conducto, los mismos son tejidos de reparación, no de regeneración. Se define el tejido de reparación como un tejido ectópico con parcial pérdida de función.

Estudios in vitro y en animales en técnicas de regeneración pulpar han logrado regenerar dentina y pulpa, y ya se encuentran en fase de experimentación en humanos, con resultados prometedores. Más allá de esto se trata de procedimientos que requieren tecnologías y técnicas sumamente sofisticadas y complejas que las hacen de alto costo por lo que aún no serían técnicas de fácil acceso y disponibles para nuestra población.

Palabras clave: Immature apex, Regenerative endodontics, Stem cells, Tissue engineering.

1. INTRODUCCIÓN

Hace muchos años que la endodoncia busca lograr la regeneración de los tejidos dentarios. Regenerar es recuperar la estructura y función de tejidos u órganos dañados por células de la misma estirpe. A diferencia de reparar que es la sustitución de los tejidos dañados por células diferentes a las del tejido original (1).

Los procedimientos endodónticos regenerativos son técnicas biológicas creadas para sustituir tejidos dentarios lesionados, incluida dentina y estructuras radiculares así como también el complejo dentino-pulpar completo (1).

A pesar de que la tasa de éxito clínico del tratamiento de endodoncia convencional llega a exceder el 90%, en algunos casos las piezas deben ser extraídas debido a su fracaso y su reposición solo puede realizarse mediante la colocación de un implante o prótesis dental. Los métodos de endodoncia regenerativa tienen el potencial de regenerar a la dentina y la pulpa dentaria comprometidas en una lesión irreversible (2).

Las piezas permanentes jóvenes con pulpas necróticas con o sin enfermedad periapical, representan múltiples retos para lograr un tratamiento exitoso; estas piezas presentan paredes radiculares delgadas y ápices abiertos, por lo cual tienen alto riesgo de fracturas y limitan la preparación biomecánica con instrumentos endodónticos ya que se debilitarían aún más. El tratamiento de primera elección de estas piezas hasta hace un tiempo era la apexificación, seguida por tratamiento de conductos convencional. Las desventajas de esta técnica eran varias, entre ellas que no continuaba el desarrollo radicular.

Iwaya y col. en el 2001 reportaron una nueva alternativa de tratamiento para estas piezas permanentes jóvenes con pulpa necrótica, con la cual se podía obtener engrosamiento de las paredes del conducto y continuación del desarrollo radicular (3). Desde entonces la revascularización/revitalización se ha convertido en el procedimiento de primera elección para el tratamiento de estas piezas.

La raíz dentaria es un elemento esencial en la función de la dentición porque ancla los dientes al maxilar o la mandíbula. La pérdida de raíces conduce a una disminución del soporte óseo, lo que altera la función, la estética y la posterior rehabilitación. También durante la masticación y los estados de reposo, la raíz ayuda a transmitir y equilibrar las fuerzas oclusales a través del ligamento periodontal (PDL) a los huesos maxilares y

permite el pasaje para el haz neurovascular que suministra flujo sanguíneo, nutrición y sensación a nuestros dientes (4)(5).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general:

- Realizar una revisión de la literatura sobre endodoncia regenerativa.

2.2. Objetivos específicos:

- Detallar conceptos básicos sobre regeneración aplicados a la Endodoncia.
- Considerar avances y aplicaciones en técnicas de regeneración modernas en desarrollo.
- Describir la técnica de endodoncia regenerativa más empleada.
- Analizar los protocolos de revitalización utilizados actualmente.

3. MÉTODOS

El presente trabajo es una revisión de la literatura de tipo descriptiva. En su elaboración se consultaron las bases de datos PORTAL TIMBO FOCO, PUBMED, BVS, SciELO y GOOGLE SCHOLAR. Se utilizaron los descriptores en inglés Immature apex, Regenerative endodontics, Stem cells y Tissue engineering, y su correspondiente denominación en español para realizar la búsqueda. Esta fue restringida a los últimos 15 años, con excepción de algunos artículos utilizados para los antecedentes. Se seleccionaron 93 artículos que abordan la temática y se completó la búsqueda con el rastreo y la lectura de la bibliografía referenciada en esos artículos y en diferentes libros. También se presentaron casos clínicos realizados en la especialidad de endodoncia en 2018 y la aplicación de los diferentes protocolos con sus resultados en procedimientos de revascularización/revitalización.

4. ANTECEDENTES

Los primeros trabajos que apoyaron el concepto de regeneración tienen más de 50 años. El Dr. B.W.Hermann y col. describieron en 1952 la aplicación del hidróxido de calcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) para tratar la pulpa dental vital, en pulpectomías (6). Nygaard-Ostby en 1971 evaluó un método de revascularización para restablecer el complejo dentino-pulpar en dientes permanentes jóvenes con necrosis pulpar.

Se describe el trabajo de Nygaard-Ostby ya que fue el pionero para las técnicas de revitalización hoy utilizadas. Se estudiaron 47 dientes, 35 con pulpa vital y 12 con pulpa necrótica, para ello se realizó limpieza y conformación del conducto radicular, se estimuló un sangrado y el conducto se rellenó parcialmente. El grupo control fueron piezas en la que no se estimuló el sangrado para determinar si el coagulo de sangre era una condición para reparar o al menos para ayudar en la reparación. Los controles se realizaron entre 9 días y 3 años, luego se realizó extracción de los dientes. El examen histológico de las piezas extraídas determinó que en 28 dientes de los de pulpa vital se había formado tejido conectivo fibroso dentro del conducto, o deposito de cemento celular en otros casos. No hubo reparación en los dientes de pulpa necrótica. Se concluyó que la presencia de microorganismos en el conducto podría ser una de las razones del fracaso para obtener la formación de tejido. Los restos necróticos más allá del ápice con la provocación del sangrado no sólo generaron una herida complicada sobre la membrana periodontal y el hueso alveolar, sino que también la contaminaron los tejidos perirradiculares. (1)(7)(7).

Durante mucho tiempo el tratamiento de primera elección para las piezas dentarias con diagnóstico de necrosis pulpar, en las que se interrumpe el desarrollo radicular normal, era la apexificación. La misma se basa en estimular, a través de $\text{Ca}(\text{OH})_2$, la formación de una barrera biológica generando el cierre apical. La gran desventaja es que el conducto no termina de formarse en largo y espesor por lo que aumenta el riesgo de fractura radicular. Otra forma de lograr el cierre apical es por medio de la utilización de Mineral Trióxido Agregado (MTA). Luego de la conductometría, la limpieza y conformación del conducto (la humedad no impide su acción por lo que no hace falta que esté seco) se coloca el MTA en la entrada del conducto, se lleva hasta al ápice con atacadores en la medida de trabajo, sellando el foramen y se obtura el conducto con gutapercha. El uso de MTA tiene como ventaja frente a la apexificación con $\text{Ca}(\text{OH})_2$ la menor cantidad de sesiones clínicas necesarias. Ambas técnicas tienen la

desventaja de que la raíz no sigue su desarrollo normal, quedando con una longitud radicular y un espesor dentinario disminuidos, lo que aumenta el riesgo a la fractura radicular. Diferentes estudios muestran que el porcentaje de éxito de la apexificación con ambos materiales, MTA y Ca(OH)_2 es similar (8). Debido a estas desventajas surge la endodoncia regenerativa que estimula el desarrollo radicular normal (9)(1)(7).

El recubrimiento pulpar con Hidróxido de Calcio se ha utilizado ampliamente para inducir la regeneración de la dentina mediante la formación de puentes dentinarios en sitios de exposición pulpar. Se sabe desde hace muchos años que el uso de Ca(OH)_2 estimula la dentinogénesis reparadora para formar dentina a partir de células simi-odontoblastos sobre las exposiciones pulpares. Por lo que la odontología ha sido durante mucho tiempo pionera en medicina regenerativa (10)(11).

La ingeniería tisular surge como una nueva disciplina en relación a los avances de las últimas décadas en regeneración de tejidos. En 1993 Langer y Vacanti definen a la ingeniería tisular como un campo interdisciplinario, donde se aplican los principios de ingeniería y las ciencias de la salud para el desarrollo de sustitutos biológicos que restauren, mantengan o mejoren la función tisular (12). A partir de estos conceptos, se pueden aplicar los principios de la Medicina Regenerativa a la ingeniería tisular endodóntica. Esta se basa en la manipulación y desarrollo de moléculas, células, tejidos y órganos con el fin de regenerar o reemplazar las funciones de diferentes partes del cuerpo que fueron lesionados o presentan algún tipo de defecto (13)(14).

En endodoncia, Murray y col. señalan que los procedimientos de regeneración pueden ser definidos como procedimientos biológicamente diseñados para reemplazar estructuras dañadas, incluyendo dentina y estructuras radiculares, como también células del complejo dentino-pulpar (2). Estas técnicas involucran alguna combinación de desinfección o debridamiento de los sistemas de conducto radicular infectados con agrandamiento apical para permitir la revascularización y el uso de células madre adultas, andamios y factores de crecimiento.

Los procedimientos regenerativos de la esfera odontológica posteriores al de BW. Hermann, que fue el pionero de estas técnicas, (6) incluyen el desarrollo de procedimientos de regeneración ósea o de tejido guiadas (GBR, GTR) y osteogénesis por distracción (15); la aplicación de plasma rico en plaquetas (PRP) para el aumento óseo (16), el uso de Emdogain para la regeneración del tejido periodontal (17) y la proteína morfogénica ósea humana recombinante (RHBMP) para el aumento óseo

(18); y ensayos clínicos sobre el uso del factor de crecimiento de fibroblastos 2 (FGF2) para la regeneración del tejido periodontal (19).

La endodoncia regenerativa pretende regenerar un tejido similar a la pulpa dental, idealmente, el complejo dentino-pulpar; regenerar la dentina de la corona dañada, por ejemplo después de una lesión cariosa; y regenerar la raíz, la dentina cervical o apical (2)(6). Esto ya fue logrado en animales (20), y en Japón ya comenzaron los ensayos clínicos en humanos, en el que se trasplantaron células madre de la pulpa dentaria con el objetivo de lograr la regeneración pulpar (21)(22).

La terapéutica ideal sería regenerar estructural y funcionalmente un tejido pulpar vivo idéntico al original para revitalizar el diente, en lugar de simplemente llenar el conducto con un material inerte. Esto proporcionaría inmunovigilancia en el conducto, pudiendo desencadenar una respuesta inmunitaria antiinfecciosa en contra de los microorganismos cuando sea necesario (23).

La revascularización surge entonces como un nuevo procedimiento para solucionar las dificultades y evitar las desventajas de la apexificación antes mencionadas. Tiene como objetivo regenerar los tejidos a cargo del desarrollo radicular y lograr así una edificación radicular completa (9).

5. DESARROLLO

5.1. ORGANOGÉNESIS DENTARIA

Para poder regenerar cualquier tejido u órgano, que es uno de los objetivos fundamentales de la endodoncia regenerativa, hay que conocer en profundidad todos los eventos y factores involucrados durante la génesis de los mismos.

Según the New Oxford Dictionary of English (1998), Oxford University Press, Oxford; la palabra “Organogénesis” es definida como: la producción y desarrollo de los órganos de un animal o planta. A nivel médico se ha aplicado a los procesos naturales del desarrollo embrionario y actualmente ha comenzado a emplearse en la creación de órganos vivos o sustitutos por medios artificiales a través de la ingeniería tisular.

A partir de años de investigación en ratones se demuestra que diversos órganos se originan de forma autónoma, los rudimentos de los pulmones, próstata, glándulas salivales, riñones, entre otros pueden extraerse del embrión y colocarse en forma

aislada en medios de cultivos y crecerán de forma típica sin la influencia de tejidos embrionarios. Estas investigaciones mostraron que la información requerida para que el órgano se desarrolle está dentro del órgano en sí, luego de un determinado momento de su desarrollo (13).

La organogénesis comienza durante el desarrollo embrionario y termina con la formación de un órgano. Consta de tres etapas: iniciación, morfogénesis e histodiferenciación (24)(25).

Durante la etapa de iniciación se da la interpretación de información posicional para iniciar la formación del órgano en el lugar y tiempo correctos, a través de comunicación parácrina las células interpretan su ubicación y destino (24).

Las células encargadas de iniciar estos procesos liberan moléculas señal y las difunden en el medio que los rodea generando diferentes gradientes de concentración para dichas señales. Las células competentes que reaccionan a estas moléculas señal, desarrollan una función una vez estimuladas, ya sea apoptosis, diferenciación, proliferación, secreción, etc. Esta comunicación tan importante durante la iniciación se da entre epitelio-conjuntivo para la mayoría de los órganos incluyendo al órgano dentario (5)(24)(25).

La morfogénesis implica la conformación rudimentaria de un órgano, sería como un molde, donde luego se va a formar el órgano propiamente dicho (25).

En la etapa de histodiferenciación, las células, ya altamente diferenciadas, unipotentes, adquieren la capacidad de síntesis y secreción de la matriz de los tejidos constituyentes del órgano en formación (25).

Acercándose a la sexta semana del desarrollo embrionario la cavidad bucal primitiva o estomodeo se encuentra revestida por epitelio de origen ectodérmico (4). Subyacente a este epitelio se encuentra un mesénquima el cual tiene un origen "especial" en la cresta neural, por lo que se denomina ectomesénquima. Este último es quien da origen a los tejidos conjuntivos de la región orofacial, incluidos los tejidos conjuntivos especializados que conforman al órgano dentario. Además es responsable de generar a las células madre de la región, entre ellas, las células madre de la pulpa dentaria (DPSC), células madre diferentes a las del resto del organismo, entre otros elementos por su origen (26).

En la formación de los dientes participan dos tejidos poco diferenciados: el epitelio de origen ectodérmico que origina al esmalte y el ectomesénquima que da origen al

complejo dentino-pulpar, cemento, ligamento periodontal y la compacta periodóntica del hueso alveolar (26).

5.1.1.Etapa de iniciación

Durante la quinta semana de vida intrauterina (VI) del embrión humano, a nivel de los esbozos maxilares, un conjunto de células epiteliales ubicadas donde surgirán los gérmenes dentarios sintetizan y liberan hacia el ectomesénquima subyacente determinadas moléculas señal. Estas señales químicas, tales como proteínas morfogénicas óseas (BMPs), proteínas Sonic Hedgehog (SHH), proteínas Wingless e Int (WNT) y factores de crecimiento fibroblásticos (FGFs), factor transformador del crecimiento (TGF β), estos actúan de forma recurrente en varias etapas (25)(26).

El mesénquima recibe estas señales y en consecuencia de esta inducción epitelial, se vuelve responsable de la continuación del desarrollo. Responde liberando BMP y Activina que llegan al epitelio e inducen cambios en él. Se entiende así como la inducción de epitelio-mesénquima es recíproca y secuenciada (24)(26). El equilibrio entre las señales estimuladoras (FGF, WNTs) e inhibitorias (BMPs) determina el sitio donde se desarrollara el órgano dentario (25).

Las moléculas señal que controlan las etapas tardías del desarrollo de los dientes, incluida la transición de corona a raíz y la formación de raíces, aún no se han determinado completamente. La mayor parte del conocimiento sobre el desarrollo de la raíz se basa en la histología y análisis de imágenes en 3D, aunque algunos estudios han demostrado que la mayor parte de las moléculas señal son las mismas que las que participan en la formación de la corona. La función modeladora de la vaina epitelial de Hertwig sobre la raíz ha sido demostrada (5)(25).

En el desarrollo dentario, las interacciones epitelio-mesenchimáticas provocan proliferación epitelial con la conformación de la lámina dentaria en primera instancia. La proliferación de la lámina en sectores determinados da origen al órgano del esmalte de los diferentes gérmenes dentarios. El mesénquima a su vez prolifera, se condensa y adquiere la capacidad de iniciar la morfogénesis dental en los mismos sectores.

Posteriormente, el epitelio del germen dentario (órgano del esmalte) sufre un plegamiento que determina la forma de la corona dentaria y el número de cúspides, con factores adicionales secretados por el o los nudos del esmalte que regulan estos

eventos. Luego del modelado de la corona comienza la síntesis de los tejidos que la conforman. Las células epiteliales se diferencian en ameloblastos capaces de sintetizar y secretar la matriz del esmalte y las periféricas de la papila (ectomesenquimáticas) se diferencian en odontoblastos. Estos son los primeros en culminar la diferenciación por lo que ocurre primero la secreción de dentina y luego la del esmalte (5)(25).

Durante la octava semana de VI, en zonas predeterminadas genéticamente de la lámina dental, se forman los diez espesamientos epiteliales en cada maxilar, correspondientes a los veinte dientes deciduos de la dentición humana. A partir del 5to mes de VI se desarrollan los 32 gérmenes de las piezas permanentes a lingual o palatino de los deciduos. Los molares se desarrollan por extensión distal de esta lámina. El 1er molar permanente ya existe al 4to mes de VI. El 2do y 3er molar comienzan su formación después del nacimiento, al año el 2do molar y a los 4-5 años de edad el 3er molar (26).

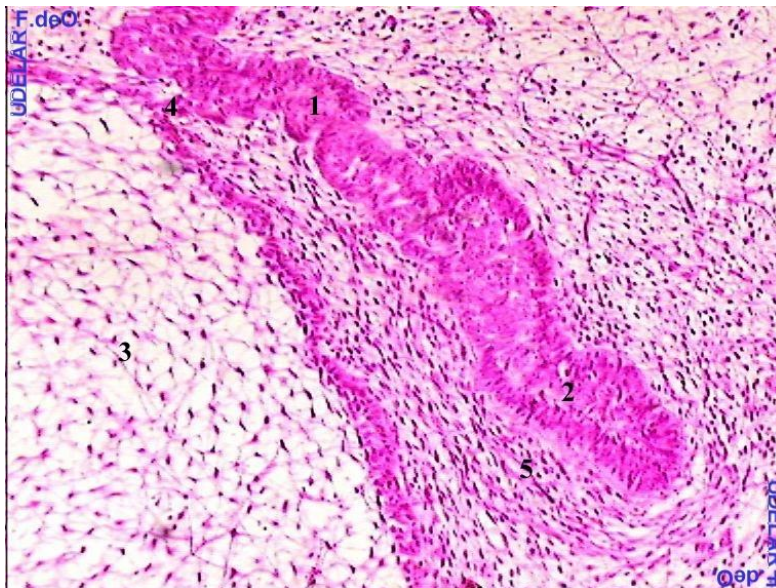


Figura 1: Microfotografía de un germen permanente en estadio de brote (etapa de iniciación). 1) lámina dentaria, 2) epitelio del brote, 3) retículo estrellado, 4) pedículo de Redier y 5) ectomesénquima condensado del germen. Tomado de Atlas de Histología oral de la Cátedra de Histología de la Facultad de Odontología de la UdelaR.

:

5.1.2. Etapa de morfogénesis

Para el desarrollo de los dientes se da una cascada de expresiones genéticas que direccionan cada célula al lugar correcto. Las cinco principales vías de señalización son: BMP (proteína morfogénica ósea), FGF (factor de crecimiento fibroblástico), SHH (sonichedgehog), WNT (Wingless e Int) y EDA (ectodisplasina) (25). Estas moléculas se expresan de forma temporal, pueden actuar como señales para receptores en la superficie de la célula, mediadores que transmiten la señal en la célula o como factores de transcripción que regulan la expresión genética en el núcleo, regulando el destino de las células. El conocimiento de los códigos de los factores de transcripción es fundamental para la reprogramación celular en los estudios de regeneración (24)(25).

Las interacciones recíprocas y secuenciales entre mesénquima dental y epitelio constituyen el núcleo del programa molecular. Estas interacciones están mediadas por moléculas señal que activan la expresión de los factores de transcripción específicos, que a su vez regulan la expresión de otros genes para avanzar en la morfogénesis y la diferenciación celular del diente en desarrollo (25).

Durante el primer estadio evolutivo del germen dentario, estadio de brote (Fig. 1), se diferencia el nudo del esmalte, el cual es una estructura crucial en la evolución de la morfogénesis dentaria. Marca el inicio de la transición de la etapa de brote a casquete. El nudo es embriológicamente un centro de señalización, se trata de un grupo de células ubicadas en la región más profunda de la concavidad del órgano del esmalte. Dichas células son incapaces de dividirse y secretan al intersticio moléculas inductoras de células vecinas (25). Señales que inducen a la proliferación de células con receptores específicos para dichas señales, tanto células competentes epiteliales como mesenquimáticas próximas al nudo. Las células del nudo carecen de receptores para estas señales por lo cual son las únicas células epiteliales del epitelio interno del órgano del esmalte que no proliferan (26).

En el siguiente estadio evolutivo del germen o estadio de casquete (Fig.2) se reconoce en el órgano del esmalte; un epitelio interno revistiendo la concavidad del órgano del esmalte y un epitelio externo en su superficie convexa, ambos en íntimo contacto con el mesénquima. Entre ambos epitelios se haya el retículo estrellado, este protege y acompaña las células formadoras de esmalte (25).

El ectomesénquima en este estadio se encuentra dividido en dos zonas. Una zona bien condensada que se ubica en la concavidad del órgano del esmalte, la papila dentaria la cual dará origen a la dentina y a la pulpa. Y el saco dentario, que rodea la papila y el

órgano del esmalte y dará origen a los tejidos de soporte que conforman el paradencio. La superficie del saco dentario que tiene íntimo contacto con la papila y el órgano del esmalte es un mesénquima rico en células y muy vascularizado, mientras que el sector más periférico presenta un predominio fibrilar que va acentuándose a medida que se diferencian allí nuevos fibroblastos (25)(26).



Figura 2: Microfotografía de un germen en etapa de de casco 1) nicho, 2) lámina lateral, 3) pedículo de Redier, 4) borde profundo de la lámina dentaria, 5) zona del nudo del órgano del esmalte, 6) la papila del germen dentario, 7) muro vestibular. Tomado de Atlas de Histología oral de la Cátedra de Histología de la Facultad de Odontología de la UdelaR.



Figura 3: Microfotografía de la etapa de campana. 1) Órgano del esmalte del germen dentario, 2) papila, 3) saco dentario, 4) lámina dentaria, 5) borde profundo de la lámina y

6) muro vestibular. Tomado de Atlas de Histología oral de la Cátedra de Histología de la Facultad de Odontología de la UdelaR.

5.1.3. Etapa de histodiferenciación

El crecimiento del germen conduce al estadio de campana (Fig.3), se desarrolla entre la semana 14-18 de VI para los primeros gérmenes temporarios. La forma del diente ya se ha definido (morfodiferenciación), siendo el principal responsable de estos cambios el epitelio interno del órgano del esmalte con su nudo del esmalte activo. Las células que forman los tejidos de la corona (ameloblastos y odontoblastos) adquieren su forma definitiva (histodiferenciación) y la corona alcanza su tamaño (25)(26).

La proliferación diferencial y el consecuente crecimiento de los tejidos causados por el nudo del esmalte como centro de señalización, es lo que lleva a modelar el límite amelo-dentinario (entre el epitelio interno del órgano del esmalte y los odontoblastos).

En este estadio queda conformada el ansa cervical que es la zona de unión entre los epitelios interno y externo, es quien se encarga del modelado del cuello dentario. A partir de esta zona, luego de la secreción de todo el esmalte coronario, las células del epitelio interno y externo continúan dividiéndose para dar lugar a la vaina de Hertwig, estructura encargada de la edificación radicular (25).

Durante el modelado de la corona dentaria, el nudo aparece como una estructura única cuando el diente a desarrollarse sea incisal o unicuspídeo y aparecen luego nudos accesorios o secundarios para cada una de las cúspides que se desarrollen en una pieza multicuspídea. En este caso el nudo primario se vincula siempre a la cúspide vestibular o mesio-vestibular siendo por lo tanto estas las más desarrolladas (26).

El nudo, una vez culminado el modelado coronario, involuciona por apoptosis y en ese mismo sector las células del epitelio interno se hacen más altas, reflejando el comienzo de su diferenciación celular hacia células formadoras de esmalte. Estas, los preameloblastos, son las responsables de la función inductora del epitelio interno, liberando bioseñales de acción parácrina hacia el ectomesénquima de la papila dentaria, lo que desencadena la formación de los tejidos duros de la corona dental (26).

La etapa del folículo (Fig.4) del germen dentario queda determinada cuando a nivel de los bordes incisales o de los extremos cuspidos se deposita la primera capa de tejido

dentinario. Algunos autores llaman ahora pulpa dental a la papila y otros lo hacen más adelante en el desarrollo. Podemos afirmar que es en ese momento que surgen las células madre de la pulpa dental (DPSC) (26).

El órgano del esmalte se atrofia una vez formada la corona y pasa a denominarse epitelio reducido, el cual está firmemente unido al esmalte. Una vez que el diente hace erupción clínica, las células del epitelio reducido se unen a la mucosa bucal y conforman la unión dento-epitelial primaria. Este une la encía al diente y establece el surco gingival que es un espacio virtual (26).

La lámina dental que unía el germen dental al epitelio oral, involuciona y se fragmenta por lo que se separa el diente en desarrollo del epitelio que le dio origen. La fragmentación de la lámina dental da como resultado la formación de grupos de células epiteliales que normalmente se degradan, pero algunas pueden persistir y pueden formar pequeños quistes (quistes de erupción) y retrasar la erupción; pueden dar lugar a odontomas; o pueden quedar como perlas epiteliales. Estas estimulan el desarrollo de piezas supernumerarias. Retienen la memoria de los estímulos recibidos, por esto los restos epiteliales podrían ser clave para la regeneración dentaria. Al fragmentarse la lámina dental, el diente continúa su desarrollo dentro de los tejidos de la mandíbula divorciados del epitelio oral. Por lo tanto, antes de que el diente pueda funcionar, debe restablecer una conexión con el epitelio oral y penetrarlo para alcanzar el plano oclusal. Esta penetración del epitelio de revestimiento por el diente, es un ejemplo único de una ruptura natural de un epitelio del cuerpo. La integridad se restablece por la formación de un sello espacial alrededor del diente, el epitelio de unión (25).

La vascularización del germen es administrada por racimos de suministro vascular de vasos sanguíneos que se ramifican alrededor del germen dental en el folículo dental y entran en la papila dental en la etapa de casquete. El órgano del esmalte es avascular, aunque existe una gran concentración de vasos en el folículo adyacente al epitelio externo del órgano del esmalte (25).

En cuanto a la inervación, las fibras nerviosas se acercan al diente en desarrollo durante la etapa de brote-casquete. El objetivo de estas fibras nerviosas es alcanzar primero el saco dentario; las fibras nerviosas se ramifican y forman un rico plexo alrededor del germen dental. No penetran la papila dental (pulpa) hasta que comienza la dentinogénesis. En ningún momento las fibras nerviosas entran al órgano del esmalte (25).



Figura 4: Microfotografía de la etapa de folículo. 1) epitelio externo, 2) retículo estrellado, 3) epitelio interno del órgano del esmalte, 4) presmalte, 5) dentina, 6) odontoblastos, 7) papila del germen, 8) saco dentario, 9) ansa cervical. Tomado de Atlas de Histología oral de la Cátedra de Histología de la Facultad de Odontología de la UdelaR

Formación de la vaina epitelial de Hertwig y de la raíz

Una vez que se completa la formación de la corona, o sea que el esmalte y la dentina han llegado a la zona del futuro límite cemento-adamantino, las células epiteliales del epitelio interno y externo del órgano del esmalte proliferan desde el ansa cervical del órgano del esmalte para formar la vaina epitelial de Hertwig (HERS). Esta se extiende alrededor de la pulpa dental o papila, interpuesta entre esta última y el saco dentario (25).

La papila es inducida por las células del epitelio interno de la vaina para que se diferencien odontoblastos radiculares a partir de sus células ectomesenquimáticas más periféricas. Al depositarse la primera capa de dentina, la vaina epitelial secreta proteínas similares a las del esmalte coronario, luego se fragmenta y pierde su íntima relación con el diente. Sus restos persisten como restos epiteliales de Malassez junto a la superficie de la raíz dentro del ligamento periodontal. Estos restos epiteliales pueden dar origen a quistes periodontales. Hay evidencia que estos restos juegan un papel en

la reparación y regeneración periodontal, regenerando por ejemplo el epitelio de unión largo dañado por enfermedad periodontal (4)(25)(26)(27)(28).

Los epitelios externo e interno de la vaina se curvan en el futuro límite cemento-adamantino en un plano horizontal, estrechando cervical del germen dentario. Con la formación de dentina se alarga la vaina radicular. Al mismo tiempo el mesenquima del saco que rodea la vaina prolifera y atraviesa la doble capa epitelial una vez que la misma se hace discontinua. Las células ectomesenquimáticas del saco dentario que toman contacto con la superficie de dentina radicular recién formada se diferencian en cementoblastos; células encargadas de formar la matriz orgánica del cemento que se mineraliza y en la que se anclan las fibras colágenas del ligamento periodontal (4)(25).

Complejas redes de señalización junto con múltiples factores de transcripción median la interacción epitelio-mesenquima que guían el desarrollo de la raíz (5).

Así como en la formación de la corona, las vías de señalización TGF β /BMP, WNT, FGF y SHH también están implicadas (5).

Señalización BMP / TGF β durante el desarrollo de la raíz: la señalización BMP participa en la regulación de las decisiones del destino celular durante la formación de la vaina epitelial de Hertwig y la diferenciación de los odontoblastos. La pérdida de señalización de BMP en la vaina epitelial de Hertwig compromete las interacciones entre BMP-SHH, lo que altera el entorno de nicho de células madre epiteliales y afecta la formación de HERS, lo que a su vez lleva a desarrollar defectos en la raíz. La inhibición de la actividad de BMP por la sobreexpresión del antagonista en las células epiteliales conduce a la formación tardía de la raíz y a los defectos en su patrón. Sigue sin estar clara hoy en día la función reguladora precisa de la señalización mesenquimática de BMP durante el desarrollo de la raíz (5)(25)(29).

TGF β se expresa en HERS y en el mesénquima dental, la señalización de TGF- β juega un papel más importante en el mesénquima durante el desarrollo de la raíz porque la ausencia de TG β r2 en HERS no afecta la formación de la raíz, mientras que la pérdida de TG β r2 en el mesénquima derivado de la cresta neural si genera un defecto en su desarrollo, se puede generar falta de alargamiento de la raíz, reducida densidad de la matriz de dentina radicular, erupción molar retrasada (5)(25)(30).

Smad4 o DPC4, un mediador central de la vía de señalización BMP / TGF β , controla el tamaño de las raíces, la falta de Smad4 en odontoblastos produce raíces cortas y defectos en la diferenciación de odontoblastos y la formación de dentina (5).

WNT

La señalización de WNT es importante para regular la formación de raíces aunque todavía faltan estudios sobre esta señal. Ha sido probada su expresión en las primeras etapas del desarrollo de los dientes. Wnt10a induce la expresión de Dentin Sialophosphoprotein (DSPP), un gen asociado con la dentinogénesis, estimula la formación de la Sialofosfoproteína, ésta a su vez forma la Sialoproteína dentinaria y la Fosfoproteína dentinaria, esenciales para la formación normal de la dentina. La actividad WNT canónica podría desempeñar un papel en la regulación de la dentinogénesis de la raíz, estudios en ratones nulos Wnt10a demuestran taurodontismo. La diferenciación de odontoblastos y la formación de dentina radicular no se ven afectadas en ratones nulos WNT10a, lo que indica que otros ligandos WNT contribuyen de manera segura a la dentinogénesis de la raíz y que WNT10a debe estar específicamente involucrada en la formación de la furca radicular (5)(31).

La sobreactivación de la señalización de WNT también pueda conducir a un defecto del desarrollo radicular.

La señalización de WNT también interactúa con otras vías de señalización para controlar la formación de raíces. Por ejemplo, la señalización canónica de BMP es necesaria para mantener la expresión de inhibidores de señalización de WNT, como DKK1 y Sfrp1, en odontoblastos para regular la formación de dentina; la pérdida de señalización de BMP en el mesénquima dental conduce a una señalización de Wnt elevada, como resultado de la regulación negativa de DKK1 y SFRP1, y la formación de estructuras ectópicas similares a huesos en la región de la dentina. Por lo que la sobreactivación de WNT también conduce a un defecto del desarrollo radicular (5)(32)

Las células HERS también requieren señalización de WNT mediada por β -catenina para iniciar la formación de cemento radicular después del cese de la señalización de BMP a medida que concluye la formación de la corona del diente. Cuando la señalización de BMP se bloquea a través del agotamiento específico de tejido de BMP1a en el epitelio al final de la formación de la corona del diente, el desarrollo de la raíz se inicia antes de lo normal. Esto sugiere que la interacción entre la señalización de BMP y WNT determina la transición entre la formación de corona y raíz durante el desarrollo del diente (33).

FGF y SHH

Las vías de señalización de FGF y SHH están involucradas en la mediación de las interacciones epiteliales-mesenquimales que son cruciales para la organogénesis. Por ejemplo, la señalización de FGF10 en el mesénquima dental juega un papel clave en el control de la transición de la corona a la raíz a través de la regulación de la formación de HERS. La no expresión de FGF10 en el mesénquima dental cerca del asa cervical epitelial es necesaria para el inicio de la formación de la raíz, y la persistencia de la expresión de FGF10 es necesaria para el crecimiento continuo de la corona. Por lo que FGF10 regula la interacción epitelio-mesénquima que se da entre la formación de corona y raíz durante el desarrollo del diente (5)(34).

La vía de señalización de SHH está involucrada en la regulación de las interacciones entre el HERS y el mesénquima derivado de la cresta neural durante la formación de la raíz. SHH es secretado por las células epiteliales dentales de la región apical de las raíces (5).

La inhibición de la vía SHH antes del inicio de la raíz, a través del tratamiento con el inhibidor de sonic, conduce a una disminución de la proliferación de células mesenquimales alrededor del HERS y una raíz de longitud reducida (35).

En conclusión existen múltiples activadores e inhibidores que parecen funcionar juntos para lograr un resultado de señalización equilibrado y producir el patrón, el número y la longitud adecuada de las raíces dentales durante las etapas posteriores de la morfogénesis dental. Al mismo tiempo, los defectos del desarrollo de la raíz del diente son parte de la herencia monogénica, multifactorial y de trastornos cromosómicos (5).

La destrucción completa de la vaina epitelial de Hertwig ya sea por un traumatismo, por una lesión cariosa o por cualquier otra noxa resulta en el cese del desarrollo normal de la raíz. Sin embargo, esto no significa que se detenga la deposición de tejido duro en el ápice radicular. Si se destruye la vaina se detiene la diferenciación de odontoblastos, sin embargo el tejido duro puede formarse por cementoblastos presentes en la región apical y por osteoblastos del folículo dental y ligamento periodontal que se diferencian después de la lesión (36).

5.2. INGENIERÍA TISULAR

La Ingeniería tisular en odontología no solo se enfoca en la eliminación del tejido enfermo sino también en el reemplazo y regeneración del complejo dentino-pulpar (13). La definición más temprana de Ingeniería tisular fue la de Langer y Vacanti, que la definieron como “un campo interdisciplinario que aplica principios de ingeniería y ciencias de la vida hacia el desarrollo de sustitutos biológicos que restablezcan, mantengan o mejoren la función tisular”(14). A través de los años, las definiciones se modificaron y se enfatizaron otros aspectos. MacArthur y Oreffo definieron a la ingeniería tisular como un “comprender los principios del crecimiento tisular y aplicar esto para producir tejido de reemplazo funcional para uso clínico” (37). Recientemente Murray y colaboradores dijeron que “la ingeniería tisular es el empleo de estrategias terapéuticas biológicas para ser la base esencial de la medicina regenerativa que utiliza células, materiales de ingeniería y factores bioquímicos adecuados para reparar o reemplazar estructuras dañadas debido a enfermedades, traumas o cáncer. Estos principios se pueden transferir a la odontología en el campo del tejidos endodónticos así como los tejidos periodontales (2).

Debido a la naturaleza no vital del esmalte maduro y la pérdida de los ameloblastos una vez secretado el esmalte durante el desarrollo del diente, la regeneración del esmalte incluye muchos problemas, con la excepción de los procesos de remineralización físico-química. El complejo dentino-pulpar, por otro lado, proporciona oportunidades sustanciales para la regeneración. Para el éxito de los procedimientos regenerativos es fundamental el control de la infección bacteriana y la inflamación sucesiva en el diente (13).

Los tres componentes esenciales de la Ingeniería tisular con un correcto ensamblaje espacial son: células madre, factores de crecimiento y un soporte o andamio (13). Meschi en el 2018 agrega un componente más, un ambiente estéril (38).

5.2.1. Células madre

Constituyen la fuente de diferenciación de células para la formación de los tejidos durante el desarrollo y para la regeneración de tejidos enfermos o lesionados después del parto. La investigación de estas células ha crecido exponencialmente en estos

últimos años ya que se ha reconocido que la terapia con ellas puede mejorar e incluso salvar la vida de las pacientes con diferentes afecciones (39).

Son una subpoblación de células indiferenciadas con capacidad de autorenovación y diferenciación. Se distinguen en pluripotentes y multipotentes. Las primeras son capaces de diferenciarse en cualquier tipo celular, así como de reproducirse indefinidamente en un estado indiferenciado. Se pueden diferenciar en cualquiera de las 3 capas germinativas. A estas células madre pluripotentes se las conoce como células madre embrionarias CME, por razones éticas, legales y médicas (rechazo de tejido) estas células resultan inapropiadas para aplicaciones clínicas. También se pueden obtener células madre pluripotentes inducidas iPSC, que están siendo objeto de intensa actividad en investigación, ya que se obtienen de células del individuo que las necesita, sin generar rechazo inmune y tienen las características de las embrionarias: pluripotencia y capacidad indefinida de división. Las iPSC derivan de células de la piel, de la sangre o de otros tejidos, que se han reprogramado en un estado pluripotente de tipo embrionario permitiendo el desarrollo de una fuente ilimitada de cualquier tipo de célula humana necesaria para fines terapéuticos (13)(40)(41). Algunas desventajas hacen que aún se encuentren en proceso de investigación.

Las células multipotentes, células madre adultas (CMA) son capaces de diferenciarse en diversos tipos celulares, así como reproducirse ampliamente en un estado “poco diferenciado”. Un ejemplo de estas son las células mesenquimatosas adultas (MSC) que presentan capacidad de diferenciación más limitada que las embrionarias, al formar solo tejidos de origen mesenquimático. Las células madre de la pulpa dental (DPSC) son una fuente óptima de células madre adultas, ya que son fácilmente obtenidas de dientes extraídos y puede multiplicarse en condiciones de cultivo simple (42).

Las células madre se hallan compartimentalizadas en nichos de células madre, estos nichos son el ambiente o entorno que hace que las células persistan durante toda la vida del individuo en estado poco diferenciado en el tejido maduro (13). El nicho contiene además células del estroma, células inmunes, factores de crecimiento, citocinas, moléculas de adhesión, otras moléculas bioactivas, matriz extracelular y fibras nerviosas. Si las células madre abandonan sus nichos específicos, su comportamiento biológico y su destino cambiarán debido al nuevo nicho (43).

La mayoría de las células madre de la región orofacial son MSC, muchas de las cuales tienen mayor plasticidad que otras células madre mesenquimáticas por presentar un origen “especial” en la cresta neural. Esta característica las diferencia de otras células mesenquimáticas del resto del organismo originadas a partir del mesodermo. Las células madre más estudiadas en la esfera oral son (Fig.5): células madre de la papila apical (SCAP), células progenitoras periapicales inflamatorias (iPAPC), células madre de los folículos dentales (DFSC), células madre de la pulpa dental (DPSC), células madre del ligamento periodontal (PDLSC), células madres de la médula ósea (BMSC), células progenitoras del germen dental (TGPC), células madre de las glándulas salivales (SGSC), células madre de los dientes deciduos humanos exfoliados (SHED), células madre epiteliales orales (OESC), células madre mesenquimatosas derivadas de las encías (GMSC) y células madre derivadas del periostio (PSC) (7)(13)(26).

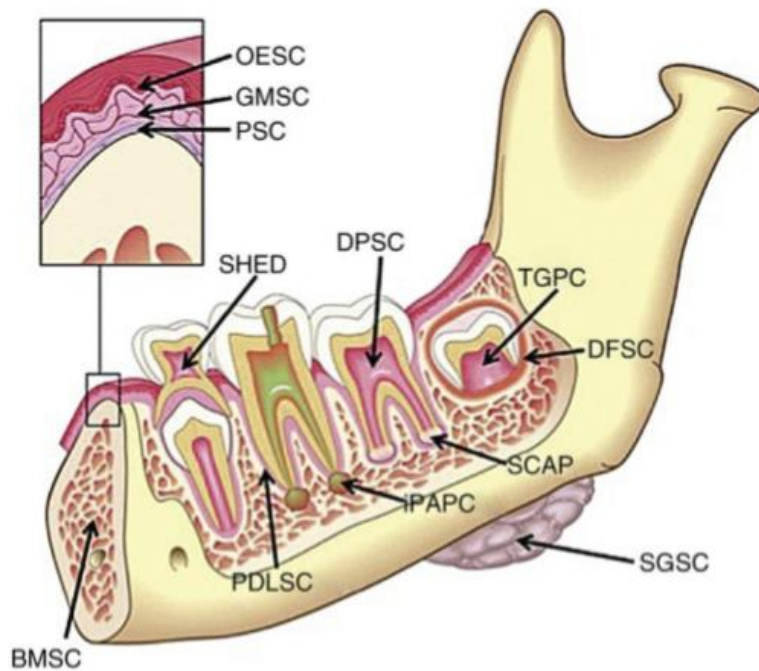


Figura 5: Localización de las células madre más estudiadas en la esfera oral. Imagen tomada de Cohen (7).

Las células más usadas para endodoncia regenerativa se localizan en torno a la región periapical y comprenden las SCAP, PDLSC, BMSC, iPAPC y DPSC (siempre que la pulpa persista vital) (7).

Las DPSC se encuentran a lo largo de toda pulpa dental, tienden a acumularse en la proximidad de los capilares sanguíneos y en la zona de Höhl. En esta zona se encuentran las células subodontoblásticas de Höhl, subyacente a la capa de odontoblastos. Estas células participan en la formación de dentina reparadora siempre que la pulpa este vital y se resuelva la etiología ya sea caries o trauma. Diversos biomateriales, como el MTA o Biodentine® potencian la formación de nuevo tejido mineralizado, estimulando la diferenciación celular a través de moléculas señal. Por otra parte, si la pulpa se necrosa, es posible intentar regenerar, luego de limpiar y desinfectar el espacio ocupado por el tejido necrótico para liberar allí células madre entre otros elementos que favorezcan la regeneración.

Las DPSC tienen gran potencial para uso en la reparación de tejidos y medicina regenerativa. Se pueden recoger de dientes extraídos por razones ortodónticas, de terceros molares, supernumerarios o temporarios con cierta facilidad y a través de técnicas mínimamente invasivas y seguras. Además, no hay implicancias éticas y religiosas para su cosecha. Las DPSC son heterogéneas y contienen más de una población de células madre (7)(26).

Las DPSC se diferencian in vitro en una gran variedad de células, no solamente de estirpe conjuntiva, sino que también nerviosa. Se han logrado diferenciar in vitro en osteoblastos, condrocitos, adipocitos, mioblastos, endotelios y melanocitos, así como neuronas. In vivo pueden diferenciarse en odontoblastos e inducir regeneración del complejo dentino-pulpar. También en osteoblastos y células endoteliales para producir tejido óseo adulto. Estos potenciales de diferenciación multilínea de DPSC sugieren su utilidad en varios campos de la medicina regenerativa (13).

Las MSC parecen generar una red que facilita la comunicación constante entre células normales y dañadas en el cuerpo y migrar al sitio de lesión en respuesta a señales de daño celular, conocidas como señales de referencia. Aún no se han identificado claramente los factores quimiotácticos para las DPSC, pero muestran alta actividad migratoria in vitro con varias citocinas o factores de crecimiento; TGF- β 1 y FGF-2.

Los DPSC ofrecen potencial regenerativo frente a los daños o pérdida de varios tipos diferentes de tejidos y órganos incluyendo dentina, pulpa, tejido periodontal, tejido óseo, tejido neuronal, sangre, vasos, músculo, cartílago, folículo piloso y córnea (44).

5.2.2. Factores de crecimiento

El reclutamiento de células madre / precursoras periodontales en el conducto, así como su diferenciación hacia los diversos linajes de células, requiere la acción de factores de crecimiento inductivo liberado por el andamio o la matriz de dentina (23).

Los factores de crecimiento y los factores morfogénicos son proteínas que se unen a receptores de membrana específicos y desencadenan una serie de vías de señalización que coordinan todas las funciones celulares. Estas moléculas morfogénicas desempeñan un papel fundamental en los procesos fisiológicos de regeneración de tejidos, por ejemplo, la cicatrización de heridas en la piel o las respuestas pulpares ante una lesión cariosa. Los mismos factores de crecimiento que guían la embriogénesis y la regeneración fisiológica del tejido también se pueden usar terapéuticamente para guiar la diferenciación de células madre hacia destinos específicos donde se necesita la generación de un nuevo tejido u órgano (13)(39).

Representan un grupo de proteínas que se unen a los receptores de la célula e inducen la proliferación, diferenciación celular, apoptosis o expresión de factores de transcripción en células competentes. Las competentes, son células que expresan receptores específicos para las moléculas señal, si no hay receptores no hay respuesta por más de que la señal este altamente concentrada en el sitio (13).

Estas moléculas secretadas extracelularmente juegan un papel fundamental en la señalización de numerosos procesos de ingeniería tisular. En particular, los eventos que se asocian con la lesión inicial de un tejido y los mecanismos de defensa subsiguientes, se ven significativamente influenciados en sus capacidades regulatorias (13).

El desarrollo del germen dentario, depende de interacciones recíprocas y secuenciadas entre epitelio-mesénquima, las que permiten que a partir de estos tejidos se desarrolle el germen para luego diferenciarse en él las células responsables del desarrollo de esmalte, dentina y pulpa: odontoblastos, ameloblastos y demás células de la pulpa.

Los factores de crecimiento son moléculas bioactivas difusibles que se mueven entre los compartimentos epiteliales y mesenquimáticos del germen dental y conducen a estas interacciones. En particular, algunos factores de crecimiento específicos de la familia TGF-B parecen ser de gran importancia para la señalización de diferenciación de odontoblastos. Factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) -2, el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y el factor de crecimiento derivado de plaquetas

(PDGF) promueven la angiogénesis y la regeneración pulpar (23). Durante la etapa de campana tardía del desarrollo del diente, el epitelio dental interno secreta estos factores, generando señales que ofician de estímulo para las células periféricas de la papila que se diferencian en odontoblastos en respuesta.

Teniendo en cuenta estos mecanismos de diferenciación de los odontoblastos durante el desarrollo del diente, varios investigadores científicos supusieron procesos similares durante la dentinogénesis reparadora. Los factores de crecimiento son contribuyentes potenciales a la reparación del tejido dental. A pesar de la ausencia de epitelio dental para iniciar la diferenciación celular odontoblástica, la matriz de dentina es autoinductiva. La matriz de dentina desmineralizada o extractos solubles de la matriz de dentina implantados en sitios de exposición pulpar, así como las astillas de dentina que surgen de desechos operativos son capaces de estimular dentinogénesis reparativa (13).

5.2.3. Soportes o andamios

Los tejidos se organizan como estructuras tridimensionales en las que el soporte es necesario para: 1- proporcionar una posición espacial correcta para la ubicación de las células, y 2- regular la diferenciación, la proliferación o el metabolismo, favoreciendo el intercambio de nutrientes y gaseoso.

Nuestras células requieren interacciones con su microambiente para sobrevivir, proliferar y funcionar. Naturalmente estos entornos tridimensionales son en gran parte compuestos de proteínas de la matriz extracelular. En Ingeniería tisular estos entornos se proporcionan mediante el uso de andamios biodegradables y biocompatibles. Proporcionan un entorno que permite la adhesión de las células, su proliferación, migración y diferenciación hasta que estas células y las células huésped comiencen a secretar y dar forma a su propio microambiente (39). Un andamio ideal debe ser biocompatible, imitar la matriz extracelular para recrear el entorno natural de las células y mantener las necesidades fisiológicas del tejido en regeneración. Debe ser degradado de manera controlada y reproducible sin la liberación de subproductos citotóxicos, y debe tener una cinética que permite su reemplazo coordinado por el tejido recién formado (23).

Se clasifican en naturales y sintéticos. Ejemplos de soportes naturales son el colágeno, los glucosaminoglucanos, el ácido hialurónico, la matriz de dentina desmineralizada o nativa y la fibrina. Entre los soportes sintéticos se encuentran el ácido poli L- láctico, el ácido poliglicólico, la hidroxiapatita/fosfato tricálcico, los biocerámicos y los hidrogeles. Los sintéticos permiten la manipulación de sus propiedades fisicoquímicas, como la tasa de degradación, el tamaño de los poros y la resistencia mecánica. Estos son biodegradables y biocompatibles, permitiendo el crecimiento y diferenciación celular, lo que los hace muy adecuados para aplicaciones de ingeniería de tejidos.

La mayoría de las intervenciones endodónticas regenerativas publicadas implican hemorragia provocada y formación de un coágulo de sangre que actúa como soporte. Este coágulo a menudo es difícil de conseguir y no presenta muchas propiedades que correspondan al soporte ideal; como liberación simple, propiedades mecánica apropiadas, biodegradación controlable e incorporación de factores de crecimiento. Además, el coágulo contiene numerosas células hematopoyéticas, que al morir liberan numerosas moléculas intercelulares tóxicas al microentorno, con el consiguiente perjuicio para la supervivencia de las células madres (7)(13)(39).

Otra forma de generar un soporte es usar plasma rico en plaquetas autólogo, este es rico en factores de crecimiento, se degrada en el tiempo y forma una matriz de fibrina tridimensional. También se utiliza el plasma rico en fibrina (PRF). Estos presentan inconvenientes, el proceso requiere obtención de sangre intravenosa, lo cual es problemático en niños, además la diversidad y concentración de factores de crecimiento no es controlable. Incluso carecen de degradación temporal y de fuerza mecánica para servir de soporte a una restauración coronal.

Los hidrogeles están constituidos por polímeros hidrófilos tridimensionales que absorben agua o líquidos tisulares hasta varias veces su peso. Estos materiales son fácilmente inyectables en forma coloidal y experimentan gelación por procesos químicos o físicos. Son ajustables, biocompatibles y pueden diseñarse asemejándose a matrices extracelulares naturales.

Sistema de liberación: la mezcla de células madre, factores de crecimiento y soportes debe liberarse siguiendo un modelo espacial apropiado en el sistema de conductos. Casi todas las células de cuerpo se encuentra a no más de 20 micras de distancia de un vaso sanguíneo para mantener la difusión adecuada de oxígeno y nutrientes. En la endodoncia regenerativa esto constituye uno de los retos por superar ya que en el

sistema de conductos está desprovisto de vascularidad lateral y se encuentra a varios milímetros de vasos sanguíneos apicales.

Otra dificultad que se presenta en el sistema de conductos es la anatomía compleja y diversa como para poder llegar a regenerar tejido pulpar a lo largo de todo el sistema. Esto implica la necesidad de generar un scaffold o andamio fluido o en gel que permita que la regeneración se dé a lo largo de todo el sistema. Andamios inyectables permiten el trasplante de células madre en toda la extensión del conducto radicular. Los hidrogeles tienen un gran potencial para numerosas aplicaciones de ingeniería de tejidos y administración de fármacos debido a sus propiedades viscoelásticas y características de difusión. Son fáciles de manejar e inyectables, y las células pueden encapsularse y distribuirse uniformemente, y son similares a la matriz extracelular. Materiales naturales como colágeno, alginato y fibrina han sido utilizados para la entrega de células o drogas, pero el control limitado sobre los procesos de gelación, propiedades mecánicas y degradación han llevado al desarrollo de hidrogeles sintéticos (7)(13)(20)(45)(46).

Puramatrix® es un definido, hidrogel peptídico autoensamblable que polimeriza instantáneamente en condiciones fisiológicas normales.

5.3. ENDODONCIA REGENERATIVA

La pulpa dental está conformada por un tejido conectivo especializado, es responsable de la vitalidad y salud de los dientes, pero también de la sensación de dolor, la defensa inmune y de la reparación / regeneración de tejidos después de una lesión dental (39). Presenta en su parte exterior una capa de odontoblastos (Fig.6), cuyos cuerpos permanecen en la pulpa y los largos procesos odontoblásticos se extienden hacia los túbulos dentinarios, atravesando la predentina. Esta orientación específica de dichas células hace que la pulpa y la dentina actúen como un órgano completo, llamado complejo dentino-pulpar. Presentan relaciones anatómicas, funcionales y de desarrollo. La pulpa responde a lesiones dentales incluso cuando se estimula indirectamente. Los odontoblastos forman la predentina y los diferentes tipos de dentina, primaria hasta el desarrollo completo de la raíz, secundaria durante toda la vida del diente y terciaria en respuesta a las injurias que afectan la pieza dentaria. Entre los odontoblastos se encuentran capilares, fibras nerviosas y células dendríticas. Los cuerpos de los

odontoblastos están comunicados a través de complejos de unión hermético y comunicantes, estos últimos están conformados por conexinas que permiten el pasaje de moléculas señales de una célula a otra (7).

Subyacente a la capa de odontoblastos, se encuentra zona oligocelular de Weil o también llamada zona pobre en células; presenta fibras nerviosas amielínicas, una red capilar desarrollada y las delgadas prolongaciones citoplasmáticas de los fibroblastos. Esta zona no está presente, en pulpas jóvenes donde la dentina se forma muy rápido o en pulpas viejas donde se forma dentina reparadora, por lo que su presencia dependerá del estado funcional de la pulpa. Subyacente a la anterior se encuentra la capa rica en células, la cual presenta fibroblastos que son las células más abundantes en la pulpa, células endoteliales, nerviosas, inmunes y células madre indiferenciadas, junto con una matriz extracelular que presenta proteínas fibrilares y sustancia fundamental, haciendo a la pulpa un tejido único. Los fibroblastos sintetizan entre otros elementos de la matriz, colágeno tipo I y III y a su vez lo degradan y fagocitan, por lo que son encargados del recambio de colágeno en la pulpa. También producen y mantienen el resto de las proteínas de la matriz extracelular. La división celular en esta capa casi no se da en pulpas normales, la muerte de odontoblastos aumenta el número de mitosis, cuando los odontoblastos son dañados y reemplazados por células de esta capa que se desplazan hasta la superficie interna de la dentina. Las células Höhl son las responsables de la formación de estos nuevos odontoblastos (7)(25)(40)(47)(48)(49).

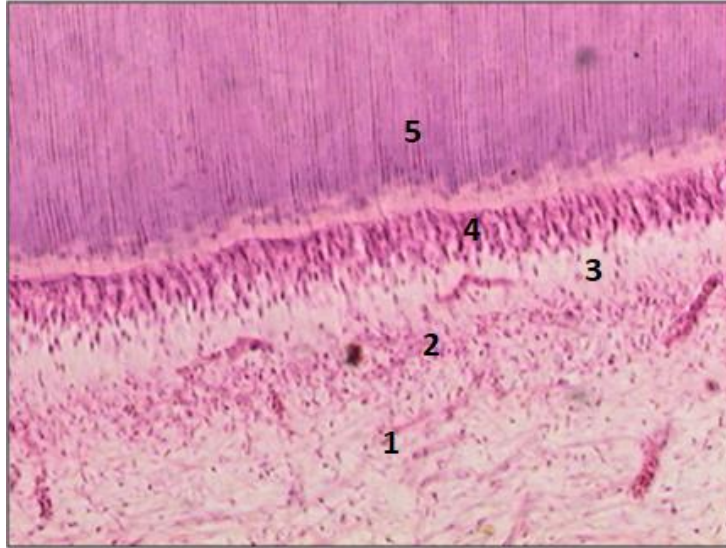


Figura 6: Complejo dentino-pulpar. Coloración H.E. Aumento inicial 10x. 1) Zona central de la pulpa dentaria/ 2) Estrato polimorfo/ 3) Zona basal de Weil/ 4) Odontoblastos de la zona coronaria/ 5) Dentina mineralizada. Foto tomada del Atlas de Histología oral de la Cátedra de Histología de la Facultad de Odontología de la UdelaR.

La pulpa contiene el sistema de defensa inmune del diente que se activa contra la presencia de biofilm cariogénico oral durante la enfermedad de caries dental, y la maquinaria de reparación / regeneración de tejidos involucrada después de la erradicación del mismo (23).

La pulpa también puede lesionarse por un traumatismo, desgaste excesivo por tallado dentinario o por invasión bacteriana. La penetración de bacterias a través del esmalte (o cemento), hace que la dentina active mecanismos de defensa dentro del tejido pulpar que se desarrollan rápidamente, conduciendo finalmente a que se desencadenen eventos inmunes / inflamatorios irreversibles agudos que destruyen totalmente la pulpa (23) pudiendo llegar a producirse un cuadro de necrosis pulpar. Si la pulpa se afecta de forma irreversible, el tratamiento va a depender del diagnóstico pulpar y/o perirradicular, además de la edad dentaria (7).

5.3.1. Microbiología endodóntica

En condiciones normales el complejo dentino-pulpar se encuentra estéril, protegido por sus capas protectoras naturales, el esmalte, y el cemento; cuando, por ejemplo, por lesión cariosa, traumatismos, procedimientos de operatoria, raspado y alisado o por defectos naturales, estas capas se alteran, pueden invadir microorganismos a la pulpa. Cuando la dentina está expuesta hay mucho más riesgo de penetración bacteriana porque ambos tejidos forman una unidad, compartiendo los odontoblastos. Sin importar la vía de invasión bacteriana al conducto radicular, la necrosis de la pulpa es un requisito previo para la instalación de las infecciones endodónticas primarias. Si la pulpa está vital se defiende de la invasión y colonización bacteriana, pero si se necrosa las defensas del huésped no actúan (7).

Los patógenos endodónticos necesitan para su supervivencia formar comunidades, organizarse a través de biopelículas y estar integrados metabólicamente (50). La biopelícula o biofilm es una comunidad microbiana multicelular unida firmemente a la superficie, inmersa en una matriz generalmente de polisacáridos. Esta matriz no sólo es importante físicamente porque le da soporte a la biopelícula sino que también retiene agua, nutrientes y enzimas esenciales, además participa en la adherencia a la superficie y protege a los microorganismos de las amenazas del exterior. La capacidad de formar una biopelícula se considera un factor de virulencia. La heterogeneidad fenotípica se da por la exposición a varios gradientes ya sea PH, tensión de oxígeno, nutrientes, etc lo que lleva a que se formen diferentes microentornos dentro de la misma biopelícula (7).

Las infecciones endodónticas se pueden clasificar en intrarradicular y extrarradicular según su localización anatómica, las intrarradiculares a su vez pueden ser primarias, secundarias o persistentes según el momento que colonizan el conducto. Las primarias una vez que la pulpa se necrosa la invaden y la colonizan. La secundaria es causada por microorganismos que no están presentes en la primaria pero son introducidos en algún momento durante la intervención del odontólogo o por fallas en el sellado coronario. Y la persistente es causada por los microorganismos que fueron resistentes a la infección primaria y secundaria. La extrarradicular se desarrolla cuando hay invasión de los tejidos perirradiculares inflamados y es una consecuencia de la infección intrarradicular, a su vez puede ser independiente de esta o dependiente. En las infecciones primarias las especies que predominan son la mayoría gramnegativas (*Fusobacterium*, *Dialister*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Tannerella*, *Pyramidobacter*,

Treponema, Campylobacter y Veillonella) y grampositivas (Parvimonas, Filifactor, Pseudoramibacter, Streptococcus, Propionibacterium, Olsenella, Actinomyces, Peptostreptococcus y Eubacterium) (7).

Las infecciones primarias comprenden cocos, bacilos, filamentos, espirilos que son espiroquetas y algunos hongos (51). Peters y col, estudiaron a través de inmunohistoquímica que los géneros bacterianos con más presencia en diferentes profundidades de la dentina radicular eran Prevotella, Porphyromonas, Fusobacterium, Veillonella, Peptostreptococcus, Eubacterium, Actinomyces, Lactobacilos y Estreptococos (52).

5.3.2. Indicaciones de Técnicas de Endodoncia regenerativa

Como ya se mencionó si se daña de forma irreversible la pulpa de un diente permanente, su tratamiento va a depender del diagnóstico y de la edad dentaria. A través de radiografías se puede determinar la edad dentaria. Los dientes permanentes jóvenes recientemente erupcionados presentan ápice abierto o inmaduro. La maduración se completa habitualmente durante los tres años siguientes a la aparición del diente en boca. La anatomía de cámara pulpar y radicular es similar a la de los dientes permanentes maduros, aunque los primeros tienen la cámara y conductos pulpares más amplios. Los dientes permanentes jóvenes presentan paredes radiculares delgadas y una relación corono-radicular desfavorable; esto los hace más propensos a las fracturas y no aptos para tratamiento endodóntico convencional en caso de patologías pulpares irreversibles. La reconstrucción corono-radicular será dificultosa. Los implantes generalmente están contraindicados en pacientes jóvenes con un esqueleto cráneo-facial en crecimiento. En situaciones donde se produce necrosis pulpar, mueren odontoblastos lo que resulta en una interrupción de la formación de la raíz. Hasta hace 40 años estas piezas se trataban con técnicas de apexificación, hoy en día la terapia endodóntica regenerativa proporciona un enfoque de tratamiento alternativo que se basa en los principios de la medicina regenerativa y de ingeniería de tejidos (1)(53)(54).

Técnica de apexificación

La apexificación era el tratamiento de primera elección en dientes permanentes jóvenes donde ya sea por causas traumáticas, lesiones cariosas o alteraciones del desarrollo, perdieron la vitalidad pulpar lo que conlleva a que el desarrollo radicular se detenga. Este tratamiento comienza con aislación absoluta de la pieza, acceso, irrigación con solución de hipoclorito de sodio (NaOCl) al 1%, conductometría, limpieza del conducto radicular, con limas sin ejercer presión sobre las paredes, siempre irrigando con NaOCl al 1 %. Cambios periódicos de medicación intraconducto de Ca(OH)₂, corroborando a través de radiografías que no queden espacios radiolúcidos que identifiquen la ausencia de medicación. Se realiza control inmediato a la semana y cada 60 días y se debe observar: ausencia de signos de fracaso (fístulas, dolor, tumefacción, aumento de la lesión perirradicular), reparación de la lesión perirradicular y formación de barrera apical. Una vez que se den todas estas condiciones se obtura el conducto. Las desventajas de la apexificación son que es un tratamiento muy prolongado, con largos períodos de tiempo con Ca(OH)₂, lo que puede conducir al debilitamiento de la raíz debido a sus propiedades higroscópicas, así como su actividad proteolítica. Se necesitan consultas frecuentes e inevitablemente altos costos clínicos, además del compromiso del paciente. Las dimensiones radiculares así como la morfología externa e interna se verán alteradas, las paredes permanecerán con un espesor delgado sobre todo en tercio medio y cervical predisponiendo a fracturas (47)(55)(56).

Como alternativa a la apexificación clásica surge el tratamiento utilizando MTA para la formación de una matriz apical. Esta técnica presenta la ventaja de concluir el tratamiento en 1 o 2 sesiones. El MTA posee buena capacidad de sellado, es un material biocompatible y proporciona una barrera para la obturación inmediata, como desventaja esta técnica no promueve el desarrollo radicular por lo que las paredes se mantienen delgadas, susceptibles a las fracturas y la pieza mantiene entonces una relación corono-radicular desfavorable (54)(57).

5.3.3.Revitalización/Revascularización

Actualmente surge la técnica de revitalización/revascularización que forma parte de la endodoncia regenerativa para el tratamiento de las piezas permanentes jóvenes (Fig.7) que sufren necrosis pulpar, estimulando a la raíz para que continúe con su crecimiento en ancho y largo.

No se ha logrado incluso con técnicas de endodoncia regenerativa evitar el debilitamiento a nivel cervical que genera la cavidad de acceso. Esta cavidad solo se pudo restaurar con materiales artificiales, no se repara ni se regenera, por lo que se debilitan aún más estas piezas (58).

El término “revascularización” está bien establecido en la literatura de endodoncia y se relaciona con el restablecimiento de la vascularización en el espacio pulpar después de lesiones traumáticas que cortan el suministro de sangre a la pulpa en los dientes permanentes jóvenes (59). Existe controversia entre autores sobre el término que más se adapte a este procedimiento. Las técnicas de endodoncia regenerativa buscan la formación de tejido pulpar nuevo, lo que necesitaría la presencia de odontoblastos capaces de formar dentina. Con esta técnica no se han logrado regenerar odontoblastos, lo que ocurre dentro del conducto es una invaginación y un crecimiento de tejido periodontal. El tejido duro que se forma a nivel apical es cemento o un tejido más similar al óseo, que se coloca sobre la dentina preexistente, alargando y ensanchando las paredes del conducto (60). Por tanto, el concepto de “revitalización pulpar” podría ser más acertado ya que hace referencia a un tejido vital no específico, ya sea dentina, cemento, ligamento o tejido óseo, en lugar de solo vasos sanguíneos como implica el término "revascularización" (61).

La revitalización se define como un tratamiento regenerativo que permite el desarrollo radicular en largo y ancho y cierre de la región apical en dientes permanentes jóvenes, debido a que tiene el potencial de crear tejido duro en casos de necrosis pulpar. También resuelve signos y síntomas como dolor, inflamación y revierte lesiones periapicales. Tiene como objetivo la regeneración de tejido pulpar dentro del conducto después de inducir la entrada de células madre de la papila apical (62).

En el año 2005 Windley y col. enuncian que para lograr un tratamiento de revascularización/revitalización predecible es indispensable: la desinfección del conducto, la colocación de una matriz para facilitar la formación de tejido y sellado coronario adecuado para evitar la percolación bacteriana (63).

Existen diferentes protocolos para las técnicas de revitalización, pero es común a todos la descontaminación del sistema de conductos, esta desinfección es clave para el éxito de este procedimiento. No se recomienda realizar regeneración sobre pulpas necróticas sin previa desinfección y medicación intraconducto, ya que en condiciones de infección las pocas células madre de la pulpa que sobreviven son incapaces de regenerar (7). Antiguamente se le daba importancia al efecto antimicrobiano del irrigante y no se tenía en cuenta el efecto que el mismo producía sobre las células madre. En la técnica de revitalización la instrumentación es mínima o nula, se coloca medicación intraconducto, pasta triantibiótica (metronidazol, ciprofloxacina y minociclina) o Ca(OH)_2 ya que éste no revela toxicidad para las células madre. Sin embargo las pastas antibióticas afectan la supervivencia de las células madre de la papila apical (SCAP)(64).

Se genera un coágulo a partir de una irritación mecánica intencional de los tejidos periapicales, la sangre que ocupa el conducto genera una matriz de fibrina que funciona como soporte o andamio natural. Junto con factores de crecimiento y células madre de la papila apical (SCAP), puebla el andamio, induciendo engrosamiento de la pared del conducto. Esta técnica tiene las ventajas de ser simple, fácil y de bajo costo. Por lo tanto, para el éxito del tratamiento debe lograrse la desinfección del conducto: con infección no hay reparación. La hemorragia debe ser suficiente para dar soporte a la revascularización y formación de un nuevo tejido. La edad del paciente es otro factor a tener en cuenta, los pacientes jóvenes tienen mayor posibilidad de reparación (65)(66).

Luego de la revitalización a través de muestras histológicas se ha observado tejido fibroso, cemento o tejido óseo dentro del conducto, los mismos son tejidos de reparación, no de regeneración. Se define el tejido de reparación como un tejido ectópico con parcial pérdida de función (54).

Según un estudio inmunohistoquímico realizado por Meschi y col, para buscar evidencia de angiogénesis, neurogénesis y reparación y / o regeneración del complejo dentino-pulpar en un diente permanente joven con necrosis luego de realizarle una revitalización; no se observó la formación de tejido pulpar, sí de un tejido conectivo similar a la pulpa con fibroblastos rodeados de fibras nerviosas y vasos sanguíneos, osteodentina contra las paredes del conducto radicular, en la superficie radicular cemento y ligamento. Radiográficamente se reparó la lesión perirradicular y hubo desarrollo radicular. El resultado ideal sería regeneración del complejo dentino-pulpar.

Se plantea la interrogante de si ese tejido que se forma hace a la raíz resistente a la fractura, para lo que se necesitan nuevos estudios (67).

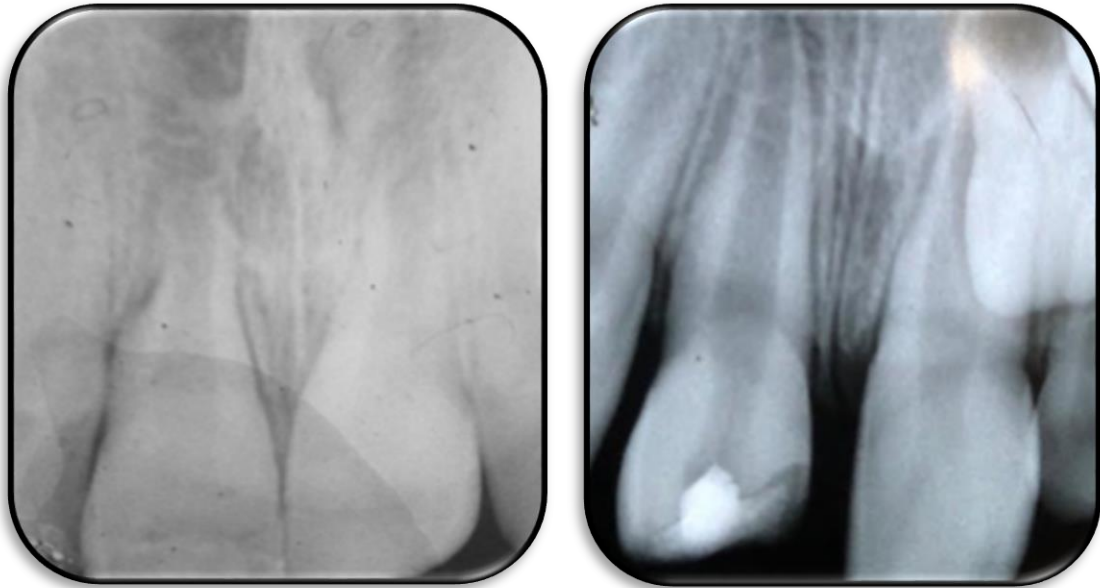


Figura 7: Radiografías iniciales de dos pacientes a los que se le realizaron técnicas de revitalización en piezas 11, ambas con diagnóstico de necrosis pulpar, con ápice inmaduro. Especialidad de Endodoncia (2018).

5.3.4. Tejidos formados en el conducto radicular posterior a la técnica de revitalización

Son muy escasos los reportes con estudios histológicos en humanos sobre los tejidos formados en el conducto radicular posterior a la revitalización. Estudios en animales han identificado dentro del conducto, depósito de tejido cementoide/osteide y/o tejido similar al ligamento periodontal (68).

En un estudio realizado por Martin y col. cuyo objetivo fue describir los tejidos formados en el conducto radicular humano, luego de la revascularización/revitalización, se generó sangrado y se inyectó plasma rico en plaquetas (PRP). La pieza se fracturó luego de los dos años del procedimiento, por lo que se pudo realizar el análisis histológico. En todos los cortes la formación de tejido mineralizado fue irregular, en

algunas aéreas se bloqueó el conducto y en otras el espacio fue ocupado por tejido conjuntivo fibroso (68).

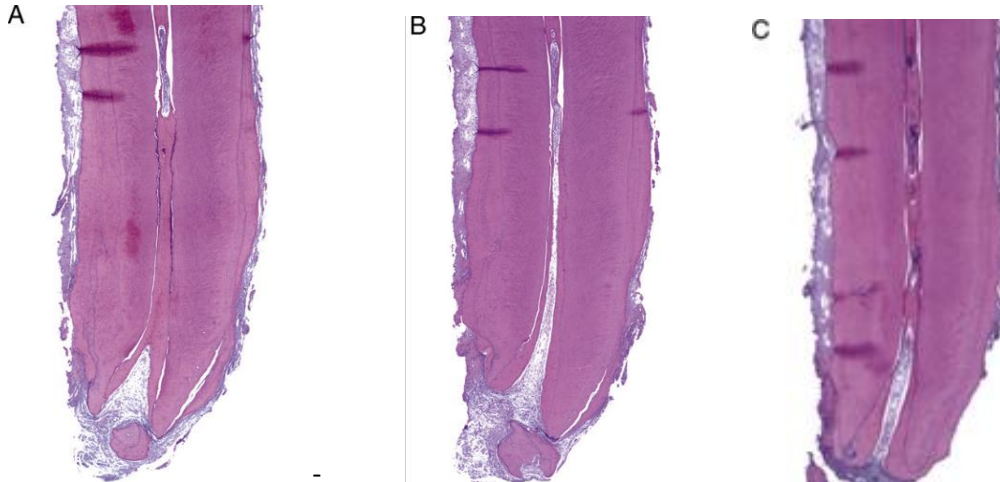


Figura 8: Corte histológico de pieza posterior a revitalización del estudio de Martin y col. A) Conducto estrecho por depósito de tejido similar al cemento. B) en otro corte tejido fibroso (68).

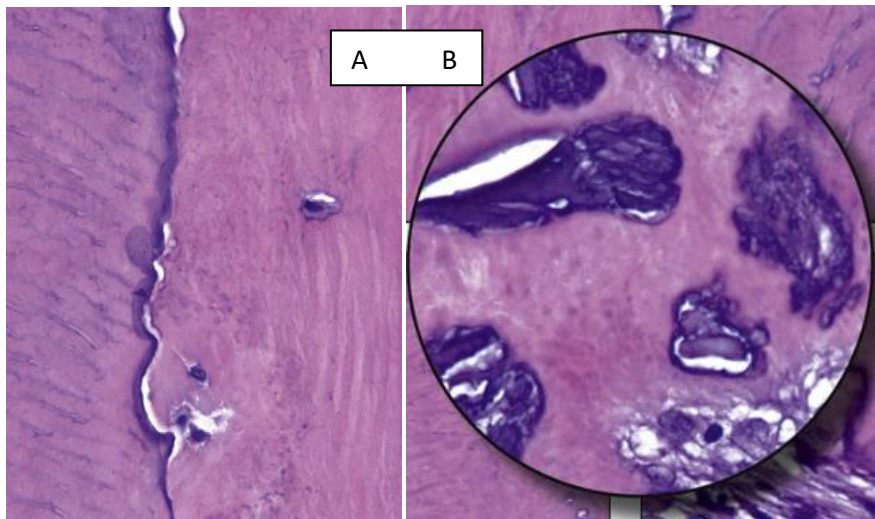


Figura 9: A) tejido mineralizado de tipo cementoide/osteoides con pocas células de tipo cementocito/osteocito alojadas en lagunas. No hay células similares a odontoblastos. B) Calcificaciones distróficas con restos necróticos y chips de dentina incrustados en una masa mineralizada. Tampoco hay restos de la vaina de Hertwig en el ápice, solo tejido conjuntivo fibroso (68).

Estos autores concluyen que la hemorragia y formación de coágulo de fibrina son el inicio de la etapa de cicatrización. Posterior a la revitalización lo que se formó fue tejido cementoide/osteoides que casi obliteró la luz del conducto, no se encontraron células similares a los odontoblastos. Las técnicas histológicas convencionales hacen difícil diferenciar entre cemento y tejido óseo inmaduro. A nivel apical se formó tejido conjuntivo fibroso que parecía ser extensión del ligamento periodontal (68).

El tejido cementoide/osteoides depositado en el conducto y en apical podría haberse formado por cementoblastos/osteoblastos diferenciados de células madre del ligamento periodontal. No se logra la regeneración del tejido pulpar pero sí una reparación, la cual es preferible al reemplazo con un biomaterial (68).

Andreasen y Bakland plantean aspectos sobre la regeneración de tejido necrótico, no infectado como en el caso de traumatismos. A través de estudios clínicos e histológicos demuestran que pueden suceder cuatro variantes dentro del conducto, luego del tratamiento: 1) la revascularización de la pulpa con formación acelerada de dentina que lleva a la obliteración del conducto; 2) crecimiento de cemento y ligamento periodontal, 3) crecimiento interno de cemento, ligamento periodontal y hueso (este caso podría generar una reabsorción interna por reemplazo) y por último 4) crecimiento interno de hueso y médula ósea, lo cual es raro y el pronóstico a largo plazo no parece ser bueno (69).

La formación acelerada de dentina y obliteración del conducto generalmente se da después de la ruptura neurovascular apical de la pulpa por lo que se asocia a lesiones de luxación y avulsión con posterior reimplantación. La obliteración del conducto lleva a un cambio de color de la corona (69).

El crecimiento interno de cemento, ligamento y hueso, ocurre después de un tiempo del trauma. Se cree que se da cuando la vaina de Hertwig se ha dañado durante una luxación o cuando un diente avulsionado traumáticamente no fue correctamente almacenado antes de la reimplantación. Aquí se puede instalar una reabsorción interna por sustitución (69).

El crecimiento de tejido óseo y médula ósea dentro del conducto es un hallazgo raro, se ha visto en experimentación en animales y en casos de lesiones de luxación con

desplazamiento. Se genera reabsorción interna en canales longitudinales y paralelos al conducto pulpar (69).

A partir de todos estos hallazgos histológicos no se logra dilucidar la interrogante de si se repara o se regenera tejido pulpar (69).

Chen y col. observaron cinco tipos de respuestas de piezas permanentes inmaduras con necrosis pulpar y periodontitis apical/ absceso apical luego a los procedimientos de revascularización/revitalización:

- 1) Engrosamiento de las paredes y desarrollo continuo de raíz
- 2) La raíz no se desarrolló en largo pero hubo cierre del agujero apical
- 3) Desarrollo radicular continuo, ápice abierto
- 4) Obliteración del conducto
- 5) Barrera de tejido duro formado en el conducto, entre el MTA y el ápice

Respuesta 1 posterior a la Revitalización:



Figura 10: Engrosamiento de las paredes y desarrollo continuo de raíz. Foto a) Radiografía (Rx) preoperatoria. b) Rx posterior a la revitalización. c) RX de control. d) Rx que muestra cierre apical y desarrollo radicular (70).

Respuesta 2 posterior a la Revitalización:

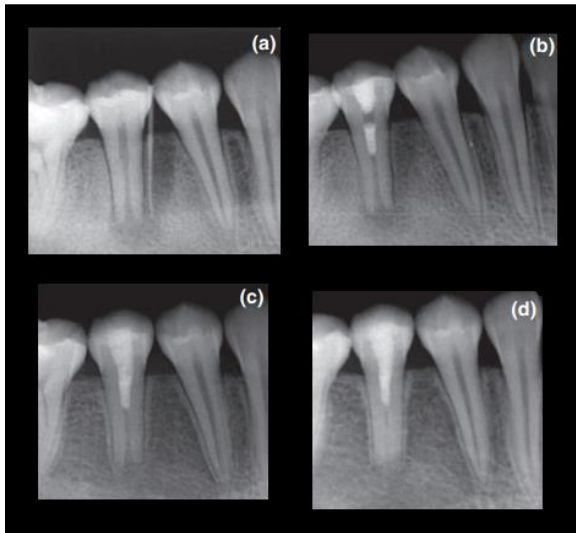


Figura 11: No hubo desarrollo de raíz y el ápice radicular cerrado y roto. Foto a) Rx preoperatoria. b) Rx posterior a la revitalización. c) Rx de control a los 7 meses. d) Rx a los 13 meses (70).

Respuesta 3 posterior a la Revitalización:

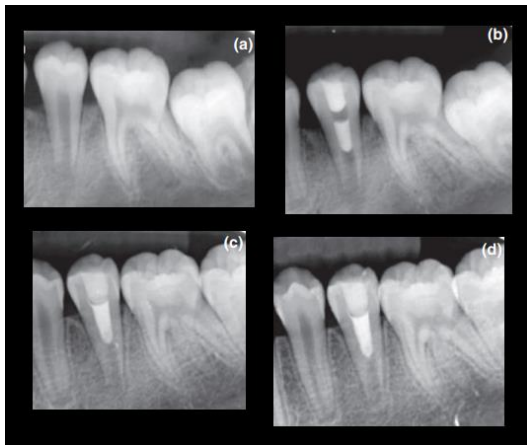


Figura 12: Desarrollo radicular, ápice abierto. a) Rx inicial b) Rx posterior a la Revitalización. c) Rx control a los 5 meses. d) Rx a los 9 meses (70).

Respuesta 4 posterior a la Revitalización:

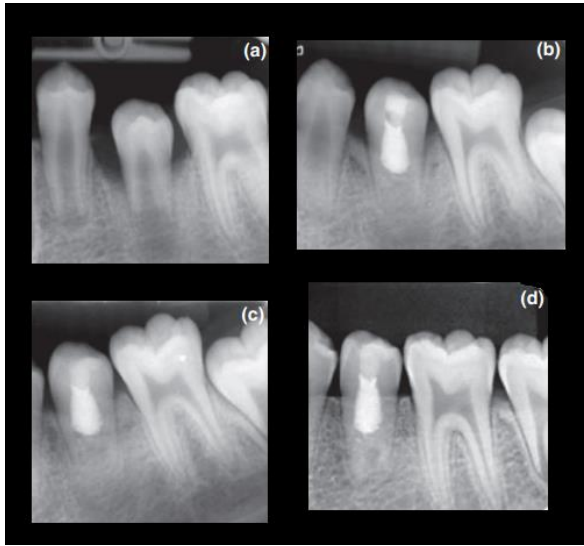


Figura 13: Obliteración del conducto radicular. a) Rx preoperatoria. b) Rx posterior a la Revitalización. c) Rx de control a los 7 meses. d) Rx a los 26 meses (70).

Respuesta 5 posterior a la Revitalización:

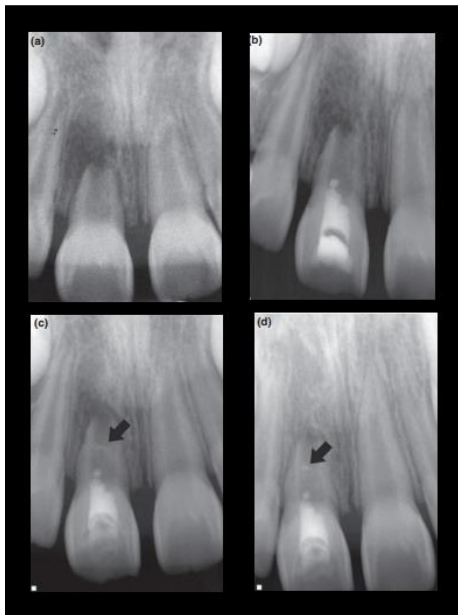


Figura 14: Formación de barrera de tejido duro dentro del conducto entre el MTA y el ápice. a) Rx preoperatoria. b) Rx posterior a la Revitalización. c) Rx control a los 6 meses. d) Rx a los 12 meses (70).

El desarrollo continuo de la raíz en estas piezas con ápice inmaduro y diagnóstico de necrosis con periodontitis apical/absceso apical después de la revitalización depende de si la vaina epitelial de Hertwig sobrevive a estos procesos apicales o no. La dentina radicular está formada por odontoblastos diferenciados de células ectomesenquimáticas de la papila apical al recibir la señal inductiva de la vaina epitelial de Hertwig. El cemento está formado por cementoblastos diferenciados de células mesenquimales del folículo dental después de haber recibido señales inductivas de la lámina de Hertwig. Además las células madre del ligamento también son capaces de diferenciarse en cementoblastos. El desarrollo continuo de la raíz parece deberse a la deposición de cemento apical después de la revitalización. A su vez cuando se da la obliteración del conducto por formación de tejido duro puede ser una complicación la reabsorción interna por sustitución y anquilosis (70).

Kahler y col. a través de una revisión reciente identificaron una alta prevalencia de obliteración del conducto posterior a la revitalización, con un porcentaje de 62,1 % de los casos, y la naturaleza progresiva de obliteración con el tiempo (71). La Asociación Americana de Endodoncia (AAE) no lo nombra como efecto adverso.

La obliteración del conducto complicaría la reintervención endodóntica si se produjera una infección adicional. Sin embargo, este sería una opción de tratamiento viable, si fuera necesario para mantener el diente (71).

Torabinejad y col. realizaron un estudio, el cual tuvo como objetivo investigar el efecto de mantener el tejido pulpar apical residual no inflamado, en el resultado histológico de la regeneración del complejo dentino-pulpar después de un procedimiento de revascularización en dientes inmaduros de hurones (72). Llegaron a la conclusión que si queda de 1-4 mm de pulpa en apical, es posible la regeneración del complejo dentino-pulpar. Y vieron un porcentaje alto en las piezas en donde se extirpó totalmente la pulpa de formación ósea dentro del conducto (72).

Ducret y col. son unos de los varios autores que plantean a parte de la técnica de revitalización, dos estrategias más de endodoncia regenerativa, una es el tratamiento con células madre y la otra el tratamiento libre de células (23).

5.3.5.Tratamiento con células madre o "regeneración basada en células"

En esta técnica se desinfecta el conducto radicular, se amplía hasta 1 mm el foramen apical para permitir que la sangre invada el conducto, se siembran las células madre sobre un andamio de sustentación, se injertan estos andamios que contienen células madre en el conducto radicular. Las células madre más utilizadas en estas técnicas son las DPSC, SHED y SCAP. Estas células deben adherirse, organizarse y crecer en una estructura tridimensional o sea un andamio creado por la ingeniería tisular. Con esta técnica el tejido pulpar regenerado se logra a partir de células madre injertadas. La ventaja que tiene es que la regeneración es rápida. Las desventajas son que las células madre son difíciles de obtener ya que el procedimiento es complejo, las células deben aislarse y manipularse en buenas condiciones de fabricación (bajo normas GMP, normas de manufacturación seguras), para evitar los riesgos de respuesta inmune y posibilidad de tumores, a su vez es de alto costo y todavía hay pocos estudios clínicos realizados (1)(65). La estrategia basada en células ya se ha utilizado en la terapia cráneo-facial humana para regenerar tejido óseo con células madre derivadas de médula ósea, tejido adiposo y de la pulpa (23).

5.3.6.Tratamiento libre de células o “regeneración libre de células”

Consiste en la inyección en el conducto de un andamio que contiene factores de crecimiento que atraen a las células madre del propio paciente (lo que evita que se genere rechazo) para que se regenere la pulpa, previa desinfección, conductometría, 1 mm ampliación del foramen, se coloca pasta triantibiótica. En la segunda sesión se irriga con solución salina estéril y se inyecta el PRP hasta la unión amelo-cementaria, se coloca MTA por ejemplo como material de sellado cervical, torunda de algodón y se sella con un material de sellado temporario por lo menos por dos días hasta estar seguros de que el MTA endureció, luego se coloca el material de sellado definitivo (73)(1). En vez de generar un coagulo, se utiliza plasma rico en plaquetas (PRP) como andamio que contiene factor de crecimiento derivado de plaquetas, factor de crecimiento endotelial vascular, factor de crecimiento epidérmico y factor de crecimiento similar a la insulina, se degrada con el tiempo y forma una matriz de fibrina

tridimensional. La ventaja está en que es autólogo, no genera rechazo, pero hay que sacarle sangre al paciente que generalmente es niño, la cantidad de factores de crecimiento no es controlable y carecen de fuerza mecánica para soportar una restauración coronaria (7)(23).

Torabinejad y col. plantean que el PRP se considera un andamio potencialmente ideal para técnicas de endodoncia regenerativa ya que contiene factores de crecimiento, estimula la producción de colágeno, recluta otras células para el sitio de la lesión, produce agentes antiinflamatorios, induce el crecimiento vascular y la diferenciación celular, controla la respuesta inflamatoria local y mejora la curación de heridas de tejidos blandos y duros (73).

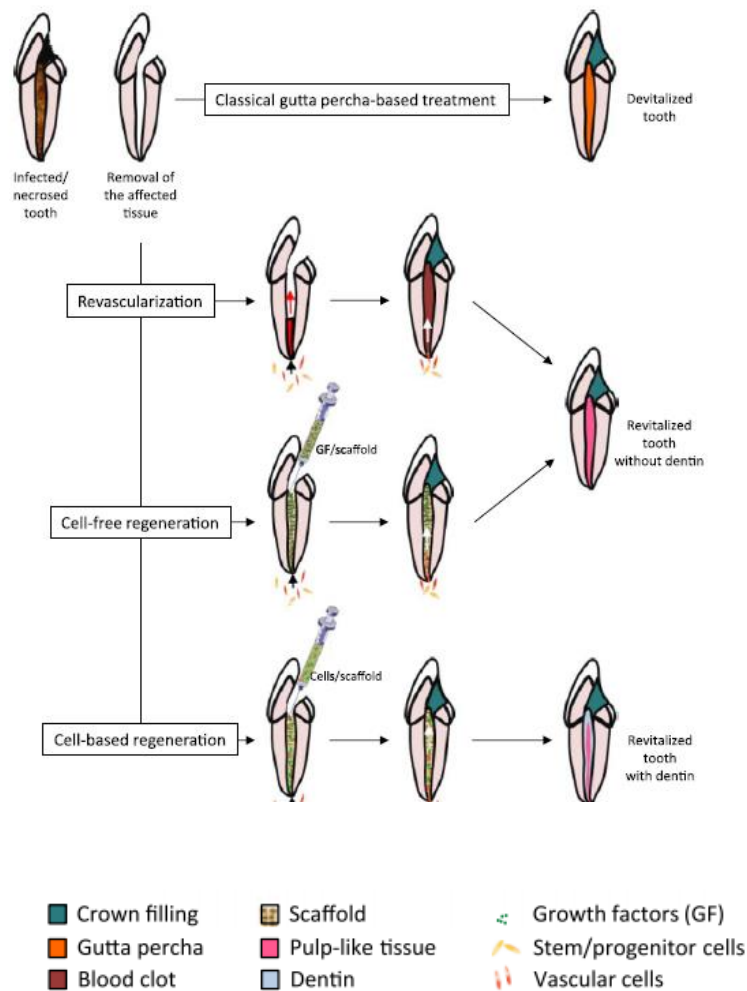


Figura 15 Esquema de las tres técnicas de Endodoncia Regenerativa (23).

5.3.7. Teorías de formación radicular

Hay varias teorías de cómo se da la revascularización pulpar, a pesar de estar necrosada, hay algunas células pulpares que sobreviven en el foramen del conducto, proliferan a la matriz formada y se diferencian en odontoblastos bajo la influencia de las células epiteliales de la vaina Hertwig, que son resistentes a la destrucción, incluso con inflamación. Los odontoblastos se establecen en la dentina del foramen y comienzan a depositar dentina alargando la raíz y engrosando las paredes dentinarias del conducto, por lo que culmina el proceso de formación radicular.

El segundo mecanismo posible para el desarrollo radicular, puede darse por las células madre pluripotenciales de la pulpa, estas células del foramen apical podrían multiplicarse en las paredes dentinarias existentes diferenciándose en odontoblastos y depositar dentina del foramen y terciaria (43).

El tercer posible mecanismo podría darse por las células madre presentes en el ligamento periodontal que pueden proliferar, crecer en el foramen apical y depositar tejido duro tanto en el foramen como en las paredes de la raíz. Esta hipótesis es presentada por la existencia del cemento y de las fibras de Sharpey en los tejidos recién formados (74).

El cuarto posible mecanismo puede ser atribuido a las células madre de la papila apical o de la médula ósea. La instrumentación más allá de los límites del conducto radicular induce el sangrado y pueden traspasar células madre mesenquimales del hueso al interior del conducto (75).

Otro mecanismo es que el coagulo de sangre sirve de matriz para migración de células progenitoras del conducto desde la papila apical. A su vez el coagulo es fuente rica de factores de crecimiento desempeñando una función importante en la regeneración. Entre estos tenemos factor de crecimiento plaquetario, factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y factor de crecimiento de los tejidos, los cuales podrían estimular la diferenciación, crecimiento y maduración de fibroblastos, odontoblastos, cementoblastos, células mesenquimales indiferenciadas (13)(43).

Luego de una periodontitis apical se desconoce la supervivencia de las células de la papila apical (43).

5.3.8. Protocolos de revitalización/revascularización

En la actualidad existen diversos protocolos para la realización de procedimientos de revascularización/revitalización (4)(7)(8). El primer protocolo que surgió fue el propuesto por Banchs y Trope en el 2004, el cual incluye: la irrigación copiosa con NaOCl al 5,25% y clorhexidina, la utilización de una pasta compuesta por tres antibióticos: metronidazol, ciprofloxacina y minociclina como medicamento intraconducto (9) y la colocación de un material bioactivo como el MTA en el tercio cervical para así promover la formación de tejido mineralizado. En el 2012 la Asociación Americana de Endodoncia (AAE) propuso un protocolo (6), el cual incluye el uso del hipoclorito de sodio en bajas concentraciones (1%) y el uso del EDTA al 17% entre otros. En el 2018 la AAE incluye otro protocolo en el cual se incorpora el Biodentine®.

A continuación se describirán los protocolos de Banchs y Trope (2004) y los de las principales organizaciones mundiales de endodoncia, el de la Asociación Americana de Endodoncia y el de la Sociedad Europea de Endodoncia, ya que ambas atienden a un consenso de varias agrupaciones siendo referentes cada una en sus continentes.

5.3.8.1. Protocolo de Banchs y Trope

Estos autores sostienen que la regeneración de una pulpa necrótica solo es posible después de una avulsión traumática de un diente permanente joven, ya que al ser un diente corto con un ápice abierto el tejido nuevo crece rápidamente; al estar la pulpa necrótica pero no infectada, esta actúa como matriz. La corona como se mantiene intacta la invasión bacteriana es lenta, por lo que el tejido nuevo crece más rápido que la invasión bacteriana. Si ese diente avulsionado antes de implantarlo se sumerge en doxiciclina o minociclina aumenta el éxito ya que se disminuyen las bacterias en la superficie y un menor número de éstas tendrá posibilidad de entrar en el conducto a través del ápice.

Este grupo de investigadores consideraban en un principio imposible la regeneración del tejido pulpar en un diente infectado con periodontitis apical a no ser que se pudiera desinfectar el conducto y lograr un entorno similar al del diente avulsionado, luego vieron que era posible.

Describen la técnica en un premolar inferior con ápice inmaduro, con periodontitis apical y tracto sinusal, se desinfecta el conducto con NaOCl al 5,25 % y clorhexidina

2%, sin instrumentación mecánica y con medicación intraconducto a base de pasta triantibiótica, se produce un coagulo de sangre en la unión cemento- esmalte y un sellado coronario, a los dos meses desapareció la lesión apical, a los 24 meses la raíz se engrosó y el largo era similar a los premolares contralaterales.

Se realiza acceso, conductometría, con una aguja se sobrepasa un milímetro el ápice y se irriga con NaOCl al 5,25% y 10 ml de clorhexidina al 2%, se seca con conos de papel y se coloca con lentúlo pasta triantibiótica a base de ciprofloxacina, metronidazol y minociclina como medicación intraconducto y se sella con cemento de obturación temporaria la entrada al conducto.

A los 26 días se citó al paciente, encontrándolo asintomático, tracto sinusal cerrado y reducción de la lesión apical. Se accede al conducto, se irriga con NaOCl al 5,25 %, una vez que el conducto está limpio, seco y sin exudado, con una sonda endodóntica se sobrepasa el ápice para crear un sangrado en el conducto, se detiene la hemorragia 3mm por debajo del límite cemento-esmalte y se espera 15 minutos para que se forme a ese nivel el coagulo, se coloca MTA y una torunda de algodón humedecida y se sella con cemento de obturación temporaria.

A las 2 semanas concurre el paciente asintomático, se reemplaza la torunda y el cemento de obturación temporaria por resina.

A los 6 meses el paciente se encuentra asintomático, sin tracto sinuoso, radiográficamente hay reducción de la lesión apical.

Al año y a los 18 meses otro control, en el cual el paciente se encontraba asintomático, sin tracto sinuoso, se ve desarrollo radicular pero las pruebas de vitalidad pulpar no fueron positivas.

A los 2 años el paciente está asintomático, hay cierre apical y paredes gruesas. El diente responde positivo a las pruebas de vitalidad.

Con este estudio concluyeron que en dientes luxados o avulsionados la revascularización pulpar es posible, ya que no presenta infección por lo que la pulpa actuará como matriz en la que puede crecer tejido nuevo. Tradicionalmente se ha usado Ca(OH)₂ como medicación intraconducto ya que es un medicamento probado y efectivo en las técnicas de apexificación, su objetivo es crear un ambiente propicio para la formación de una barrera apical en el ápice abierto, por su PH alto necrosa los tejidos en contacto con él, destruyendo las células con posible potencial para formar tejidos nuevos, por lo que con este medicamento no se espera que las paredes se engrosen y se desarrolle la raíz. El hidróxido de calcio tiene propiedades

antibacterianas: libera iones hidroxilo que son altamente oxidantes y reactivos y dañan las bacterias de formas diferentes (76).

Su uso por periodos largos de tiempo debilita el diente y lo predispone a futura fractura radicular. Según un estudio de Andreasen y col que tuvo como objetivo responder a la hipótesis de que la dentina en contacto con el Ca(OH)_2 reducía la resistencia a la fractura después de un tiempo. La resistencia flexural de la dentina depende en parte del vínculo entre dos de sus componentes los cristales de hidroxiapatita y la red de colágeno, las sustancias que actúan como agentes de unión son proteínas ácidas y proteoglicanos que contienen grupos fosfatos y carboxilatos. El Ca(OH)_2 debido a su PH alcalino puede neutralizar, disolver o desnaturalizar algunos de los componentes ácidos que actúan como agentes de unión y así debilitar la dentina. A la conclusión que llegaron es que el PH elevado del Ca(OH)_2 produce un cambio en la matriz orgánica de la dentina, generando desnaturalización e hidrólisis de las proteínas y los proteoglicanos ácidos que generan la unión entre la red de colágeno y cristales de hidroxiapatita reduciendo el soporte orgánico que puede influir alterando sus propiedades mecánicas, hasta 30 días de Ca(OH)_2 como medicación intraconducto no habrían efectos negativos (9)(77).

5.3.8.2. Protocolo de la Asociación Americana de Endodoncia (AAE)

La Asociación Americana de Endodoncia (AAE) plantea que los objetivos de la revascularización/revitalización son la eliminación de los síntomas y la evidencia de la curación ósea como primer objetivo. El objetivo secundario es aumentar el grosor de la pared de la raíz y / o aumentar la longitud de la raíz (deseable pero no esencial). Y el tercer objetivo es una respuesta positiva a las pruebas de vitalidad (que, si se logra, podría indicar un tejido pulpar vital más organizado). Los posibles efectos adversos son la tinción de la corona / raíz, la falta de respuesta al tratamiento y el dolor / infección (71).

Lo primero que se debe hacer para empezar con la revitalización es la correcta selección del caso, que la pieza a tratar tenga diagnóstico de necrosis y presente ápice inmaduro, que no se necesite abarcar el espacio pulpar con un perno como restauración final, que el paciente y sus acompañantes sean colaboradores y que el

paciente no sea alérgico a los medicamentos necesarios para completar el protocolo. Se le debe informar al paciente; realizar consentimiento informado y en él poner el número de sesiones que va a llevar, qué medicamentos e irrigantes, serán utilizados durante el procedimiento, posibles efectos adversos como tinción de la corona/raíz, que el tratamiento no tenga éxito, dolor e infección. Que existen otras alternativas como la apexificación con MTA, no realizar tratamiento o extracción cuando se considere que la pieza está perdida (78).

En la primera consulta se da anestesia local, (mepivacaina al 2% con vasoconstrictor) se realiza la aislación absoluta de la pieza y acceso a cámara y conducto, se irriga abundantemente con NaOCl a baja concentración 1,5 %, 20 ml por 5 minutos y luego se irriga con solución salina o EDTA (20 ml / conducto, 5 min), la aguja debe ser de extremo cerrado para no extravasar a través del ápice y debe llegar 1mm antes del extremo de la raíz para minimizar la citotoxicidad de las células madre que se encuentran en los tejidos apicales. Se secan los conductos con conos de papel, luego se coloca Ca(OH)₂ o pasta triantibiótica. Si se coloca pasta triantibiótica se debe mezclar 1: 1: 1 ciprofloxacina: metronidazol: minociclina a una concentración final de 1-5 mg / ml y debe considerarse sellar la cámara con un agente adhesivo para dentina y así se evita la tinción. También se puede medicar con pasta biantibiótica, sin minociclina o sustituir minociclina por su efecto no desado de tinción, por otro antibiótico (por ejemplo, clindamicina; amoxicilina; cefaclor) es otra alternativa posible como desinfectante del conducto radicular. Siempre que se coloca pasta triantibiótica debe colocarse hacia apical del límite amelo-cementario ya que así se disminuye el riesgo de tinción. Se sella 3-4mm con material temporario y se vuelve a citar al paciente en 1-4 semanas.

A la segunda consulta lo primero que debe hacerse es evaluar la respuesta al tratamiento inicial, si hay signos / síntomas de infección persistente. En caso de que sea necesario se vuelve a colocar la misma medicación u otro antibiótico adicional como medicación intraconducto. En caso de que este todo bien se comienza con anestesia con mepivacaína al 3% sin vasoconstrictor, aislación absoluta, se irriga de manera abundante y controlada con EDTA al 17% y se seca con conos de papel. Con una lima K precurvada con un tamaño acorde al conducto se sobrepasa 2mm el límite de la raíz o sea se sobreinstrumentación y se gira para generar sangrado, se llena el conducto de sangre hasta el límite amelo-cementario. Una alternativa a crear el coágulo es usar el plasma rico en plaquetas (PRP), fibrina rica en plaquetas (PRF) o

matriz de fibrina autólogo (AFM). Colocar sobre el coágulo una matriz reabsorbible como CollaPlug®, Collacote®, CollaTape®, si es necesario para generar hemostasia y colocar MTA blanco como material de cobertura. Sobre éste se coloca 3-4 mm de ionómero de vidrio de fotocurado. El MTA puede generar discromía coronaria por lo que si la pieza en tratamiento presenta requerimientos estéticos, se deben considerar otras alternativas como biocerámicos de otras generaciones, por ejemplo cementos de silicato tricálcico (por ejemplo, Biodentine®, Septodont, Lancated, PA, EE. UU., EndoSequence® BC RRM-Fast Set Putty, Brasseler, EE. UU).

Será necesario realizar seguimiento del caso (6, 12, 24 meses) llevando a cabo el examen clínico-radiográfico y se evalúa que no haya dolor, inflamación de los tejidos blandos o fístula. Debe observarse si hay resolución de la radiolucidez apical, la cual por lo general remite a los 6-12 meses. En cuanto al aumento del ancho de las paredes de la raíz, esto se observa generalmente antes del aumento aparente en longitud de la raíz y a menudo ocurre entre los 12-24 meses después del tratamiento. Se espera que haya una mayor longitud de la raíz y respuesta positiva a la prueba de vitalidad pulpar. Después de los primeros 2 años se recomienda hacer seguimiento anual. La tomografía computada de Cone Beam (CBCT) es muy recomendable para la evaluación inicial y las visitas de seguimiento.

El grado de éxito de la endodoncia regenerativa se mide en si se alcanzan o no los objetivos (78).



Figura 16. Revitalización realizada en la Especialidad de Endodoncia, utilizando el protocolo de la AAE. a y b) CBCT y Rx inicial. c) foto inicial del paciente. d) conductometría. e) Rx post-revitalización. f) control a los 6 meses.

5.3.8.3. Protocolo de la Sociedad Europea de Endodoncia (ESE)

En la primera sesión se realiza el examen clínico, para determinar el diagnóstico, se valora respuesta al frío, test eléctrico, percusión, movilidad, palpación, si hay o no tracto sinusal, si hay decoloración de la corona, hinchazón, profundidad de sondeo, presencia de fisuras. En el examen radiográfico de la pieza, se ve si hay o no lesión perirradicular, el foramen abierto y si es necesario se indica una CBCT.

Se hará un consentimiento informado donde se le informa sobre el tratamiento, beneficios, riesgos, alternativas de tratamiento, consecuencias en caso de no realizarlo, plan de seguimiento.

Se debe comenzar con profilaxis, anestesia si es necesario, aislación absoluta, acceso a cámara y conducto, se retira el tejido necrótico con instrumentos endodónticos evitando la instrumentación mecánica de las paredes del conducto radicular. Se irriga con hipoclorito de sodio al 1.5–3% (20 ml, 5 min) con aguja de ventilación lateral, el NaOCL a esa concentración desinfecta lo suficiente y a la vez preserva la integridad de los tejidos. Luego se irriga con solución salina fisiológica estéril (5 ml) para minimizar los efectos citotóxicos del hipoclorito de sodio en tejidos vitales. Se seca con conos de papel para irrigar nuevamente, esta vez con 20 ml de EDTA al 17%. Se coloca Ca(OH)_2 como medicación intraconducto. En caso que sea necesario, por ejemplo en fistulas muy difícil de cerrar se coloca pasta triantibiótica (ciprofloxacina, metronidazol y minociclina) con buenos resultados, las desventajas son decoloración, citotoxicidad, sensibilización, desarrollo de resistencia y dificultad para retirarla del conducto radicular. Colocar sellado temporario.

En la segunda sesión (2-4 semanas): si los signos no han disminuido, el paciente sigue por ejemplo con fístula activa, dolor se recambia el Ca(OH)_2 . Se puede administrar antibióticos sistémicos si el paciente informa una alteración general de la salud como por ejemplo fiebre. En caso contrario se realiza la profilaxis, se administra anestesia sin vasoconstrictor para que no influya en el sangrado al momento de provocarlo.(79) Se realiza aislación absoluta y se remueve el sellado temporario; se irriga con EDTA al 17% (20 ml, 5 min) con aguja de ventilación lateral a 2mm del tejido vital; irrigar con suero estéril (5 ml) para reducir los efectos adversos de los irrigantes sobre las células madre; se seca el conducto con conos de papel y se genera sangrado, con lima K precurvada rotándola por ejemplo, se deja que el conducto se llene de sangre hasta 2 mm debajo del margen gingival, se debe esperar unos 15 minutos para que se forme el coágulo. Se corta una matriz de colágeno (por ejemplo, cono Parasorb®, Collaplug® o Hemocollagene®) y se coloca por encima del coágulo de sangre, permita que la matriz se remoje con líquido para evitar la formación de un espacio hueco, se coloca una capa homogénea delgada de cemento de silicato hidráulico (por ejemplo, MTA o cemento de silicato tricálcico) sobre la matriz de colágeno aproximadamente 2 mm debajo de la unión cemento-esmalte y se debe tener cuidado con la posible decoloración después del contacto del material con sangre. Se aplica ionómero de

vidrio fotopolimerizable o cemento de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ fluido y se sella con restauración adhesiva.

Los seguimientos deben realizarse a los 6, 12 y 18 y 24 meses, después de eso anualmente durante 5 años. Se recomienda un seguimiento clínico-radiográfico cada 3 meses en casos de infección de larga data, eliminación difícil de signos de inflamación (por ejemplo, segunda aplicación de medicación intraconducto), la presencia de reabsorción inflamatoria de la raíz o donde se debe considerar un tratamiento alternativo (por ejemplo, autotrasplante).

En el caso del tratamiento de ortodoncia planificado, debe reconocerse que las piezas después de la revitalización pueden ser más perceptibles a la inflamación y a la reabsorción radicular. Por lo que debe esperarse la cicatrización después de la revitalización debe excluirse del tratamiento de ortodoncia o acortar los intervalos de seguimiento durante la ortodoncia.

Según la ESE se considera exitoso el tratamiento cuando no hay dolor, no hay signos ni síntomas de inflamación, hay curación de la lesión periapical preexistente, aumento del grosor y longitud de la raíz, respuesta positiva a las pruebas de sensibilidad, aceptación del paciente, sin cambios de color en la pieza, nuevo ligamento periodontal alrededor de toda la raíz (54).

5.3.9. Irrigantes

En el procedimiento de revitalización, la conformación por sí misma no es suficiente para eliminar la flora microbiana dentro del conducto radicular, se debe complementar con la irrigación, la cual es esencial y comprende la utilización de soluciones irrigantes para limpiar el conducto.

La efectividad de una solución irrigante va a depender del volumen, de la naturaleza química, del tiempo de acción y del contacto, por lo que es fundamental la frecuencia de irrigación, el volumen utilizado y la profundidad de penetración de la aguja de irrigación en el conducto (80).

El irrigante más utilizado para las técnicas de revitalización es el NaOCl en concentraciones que van del 1-6%, la ESE lo utiliza del 1,5-3 % y la AAE lo utiliza al 1,5%, en estas concentraciones se obtiene un equilibrio entre desinfección y protección celular. También se utilizan la clorhexidina 2% y EDTA al 17%.

Hipoclorito de sodio (NaOCl)

El NaOCl pertenece al grupo de compuestos halogenados. En 1792 fue introducido en odontología y recibió el nombre de agua de Javele. En 1915 Darkin lo propuso para desinfección de manos y heridas durante la primera guerra mundial. En el siglo XX luego de investigaciones por este químico se introduce en endodoncia (80).

Es una sal formada por la unión de dos compuestos químicos: el ácido hipocloroso (HOCl) y el hidróxido de sodio (NaOH).



El NaOCl presenta múltiples propiedades beneficiosas para endodoncia, las que más nos importan en las técnicas de revitalización son su poder desinfectante dentro de los conductos y como agente de disolución tisular, en la mayoría de los protocolos el NaOCl es el irrigante de primera elección. Su eficacia como agente antimicrobiano se debe a su elevado PH de 11, este interfiere en la integridad de la membrana citoplasmática, alteraciones en el metabolismo celular y degradación de fosfolípidos (7). La efectividad antibacteriana y la capacidad de disolución tisular es en función de su concentración, pero también lo es su toxicidad, hay estudios que demuestran que es citotóxico para las células madre (81).

Utilizar una concentración reducida de NaOCl puede ayudar a preservar las células madre y a la vez mantiene efecto antibacteriano deseable. Essner y col, realizaron en el 2011 un estudio en donde no se encontró diferencia significativa del efecto antibacteriano del NaOCl al 0,5% y al 5%. Además este estudio también mostró que el poder antimicrobiano esta dado más que por la irrigación, por la medicación intraconducto, y esta no causa efecto nocivo para las células madre, otro motivo más para utilizar NaOCl a menor concentración (82).

Algo importante a tener en cuenta es que el NaOCl debe extruírse lentamente de la jeringa para reducir el riesgo extravasar los tejidos periapicales. Esto se evita utilizando agujas de extremo cerrado y aperturas laterales, además la aguja debe moverse lentamente con movimientos de entrada y salida y mantenerse alejada 2 mm del foramen (76).

En un estudio realizado por Trevino y col. se descubrió que la tasa de supervivencia de las células madre de la papila apical (SCAP) fue de un 74% luego de ser expuestas a NaOCl al 6%, EDTA al 17% y NaOCl al 6% una vez más. Se llegó a la conclusión que

una concentración de NaOCl al 6%, si se usa asociado al EDTA al 17% revierte parcialmente el efecto nocivo sobre las células madre, promoviendo la supervivencia y la diferenciación. Más allá de esta investigación, las principales asociaciones mundiales prefieren usarlo a baja concentración, para lo cual hay muchos estudios que prueban que no daña las células madre (83).

EDTA

El ácido etilendiaminotetraacético al 17% (EDTA) al ser un agente quelante, puede descalcificar la superficie del conducto radicular y liberar factores de crecimiento ligados que pueden atraer nuevas células y estimular su diferenciación en células similares a los odontoblastos. También, las fibras de colágeno de la dentina, al quedar expuestas podrían promover la unión de nuevas células (76). Cada vez se reconoce más el papel del EDTA en la endodoncia regenerativa, ya que hay estudios que mostraron que induce la diferenciación de odontoblastos y osteoblastos liberando factores de crecimiento de la dentina (84).

Si bien tiene una actividad microbiana débil, es capaz de inhibir la formación de biopelículas.

Fomenta la regeneración de la pulpa y mejora la unión del tejido recién formado a las paredes del conducto (85).

Clorhexidina

La clorhexidina al 2% es otro irrigante que ya las principales asociaciones no lo recomiendan por su citotoxicidad para las células madre, sobre todo para las SCAP (83). Al combinarse CHX con NaOCl se forma paracloroanilina, este precipitado tiñe la corona sino se lava previo con suero o agua destilada, otra causa más por lo que no se usa la CHX y se sigue usando como primer opción el NaOCl.(7) A parte que varios estudios demostraron que el NaOCl al 2,5% tiene mayor poder antimicrobiano que la CHX al 0,2 %, la mayor ventaja del NaOCl es su poder para disolver materia orgánica (86)(7).

5.3.10. Medicación intraconducto

La medicación intraconducto más utilizada por las principales asociaciones son el hidróxido de calcio, la pasta triantibiótica a base de ciprofloxacina: metronidazol: minociclina o en algún caso pasta biantibiótica compuesta por ciprofloxacina: metronidazol, esta medicación es necesaria ya que sólo con la irrigación no logramos sanear el conducto.

Hidróxido de calcio

El hidróxido de calcio fue introducido en Odontología en 1920 por Hermann, Kaiser en 1964, quien propuso que este material mezclado con paramonoclorofenol alcanforado induciría la formación de una barrera de tejido calcificado en el ápice (87). Luego Frank lo populariza con la creación de la pasta reabsorbible para reducir la contaminación dentro del conducto y logró que continúe el desarrollo radicular colocándola temporalmente dentro del conducto (88).

Es altamente alcalino y en medio acuoso se disocia en iones de calcio e hidroxilo lo que resulta en sus efectos biológicos y antimicrobianos.



Esta disociación iónica produce un aumento de PH de 12,6 en el cual la mayoría de los microorganismos no pueden sobrevivir, por lo que tiene un gran espectro antibacteriano particularmente sobre anaerobios estrictos. Los iones hidroxilos, son oxidantes y tienen extrema reactividad lo que lleva a que causen daño a la membrana citoplasmática bacteriana, desnaturalización de proteínas y daño en el ADN bacteriano (36)(7). No es efectivo frente a algunos patógenos endodónticos como por ejemplo el Enterococo Faecalis y Cándida Albicans (89)(90)(91). En estos casos por ejemplo es que la AAE plantea medicar el conducto con pasta triantibiótica ya que esta si es efectiva frente a flora endodóntica.

Para aumentar el espectro se puede asociar al paramonoclorofenol alcanforado (PCFA) o a la CHX más un vehículo que puede ser la glicerina, estos son efectivos contra el E. Faecalis y C. Albicans pero son citotóxicos por lo que no se recomiendan para uso en técnicas de endodoncia regenerativa.

Otra desventaja o limitante es que la dentina tiene capacidad buffer que podría estar dada por la hidroxiapatita aunque también pueden estar implicados los componentes orgánicos de la dentina y esto reduce la acción antimicrobiana del Ca(OH)_2 (92).

En cuanto a manipulación y colocación del $\text{Ca}(\text{OH})_2$ es muy difícil tanto colocarlo como eliminarlo del conducto, generalmente deja residuos en las paredes incluso después de la irrigación abundante con NaOCl y EDTA , pudiendo interferir en el sellado de la obturación y afectar el tratamiento (93). A su vez actúa por contacto íntimo con los microorganismos (MO) y esto no siempre es posible. Hay que compactarlo bien en el interior del conducto con conos de papel y/o lentúlos, porta amalgamas, condensadores verticales, el mejor método para compactarlo es el que más domine el profesional para lograr su acción antimicrobiana (92).

Debe actuar de 7-14 días ya que su difusión es lenta por lo que demora en cambiar el PH y afectar a los MO. A su vez su difusión depende de la permeabilidad dentinaria que se logra con correcto toilette eliminando el barro dentinario lo que permite que la medicación llegue a zonas que no se lograron instrumentar (92).

El vehículo también influye en la difusión si se quiere una liberación de iones lenta pero sostenida se deben utilizar vehículos viscosos como glicerina, propilenglicol; si se quiere una liberación rápida pero por períodos cortos se utiliza con vehículo acuoso. Para que su PH se mantenga lo más alto posible se debe utilizar vehículo hidrosoluble como el agua destilada o solución fisiológica (92).

La mayor ventaja del $\text{Ca}(\text{OH})_2$ como medicación intraconducto en las técnicas de revitalización es que favorece la supervivencia y proliferación de las células madre (7)(63)(78).

La mayor desventaja es lo ya mencionado antes que por su elevado PH, utilizado por períodos prolongados disminuye la resistencia flexural de la dentina afectando los enlaces entre los cristales de hidroxiapatita y el colágeno, debilitando la dentina y dejando al diente propenso a la fractura radicular (77).

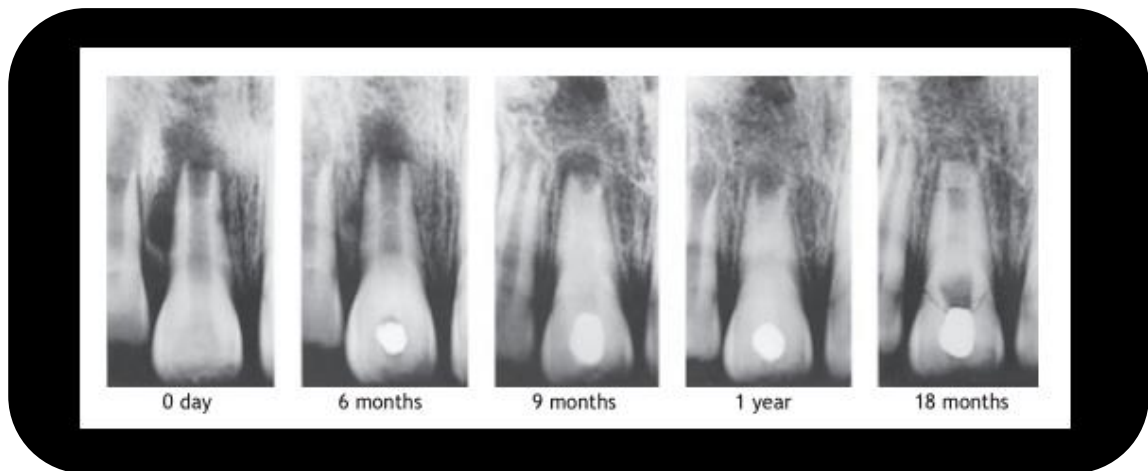


Figura 17 Apexificación con Ca(OH)_2 para desinfectar el conducto e inducir el cierre apical. Se observa debilitamiento de paredes radiculares (69).

Tiene acción antireabsortiva por tener un PH alcalino y neutralizar los ácidos de los osteoclastos y una acción disolvente, menor que el NaOCl. Acción antiinflamatoria por su acción higroscópica que absorbe los exudados. También el ion Ca^{++} se une a las proteínas que se encuentran en las células endoteliales en sus espacios intercelulares disminuyendo su permeabilidad capilar, lo que disminuye la salida del plasma y como consecuencia el edema. Y disminuye la liberación de prostaglandinas ya que disminuye la lisis celular al inhibir la fosfolipasa (92)(7).

Pasta triantibiótica

La pasta triantibiótica es una asociación de ciprofloxacina, metronidazol y minociclina en iguales proporciones utilizando como vehículo solución salina estéril, agua destilada o propilenglicol (94)(95). El metronidazol es efectivo contra patógenos encontrados comúnmente en dentina de conductos infectados, como anaerobios estrictos. Como hay bacterias resistentes se asocia con los otros dos antibióticos aumentando su espectro. La minociclina le aporta a la pasta la sustentividad (91).

Como ya se mencionó antes la mayor ventaja es su potencial efecto sobre patógenos endodónticos, se ha comprobado su efecto contra el *Enterococo Faecalis*, por lo que es una alternativa en infecciones persistentes (91). No ha sido aprobada por la Food and Drug Administration (FDA). La minociclina tiñe la corona, se une al ion calcio por

quelación para formar un complejo insoluble que causa la decoloración, esta la posibilidad de reemplazar la minociclina por cefalosporina (Cefaclor por ejemplo) para reducir el riesgo de decoloración (96)(91), también se puede colocar agente adhesivo en cámara, sellando los túbulos dentinarios para disminuir la tinción pero no se evita (97)(98).

Esta pasta es citotóxica para las células madre, se cree que por su PH bajo, sobre todo en concentraciones elevadas. Si se aplica la pasta triantibiótica en concentraciones bajas de 1 mg/ml disminuye su citotoxicidad, aún faltan estudios sobre las concentraciones ideales. Otras desventajas es que puede causar resistencia en el huésped o causar reacciones alérgicas (64)(7)(99)(100).

En el 2011 Madhubala y col, realizando un estudio en el que comparan la efectividad de la pasta triantibiótica, el propóleo y el Ca(OH)₂. Al tercer día la pasta triantibiótica logró reducir un 98% las unidades formadoras de colonias (UFC), un poco menos de lo que logró el propóleo que fue del 100% al segundo día. El Ca(OH)₂ mostró un aumento de la actividad antimicrobiana con un máximo del 59,4% en el día 7 (91).

5.3.11. Materiales de obturación cervical

Los cementos hidráulicos son materiales cerámicos diseñados específicamente para uso médico y odontológico. Son inorgánicos, no metálicos, biocompatibles, con propiedades mecánicas similares a los tejidos dentarios que están reemplazando o reparando.

Hay sistemas de polvo-líquido como el MTA y los Biosilicatos (Biodentine®) y premezclados.

En endodoncia regenerativa su función es actuar como andamio para las células madre.

MTA (Agregado Trióxido Mineral)



Figura 18. Diferentes presentaciones comerciales de MTA

El MTA (Agregado Trióxido Mineral) fue introducido en odontología en la década del 90 por Torabinejad y White, la primera marca comercial fue ProRoot® (Dentsply-Tulsa Dental Specialties, Johnson City, TN, USA). Las aplicaciones clínicas son sellado de reabsorciones, perforaciones, en pulpotomías, como matrices, en técnicas de apexificación (Fig.20), como material de obturación cervical en revitalizaciones (Fig.19) y en sellado apical en cirugías apicales.

Componentes:

-Silicato tricálcico	}	75%
-Aluminio tricálcico		
-Silicato dicálcico		
-Aluminio férrico tertacético		
-Óxido de Bismuto		20%
-Sulfato cálcico deshidratado		4,4%
-Residuos insolubles		0,6%

Tiene un PH de 10,2, al tomar contacto con los tejidos, a las 3 horas aproximadamente se convierte en Ca(OH)_2 por lo que su PH se eleva a 12,5 lo que le da su efecto antimicrobiano y la capacidad de inducir la formación de tejido mineralizado.

Endurece a las 3-4 hs en presencia de humedad y se expande al fraguar promoviendo el buen sellado marginal. Se ve radiográficamente gracias al óxido de bismuto que le brinda la radio-opacidad (101).

Como desventaja el tiempo de fraguado es largo, tiene resistencia flexural y compresiva inferior a la dentina, su manipulación es engorrosa y tiñe la dentina (102)(103). Se ha demostrado que la decoloración en los dientes es causada por el movimiento de óxido de bismuto dentro de los túbulos dentinarios, los aminoácidos del colágeno de la dentina parecen desestabilizar la molécula de óxido de bismuto resultando en el cambio de color. Shokouhinejad y col. utilizaron en un estudio agente adhesivo sellador en cámara lo que lleva a prevención de la migración del oxido de bismuto a la estructura dental previo a la colocación de MTA y la decoloración fue menor, similar a la que se da con el Biodentine® (98).

Se debe mezclar en una loseta 3 partes de polvo con 1 de agua estéril, se lleva al conducto con limas, atacadores, porta amalgama sin tocar las paredes. Una vez colocado en el sitio deseado con una torunda de algodón o atacador se condensa. No

es reabsorbible. El espesor debe ser de 3-4 mm y necesita humedad para su fraguado por lo que se deja una torunda humedecida hasta la siguiente sesión.

Varios estudios han demostrado que el MTA no es citotóxico (104) y proporciona un entorno favorable para la adhesión y crecimiento de fibroblastos y cementoblastos.

También se ha demostrado in vitro e in vivo que el MTA previene la microfiltración, es biocompatible y promueve la regeneración de tejidos cuando se pone en contacto con la pulpa dental o los tejidos perirradiculares (103).

Bartols y col. en el 2017 proporcionaron la primera evidencia de regeneración del periodonto y del cemento por parte del MTA en dientes humanos, la evaluación fue histológica e inmunohistoquímica, corroboraron que en dientes humanos se daba lo mismo que en animales. Llegaron a la conclusión que el MTA no es solo un material inerte, sino que es un material con actividad biológica hacia la regeneración de cemento y periodonto y que aumenta la probabilidad de regeneración de tejidos periapicales. Por razones éticas no es posible extraer el hueso circundante de la zona apical por lo que los análisis histológicos permanecerán incompletos con respecto a la conexión de posibles fibras periodontales regeneradas al hueso (105).

En un estudio reciente realizado por Miller y col. observaron que el MTA promueve la diferenciación de células madre en la papila apical en un fenotipo mineralizante con una mayor expresión de marcadores osteoblásticos (106).



Figura 19: MTA como material de sellado cervical en una Revitalización. Radiografía tomada de la Especialidad de Endodencia.



Figura 20: Apexificación con MTA. A) limpieza del conducto con abundante irrigación y medicación intraconducto con Ca(OH)_2 por un mes. B) sulfato de calcio como barrera contra la cual se coloca el MTA. C) se coloca tapón de MTA de 4 mm. D) se rellena el conducto con gutapercha inyectada. e) resina para reforzar raíz. Imágenes tomadas del Cohen (7).

BIODENTINE®



Figura 21: Imagen de marca comercial Biodentine®.

Es un biomaterial de tercera generación (Fig. 21), tiene propiedades similares a la dentina por lo que se utiliza para reemplazarla.

Es similar al MTA con algunas modificaciones en la composición del polvo, se le agregó aceleradores de fraguado, se cambió el tamaño y forma de las partículas y la presentación es en cápsulas lo que facilita la manipulación.

Composición:

Polvo	Líquido
Silicato tri/di cálcico	Agua
Carbonato de calcio	Cloruro de calcio: acelerador
Dióxido de zirconio: opacidad	Policarboxilato modificado: fácil manipulación

Biodentine® (Septodont) se presenta en cápsulas y diseñado para fraguar en 10-12 minutos. Se mezcla el polvo con el líquido en un amalgamador durante 30 segundos (Fig. 22). El cemento pasa por dos fases la de mezcla que dura 6 minutos en la cual el cemento es colocado en la cavidad. La otra fase es de endurecimiento en la cual el cemento no debe tomar contacto con humedad ni debe ser manipulado porque se puede destruir la red cristalina dando como resultado la disminución de la resistencia del Biodentine® y no endurece a causa de esto. El tiempo de fraguado inicial es de 10 minutos, en este tiempo el Biodentine forma $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (107).

Tiene excelente sellado marginal ya que causa corrosión alcalina sobre la dentina y a su vez porque difunde a través de los túbulos dentinarios penetrando en ellos de 10-20 nanomicras. Estos dos mecanismos le proporcionan anclaje micromecánico que le otorgan la adhesión.

Es bacteriostático ya que al fraguar forma $\text{Ca}(\text{OH})_2$ lo que genera un PH de 12,5 y genera un ambiente alcalino inhibiendo el crecimiento bacteriano (107).

Las ventajas de este material son la unión químico-mecánica con dientes y composite, alta resistencia a la compresión y a la flexión. Este material ha demostrado una absorción de calcio de dentina superior en comparación con MTA (104).



Figura 22: Foto tomada en la Especialidad de Endodoncia. Mezcla del Biodentine

Biodentine® ofrece una ventaja adicional sobre el MTA, puede usarse como un sustituto temporal del esmalte y un sustituto permanente de la dentina. Este material entra en contacto con el tejido pulpar y los tejidos periapicales por lo que la biocompatibilidad es fundamental. Tiene compatibilidad tisular e induce a la formación de puente tisular similar al MTA (108).

En un estudio realizado por Aggarwal y col. evaluaron el efecto citotóxico sobre los fibroblastos del ligamento periodontal, de tres materiales de reparación de raíces el ProRoot MTA, Biodentine® y MTA Plus, no demostraron ser citotóxicos (109).

Karim y col. en el 2016 realizaron un estudio en donde se evaluó la expresión de TRPA1 (receptor potencial transitorio), sobre todo de células neuronales, que es un indicador de inflamación neurogénica y nocicepción, se estudia efecto de la inflamación en la expresión de este receptor en odontoblastos y el efecto del Biodentine® sobre él. La expresión del gen TRPA1 se indujo en células similares a odontoblastos cultivadas por factor de necrosis tumoral alfa, y esta expresión se redujo significativamente en presencia de Biodentine®. Este modula la expresión y la funcionalidad de TRPA1 en odontoblastos para reducir el dolor y la sensibilidad postoperatoria por ejemplo en una pulpitis sintomática, aún se desconoce el potencial celular y molecular de este mecanismo.

Vieron que el TRPA1 se expresa dentro de la capa de odontoblastos en dientes sanos y también aumenta su expresión en la capa odontoblástica de dientes cariados, esto puede deberse a una mayor síntesis de TNF-a en la inflamación pulpar. El Biodentine® generó obliteración de túbulos dentinarios, lo que puede explicar la reducción de la sensibilidad postoperatoria a nivel mecánico. A nivel molecular se demostró que el Biodentine® redujo la expresión de TNF-a-inducida TRPA1 (110).



Figura 23: Biodentine como sellador de obturación cervical en una revitalización. Foto tomada en la Especialidad de Endodoncia.

EndoSequence BC RRM



Es un biocerámico de tercera generación, a base de nanopartículas.

Está disponible en dos consistencias formuladas específicamente en pasta premezclada inyectable o masilla condensable. Las propiedades de manipulación son favorables, alta resistencia y menor tiempo fraguado, 20 minutos. Es biocompatible y osteogénico; tiene acción antibacteriana con un PH de mayor a 12. Es resistente al lavado y no produce decoloraciones. Es altamente bioactivo y promueve eficientemente la biomineralización.

Aplicaciones:

- Cemento de endodoncia (sellador retrógrado)
- Sellado de perforación de raíz
- Reparación de reabsorción de raíz
- Apexificación
- Protección pulpar

Composición:

- Silicatos de calcio.
- Fosfato de calcio monobásico.
- Hidróxido de calcio.
- Óxido de circonio.
- Óxido de tantalio
- Agentes de relleno y espesantes (111)(112).

5.3.12. Resultados posteriores a la revitalización

El desbridamiento mecánico juega un papel muy importante en la eliminación de bacterias que se encuentran en el conducto radicular, en los casos de revitalización no está indicado, solo la limpieza con irrigantes y la medicación intraconducto, lo que puede llevar a disminuir las posibilidades de éxito de estos procedimientos (85).

En piezas permanentes jóvenes el número y diámetros de los túbulos dentinarios es mayor por lo que hay más bacterias alojadas ahí, también se encuentran en los conductos laterales e istmos, por lo que estas son muy difíciles de eliminar, a su vez la biopelícula puede evadir las defensas del huésped y resistir a los antimicrobianos.

Lin y col. consideran que puede ser importante agregar el desbridamiento mecánico en la técnica de revitalización, para interrumpir la biopelícula en las paredes del conducto y eliminar bacterias de los túbulos dentinarios ya que a través de este tratamiento se van a engrosar las paredes. En su estudio analizaron un pieza en la que no tuvo éxito la revitalización, a los 16 meses apareció con tumefacción y dolor, le realizaron la extracción de la pieza por decisión de la madre, no solo por el fallo del tratamiento sino también por la decoloración causada por el MTA. Se realizó estudio histobacteriológico y se constató que una masa necrótica llenaba el conducto, la cual era una biopelícula con diferentes bacterias, más concentrada en apical que en coronal. El sello coronal tanto de la resina como del MTA estaban intactos, por lo que se descarta la penetración de bacterias a través de la corona. Lo que indica que la irrigación y medicación no son suficientes (85).

Chaniotis y col. realizó un estudio en donde tomó tres piezas que habían fracasado luego de una revitalización y les hizo tratamientos diferentes, a una le realizó apexificación con MTA, a otra apexificación convencional a base de Ca(OH)_2 y al tercero realizó de nuevo una revitalización. En los tres casos los resultados fueron exitosos por lo que indica realizar una nueva técnica regenerativa en los casos de fracaso (113). No hay un protocolo estandarizado para la revitalización, por lo tanto tampoco hay indicación de cómo proceder si falla, lo cual es un desafío para los endodoncistas.

Se consideran factores etiológicos del fracaso de la revitalización, del cese del desarrollo radicular, y del engrosamiento y alargamiento de las paredes dentinarias:

- enfermedad periapical de larga data
- efectos citotóxicos de los irrigantes
- etapa temprana del desarrollo de la raíz
- control inadecuado de la infección dentro del conducto

Como la desinfección inadecuada del conducto se considera la principal causa de falla de los tratamientos regenerativos, varios autores se cuestionan si el desbridamiento mecánico no es necesario para lograr mejor desinfección, y es una ventaja frente al debilitamiento de las paredes que puede generar y la eliminación de restos vitales de tejido que todavía podrían estar presentes en las partes apicales del conducto (113)(85).

Una opción a la falla sería atravesar la resina o la restauración que se le haya hecho, con cavitador remover el MTA, irrigación abundante y medicación con Ca(OH)_2 . Para luego realizar apexificación con MTA y relleno del resto del conducto con gutapercha inyectable y sellador (113).

Algo sumamente importante y que no se tuvo en cuenta en varios estudios, es que la evidencia radiográfica de desarrollo radicular continuo y aumento del grosor de la pared dentinaria debe ser tomada con posicionadores de radiografías o a través de fabricación de plantillas personalizadas para cada paciente, que permitan re-posicionar de manera constante el tubo de rayos X en cada control. Ya que la toma de radiografías no estandarizadas debe interpretarse con precaución, porque un ligero cambio en la angulación en los controles podría generar interpretaciones inexactas (114).

Se cree que el desarrollo de la raíz está más condicionado al estado la vaina epitelial de Hertwig y no tanto a la regeneración de la pulpa ni a la ausencia de bacterias en el conducto, ya que hay un caso de maduración de raíz infectada sin ningún tratamiento previo (115). Además hay varios casos reportados en los que aunque fracasó la desinfección, se produjeron fístulas y tumefacciones, igual se evidenció desarrollo radicular(116).

Radovan Zizka y col. analizaron que las posibles causas de fracaso pueden ser una reinfección a través de la restauración coronaria o por desprendimiento del MTA. Otra causa podría ser el trauma oclusal, este puede desempeñar un papel en la secreción de neuropéptidos como la sustancia P. La interacción de esta con la pulpa o con las células inmunes puede causar inflamación neurogénica que conduce a la necrosis de pulpa (116).

El traumatismo dental repetido podría generar fracaso, ya que provocaría la interrupción de la homeostasis recién establecida y altamente delicada en el entorno periapical, lo que lleva a la reactivación del proceso inflamatorio (116). Si el primer traumatismo ocurre antes de los 9 años, el riesgo de sufrir múltiples lesiones dentales es más probable (117).

6. DISCUSIÓN

¿Porqué habría que cambiar un enfoque endodóntico hasta ahora bien aceptado para el tratamiento de una pieza permanente con ápice inmaduro como es la apexificación? Una respuesta sería las desventajas de esta técnica. Es un tratamiento muy prolongado, requiere hasta 2 años, con largos períodos de tiempo con Ca(OH)_2 , lo que puede conducir al debilitamiento de la raíz debido a sus propiedades higroscópicas, así como su actividad proteolítica (77). Se necesitan consultas frecuentes e inevitablemente altos costos clínicos, además del compromiso del paciente. A su vez las dimensiones radiculares así como la morfología externa e interna se verán alteradas, las paredes permanecerán con un espesor delgado sobre todo en tercio medio y cervical predisponiendo a fracturas radiculares (7)(56).

Con la revascularización/revitalización lo que se quiere es acortar el tiempo de uso del Ca(OH)_2 , el restablecimiento del desarrollo y fortalecimiento de la estructura radicular,

debido a que tiene el potencial de crear tejido duro que tenga la capacidad de cerrar el ápice, aumentar el espesor de las paredes dentinarias y la longitud radicular, mejorando así el pronóstico de la pieza a largo plazo (43).

Resultados clínicos y radiográficos de piezas permanentes inmaduras tratadas mediante apexificación y procedimientos de revascularización, encontraron que la tasa de supervivencia de estas, en el grupo de revascularización fue de 100%. Por lo que el tratamiento mediante regeneración ofrece resultados favorables resolviendo la infección y promoviendo el desarrollo en el manejo de dientes inmaduros infectados (118).

Hasta ahora se han utilizado varios términos para referirse a la endodoncia regenerativa. La Asociación Americana de Endodoncia (AAE) define a la endodoncia regenerativa como “los procedimientos biológicos diseñados para reemplazar fisiológicamente estructuras dentales dañadas, incluida la dentina, la raíz y las células del complejo dentino-pulpar” y utiliza el término de regeneración (2)(78).

Algunos autores se refieren a maturogénesis, que se define como el desarrollo fisiológico continuo de la raíz (68), se utiliza para describir el desarrollo completo de la raíz después de una protección pulpar directa y también se aplica a técnicas de revitalización (119).

Otro término utilizado es el de revascularización que se define como el restablecimiento del suministro vascular a la pulpa en dientes permanentes inmaduros, el suministro vascular es un requisito crítico para mantener la vitalidad de cualquier tejido y órgano, sino sufre necrosis. La supervivencia de un tejido privado de vascularización, depende de su requerimiento metabólico de oxígeno. Autores a favor de este término justifican que lo único que se sabe con certeza es que hay suministro de sangre, y no la naturaleza del tejido formado (120)(121).

La revitalización se define como un crecimiento interno de tejido que puede no ser el mismo que el tejido perdido original, para lo cual esta sería una buena definición, ya que el conducto vacío luego de esta técnica se llena de tejido conjuntivo similar al cemento, tejido óseo o ligamento periodontal, pero no tanto a la pulpa. Autores que están de acuerdo con el término revitalización lo justifican porque el nuevo tejido dentro del espacio pulpar no es necesariamente pulpa, comprende no solo sangre, células

vitales que se requieren para depositar el nuevo tejido, por lo que el espacio pulpar está lleno de tejido conectivo de algún tipo y este tejido es vital (60).

Por lo que los autores que son escépticos sobre la naturaleza del nuevo tejido capaz de continuar el desarrollo de la raíz debido a su imprevisibilidad utilizan la palabra "revascularización", argumentando que la única certeza que tienen es la presencia de suministro de sangre (76).

Geisler para unificar estos propuso la definición de "procedimientos de endodoncia regenerativa" (120).

Es importante distinguir entre revascularización y regeneración pulpar, varios estudios demuestran que el tejido formado en el espacio pulpar está compuesto por tejido cementoide, tejido óseo y tejido fibroso, similar al ligamento periodontal y no de tejido pulpar. Se encontró tejido conjuntivo vital similar a la pulpa pero sin odontoblastos utilizando el PRP, todavía no hay evidencia en técnicas convencionales de revitalización (68). Sí es un tejido útil para la pieza ya que permite la permanencia de ella por lo menos hasta los 18 años de ese paciente donde se le puede dar otra solución terapéutica (119).

Diversos autores exponen que las células responsables de la formación de tejido duro nuevo son aquellas localizadas en la papila apical que han sobrevivido al proceso infeccioso y a la posterior desinfección (75). Otros proponen la posibilidad de que las células madre y progenitoras del ligamento periodontal pueden estar presentes cuando se induce la irritación apical y sospecha que el tejido mineralizado es formado a partir de estas células (43). Estudios como el de Becerra y col. demuestran que a partir de la revascularización/revitalización se forma tejido conectivo fibroso similar al encontrado en el ligamento periodontal, y también tejidos similares al cemento y al tejido óseo (74). Desde el punto de vista histológico, actualmente hay pocos estudios, en los cuales se haya constatado formación de tejido similar a la pulpa después de de la revascularización (85). Se encontró tejido conjuntivo vital similar a la pulpa pero sin odontoblastos utilizando el PRP (68).

Según varios estudios se sugiere utilizar Biodentine como material de obturación cervical sobre el andamio en vez de ProRoot MTA.

Możyńska y col. realizaron una revisión sistemática informando que ProRoot MTA mostró un gran potencial de tinción en comparación con Biodentine (122). Sin embargo un estudio realizado por Noushin Shokouhinejad y col. los resultados no mostraron diferencias significativas entre la discromía coronaria potencial de Biodentine y ProRoot MTA, pero colocaron en ambos casos agente adhesivo en la cámara pulpar. En este estudio también se comparo el comportamiento utilizando coagulo en algunos casos y plasma rico en fibrina en otros, y en los primeros meses hubo una discromía mayor en los casos que se realizaron las técnicas generando el coagulo, pero al cabo de 6 meses la decoloración fue las misma en los dos casos (98).

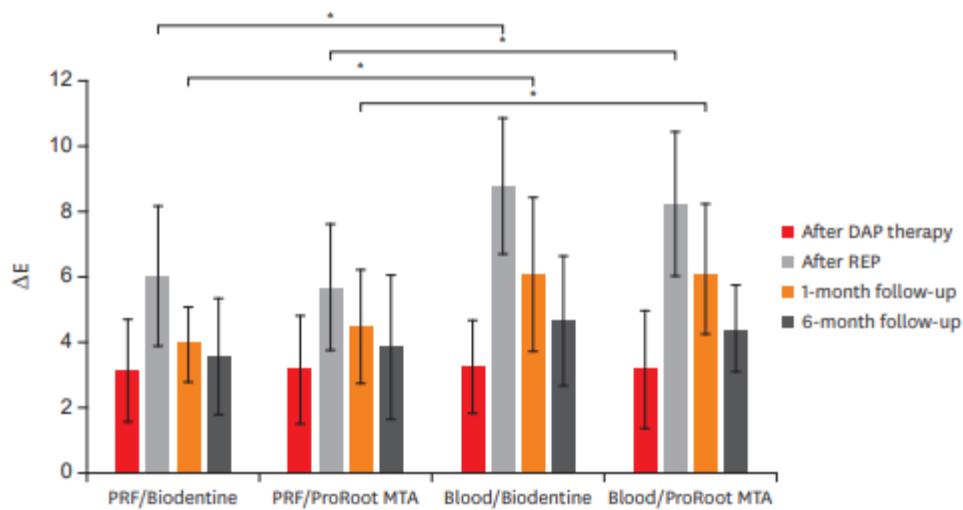


Figura 24. Resultado de estudio comparando la discromía coronaria entre Biodentine o ProRoot colocado sobre andamio de PRF o sobre coagulo de sangre (98).

Los datos son insuficientes para estandarizar el protocolo para tal REP(123).

El resultado de estos procedimientos sigue siendo impredecible, a pesar de los informes publicados que detallan su éxito

7. CONCLUSIONES

- El conocimiento actual en este campo de la investigación endodóntica, sumado al conocimiento de la historia natural de la enfermedad así como el establecimiento de un correcto diagnóstico, nos permitirá seleccionar la terapia de revitalización/revascularización como una alternativa de manejo viable.
- La revascularización/revitalización, que es parte de la endodoncia regenerativa, surge como un nuevo procedimiento para solucionar las dificultades y evitar las desventajas de la apexificación, esta era el tratamiento de primera elección en las piezas permanentes jóvenes con diagnóstico de necrosis, en donde se interrumpe el desarrollo radicular, por ruptura de la vaina de Hertwig, ya sea por una lesión cariosa, un traumatismo o cualquier otra noxa.
- Lo que se evita con este nuevo enfoque de tratamiento es el debilitamiento de las paredes del conducto radicular y riesgo de fractura por uso prolongado en el tiempo de Ca(OH)_2 , las paredes no quedan cortas y delgadas, porque con la apexificación no continúa el desarrollo radicular.
- En cuanto al menor número de citas requeridas para la aplicación del protocolo de revascularización/revitalización, se traducen en un menor costo económico. A su vez al ser menor número de citas disminuye de manera considerable la ansiedad y rechazo del paciente al tratamiento.
- Es una técnica simple, puede ejecutarse con los recursos disponibles en la actualidad, no necesita una tecnología costosa y evita la posibilidad de rechazo inmunitario y transmisión de patógenos.
- La revascularización/revitalización resuelve los signos y síntomas de dolor, inflamación y las lesiones periapicales. Pero no han logrado regenerar el tejido pulpar, ya que el tejido que se forma dentro del conducto radicular es similar al cemento, tejido óseo o ligamento periodontal.
- No existe un protocolo estandarizado establecido para las técnicas de revitalización/revascularización debido a la falta de evidencia. La guía para los endodoncistas es lo establecido por las principales agrupaciones mundiales como la AAE y la ESE. Las investigaciones muestran concordancia entre los autores sobre la desinfección del sistema de conducto radicular seguido de la introducción de un andamio que posteriormente se sella con cementos de silicato hidráulicos como el agregado de trióxido mineral (MTA) o Biodentine.

- La desinfección es clave para el éxito de este procedimiento, ya que si hay infección no hay reparación. Se indican como irrigantes el NaOCl junto con el EDTA, estos son los menos citotóxicos para las células madre y a su vez los más efectivos para la desinfección. Si bien el NaOCl es en algún punto citotóxico, utilizado junto con el EDTA, este contrarresta su efecto. La medicación intraconducto más utilizada es el Ca(OH)_2 , ya que la pasta triantibiótica genera cierta toxicidad sobre las células madre, además de discromía coronaria, por lo que se trata de evitar.
- Se ha demostrado que el EDTA desmineraliza suavemente la dentina y expone moléculas bioactivas almacenadas en dentina sin afectarlas, lo que permite la diferenciación de odontoblastos. Por esta razón, los protocolos de revascularización clínica recientes proponen el uso alternado de NaOCl y EDTA, con un paso final del tratamiento de dentina con EDTA.
- A su vez la hemorragia debe ser suficiente, para que se genere una matriz de fibrina que va a funcionar como soporte o andamio natural, que junto con factores de crecimiento y células madre de la papila apical (SCAP), puebla el andamio, induciendo engrosamiento de la pared del conducto. La edad del paciente es otro factor importante, ya que si es joven hay mayor cantidad de células madre disponibles.
- La mayoría de los protocolos de revascularización/revitalización conducen a resultados similares, pero es evidente que es fundamental el conocimiento de cada uno de los materiales utilizados en las diferentes etapas, su forma de empleo, y realizar un seguimiento constante sobre ellos, para garantizar que tanto los materiales como los procesos empleados sean eficientes y minimicen los efectos y riesgos no deseados.
- En lugares en donde la estética juega un papel importante se sugiere sellar el andamio con Biodentine® en lugar de MTA. Utilizando un agente adhesivo en cámara se disminuye notoriamente la discromía causada por el MTA. Esta es una ventaja ya que en instituciones de salud donde no se puede acceder al Biodentine®, utilizando agente adhesivo de fácil acceso y MTA que tiene menor costo, podemos realizar el tratamiento correcto, disminuyendo uno de los efectos adversos como es la discromía coronaria. Es clave también colocar el material de obturación cervical por encima del límite amelo-cementario para disminuir el riesgo de tinción.

- Tanto en los procedimientos de apexificación como en las técnicas regenerativas la restauración de la pieza con resina compuesta ofrece resultados favorables. Pero el reemplazo artificial de los tejidos faltantes por ejemplo en la cavidad de acceso no se comparan con la efectividad de un reemplazo biológico con estructuras dentales naturales, por lo que a nivel cervical estas piezas sometidas a estos procedimientos siempre van a ser más propensas a las fracturas. En técnicas de endodoncia regenerativa no se puede colocar pernos para reforzar la estructura dental porque el material de obturación cervical no lo permite.
- Hasta el momento no se ha logrado regenerar el tejido pulpar, los tejidos regenerados se asemejan más al tejido periodontal, cemento o tejido óseo.
- No hay duda, que estas técnicas aumentan la resistencia de las piezas por estimular el desarrollo radicular completo y el cierre apical. En el caso que igual no se puedan mantener, pueden permanecer en boca el periodo comprendido hasta los 18 años del paciente, donde hay otras alternativas de tratamiento.
- Es necesario seguir investigando sobre el tejido que se genera en el conducto, así como las condiciones que se presentan en los casos tratados con terapia de regeneración por un periodo de tiempo largo. Y tratar de encontrar la forma de lograr regeneración realmente, aunque si bien la reparación es mejor frente a la utilización de un biomaterial.
- La regeneración de un tejido pulpar completamente funcional puede ser una solución terapéutica ideal para mantener un sistema de defensa dental que detecte y ayude a manejar futuras lesiones.
- Estudios in vitro y en animales han logrado regenerar dentina y pulpa, y ya se encuentran en fase de experimentación en humanos, con resultados prometedores. Pero son procedimientos que requieren tecnologías y técnicas sumamente sofisticadas y complejas que las hacen de alto costo por lo que aún no serían técnicas de fácil acceso y disponibles para nuestra población.
- La toma de radiografías es un desafío en pacientes jóvenes debido a problemas de comportamiento, miedos, dificultades anatómicas como poca profundidad en piso de boca o paladares pequeños, superposición de dientes debido a la dentición mixta de los pacientes con indicación de técnicas de revitalización. Esto puede dar lugar a desviaciones en las angulaciones horizontales, lo cual

nos va a dificultar en la cuantificación del crecimiento radicular, en donde no se va a tener problema es en el diagnóstico del cierre apical.

- Esto mismo sucede en los casos que no se toman todas las radiografías desde la inicial hasta la última de control con posicionadores radiográficos, no vamos a poder diagnosticar de forma objetiva si realmente hubo o no desarrollo radicular. Esto se vio en varios estudios que realizaban seguimientos pero no utilizaban posicionadores y las angulaciones eran diferentes.
- Todavía hay ciertos aspectos mencionados que continúan o deben continuar en estudio con el fin de esclarecerlos, a pesar de los informes publicados que detallan su éxito.

8. REFERENCIAS

1. Soares y Goldberg. Endodoncia Técnica y Fundamentos. 2da ed. Editoria medica Panamericana, editor. buenos aires, Argentina; 2012. 526 p.
2. Murray PE, Garcia-Godoy F, Hargreaves KM. Regenerative Endodontics: A Review of Current Status and a Call for Action. J Endod. 2007;33(4):377–90.
3. Kubota M. DENTAL TRAUMATOLOGY Revascularization of an immature permanent tooth with apical periodontitis and sinus tract Iwaya S, Ikawa M, Kubota M. Revascularization of an immature Shin-ichi Iwaya 1 , Motohide Ikawa 2 , permanent tooth with apical periodontitis an. Dent Traumatol. 2001;17(January 1996):185–7.
4. BALINT J. ORBAN. Histologia y Embriologia Bucal. 9a ed. 1983. 510 p.
5. Li J, Parada C, Chai Y. Cellular and molecular mechanisms of tooth root development. 2017;374–84.
6. Herman BW. On the reaction of the dental pulp to vital amputation and calxyl capping. Dtsch Zahnarztl Z [in Ger. 1952;
7. Berman KMHLH. COHEN Vías de la pulpa. 11th ed. Kenneth. M. Hargreaves/ Louis H. Berman, editor. Brasil; 2017. 1105 p.
8. Kandemir Demirci G, Kaval ME, Güneri P, Çalışkan MK. Treatment of immature teeth with nonvital pulps in adults : A prospective comparative clinical study comparing <sc>MTA</sc> with Ca(<sc>OH</sc>) 2. Int Endod J [Internet]. 2019;iej.13201. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/iej.13201>

9. Banchs F, Trope M. Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: New treatment protocol? *J Endod.* 2004;30(4):196–200.
10. Kardos TB, Hunter AR, Hanlin SM, Kirk EEJ. Odontoblast differentiation: A response to environmental calcium? *Endod Dent Traumatol.* 1998;14(3):105–11.
11. Graham L, Cooper PR, Cassidy N, Nor JE, Sloan AJ, Smith AJ. The effect of calcium hydroxide on solubilisation of bio-active dentine matrix components. *Biomaterials.* 2006;27(14):2865–73.
12. Nör JE. Tooth regeneration in operative dentistry. *Oper Dent.* 2006;31(6):633–42.
13. Meyer, Ulrich; Meyer, Thomas; Hanschel, Jorg; Wiesmann HP (Eds. . *Fundamentals of tissue engineering and regenerative medicine.* 2009. 557 p.
14. Langer R, Vacanti JP. *Tissue Engineering.*
15. Block MS, Cervini D, Chang A, Gottsegen GB. Anterior maxillary advancement using tooth-supported distraction osteogenesis. *J Oral Maxillofac Surg.* 1995;53(5):561–5.
16. Kassolis JD, Rosen PS, Reynolds MA. Alveolar Ridge and Sinus Augmentation Utilizing Platelet-Rich Plasma in Combination With Freeze-Dried Bone Allograft: Case Series. *J Periodontol.* 2000;71(10):1654–61.
17. Heijl L1, Heden G, Svärðström G OA. Enamel matrix derivative (EMDOGAIN) in the treatment of intrabony periodontal defects. *J Clin Periodontol.*
18. Fujimura K, Bessho K, Kusumoto K, Ogawa Y, Iizuka T. Experimental Studies on Bone Inducing Activity of Composites of Atelopeptide Type I Collagen as a Carrier for Ectopic Osteoinduction by rhBMP-2. Vol. 208, *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 1995. p. 316–22.
19. S. Takayama SM, Y. Shimabukuro MK, Okada and H. Periodontal Regeneration by FGF-2 (bFGF) in Primate Models. *J Dent Res* 80(. 2001;2075–9.
20. Rosa V, Zhang Z, Grande RHM, Nör JE. Dental pulp tissue engineering in full-length human root canals. *J Dent Res.* 2013;92(11):970–5.
21. Nakashima M, Iohara K. Mobilized dental pulp stem cells for pulp regeneration: Initiation of clinical trial. *J Endod.* 2014;40(4 SUPPL.):S26–32. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2014.01.020>
22. Nakashima M, Iohara K, Murakami M, Nakamura H, Sato Y, Arijji Y, et al. Pulp regeneration by transplantation of dental pulp stem cells in pulpitis: a pilot clinical study. *Stem Cell Res Ther.* 2017;8(1):1–13.

23. Ducret M, Fabre H, Celle A, Mallein-Gerin F, Perrier-Groult E, Alliot-Licht B, et al. Current challenges in human tooth revitalization. *Biomed Mater Eng.* 2017;28(s1):S159–68.
24. Nanci A. *Ten Cate Histologia Oral.* 2014; 2014. 432 p.
25. Nanci A. *Ten Cate's ORAL HISTOLOGY.* novena. 2018. 344 p.
26. María Elsa Gómez de Ferraris ACM. *HISTOLOGÍA, EMBRIOLOGÍA E INGENIERÍA TISULAR BUCODENTAL.* 3era ed. 2009. 454 p.
27. Tsunematsu T, Fujiwara N, Yoshida M, Takayama Y, Kujiraoka S, Qi G, et al. Human odontogenic epithelial cells derived from epithelial rests of Malassez possess stem cell properties. 2016;00(February):1–13. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/labinvest.2016.85>
28. Xiong J, Gronthos S, Bartold PM. Role Of The Epithelial Cell Rests Of Malassez In The Development, Maintenance And Regeneration Of Periodontal Ligament Tissues. *Periodontol 2000.* 2013;63(1):217–33.
29. Yamashiro T, Tummers M, Thesleff I. Expression of Bone Morphogenetic Proteins and Msx Genes during Root Formation. 2003;
30. Oka S, Oka K, Xu X, Sasaki T, Bringas P, Chai Y. Cell autonomous requirement for TGF- β signaling during odontoblast differentiation and dentin matrix formation. *Mech Dev.* 2007;124(6):409–15.
31. Yang J, Wang SK, Choi M, Reid BM, Hu Y, Lee YL, et al. Taurodontism, variations in tooth number, and misshapened crowns in *wnt10a* null mice and human kindreds. *Mol Genet Genomic Med.* 2015;3(1):40–58.
32. Bae CH, Lee JY, Kim TH, Baek JA, Lee JC, Yang X, et al. Excessive Wnt/ β -catenin signaling disturbs tooth-root formation. *J Periodontal Res.* 2013;48(4):405–10.
33. Yang Z, Hai B, Qin L, Ti X, Shangguan L, Zhao Y, et al. Cessation of Epithelial Bmp Signaling Switches the Differentiation of Crown Epithelia to the Root Lineage in a β -Catenin-Dependent Manner. *Mol Cell Biol.* 2013;33(23):4732–44.
34. Tummers M, Thesleff I. Root or crown : a developmental choice orchestrated by the differential regulation of the epithelial stem cell niche in the tooth of two rodent species. 2003;1049–57.
35. Ostrin EJ, Little DR, Mauro KNG, Sumner EA, Ambrosio E, Holt SE, et al. *Development • Accepted manuscript Development • Accepted manuscript.* 2018;(February):713–45.

36. Apexification RM, Traumatol D, Munksgaard B. Apexification : a review. 2005;1–8.
37. Ben D. MacArthur and Richard O. C. Oreffo. Bridging the Gap. Nature [Internet]. 2005;433. Available from:
<https://www.taylorfrancis.com/books/9781351705073/chapters/10.4324/9781315174877-38>
38. Meschi N, EzEldeen M, Torres Garcia AE, Jacobs R, Lambrechts P. A Retrospective Case Series in Regenerative Endodontics: Trend Analysis Based on Clinical Evaluation and 2- and 3-dimensional Radiology. J Endod [Internet]. 2018;44(10):1517–25. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2018.06.015>
39. Casagrande L, Cordeiro MM, Nör SA, Nör JE. Dental pulp stem cells in regenerative dentistry. 2011;1–7.
40. Gardin C, Ricci S, Ferroni L. Dental Stem Cells: Regenerative Potential [Internet]. Stem Cell Biology and Regenerative Medicine. 2016. 1–25 p. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-33299-4>
41. Tamaoki N, Takahashi K, Tanaka T, Ichisaka T, Aoki H, Takeda-Kawaguchi T, et al. Dental pulp cells for induced pluripotent stem cell banking. J Dent Res. 2010;89(8):773–8.
42. Dra. Kenia Betancourt Gamboa; Dr. Julio Barciela Calderón; Lic. Julio Guerra Menéndez; Dra. Nereyda Cabrera Carballo. Uso de células madre en el complejo bucofacial. Univ Ciencias Médicas Camagüey, Cuba. 2012;651–61.
43. Lin LM, Ricucci D, Huang GTJ. Regeneration of the dentine-pulp complex with revitalization/revascularization therapy: Challenges and hopes. Int Endod J. 2014;47(8):713–24.
44. Nakashima M, Iohara K, Murakami M. Dental pulp stem cells and regeneration. Endod Top. 2013;28(1):38–50.
45. Galler KM, Aulisa L, Regan KR, Souza RND, Hartgerink JD. Self-Assembling Multidomain Peptide Hydrogels : Designed Susceptibility to Enzymatic Cleavage Allows Enhanced Cell Migration and Spreading. 2010;3(2):3217–23.
46. Cavalcanti BN, Zeitlin BD, Nör JE. A hydrogel scaffold that maintains viability and supports differentiation of dental pulp stem cells. Dent Mater [Internet]. 2013;29(1):97–102. Available from:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.dental.2012.08.002>
47. Araújo PR de S, Silva LB, Neto AP dos S, Almeida de Arruda JA, Álvares PR,

- Sobral APV, et al. Pulp Revascularization: A Literature Review. *Open Dent J.* 2017;10(1):48–56.
48. Yildirim S. Dental Pulp Stem Cells. 2012. 83 p.
 49. Yildirim S. Dental Pulp Is a Connective Tissue. In: *Dental Pulp Stem Cells.* 2012. p. 17–24.
 50. Marsh PD. Dental plaque as a microbial biofilm. *Caries Res.* 2004;38(3):204–11.
 51. Siqueira JF, Rôças IN, Lopes HP. Patterns of microbial colonization in primary root canal infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2002;93(2):174–8.
 52. Peters LB, Wesselink PR, Buijs JF, Van Winkelhoff AJ. Viable bacteria in root dentinal tubules of teeth with apical periodontitis. *J Endod.* 2001;27(2):76–81.
 53. Endodontics R. *Colleagues for Excellence.* 2013;
 54. Galler KM, Krastl G, Simon S, Van Gorp G, Meschi N, Vahedi B, et al. European Society of Endodontology position statement: Revitalization procedures. *Int Endod J.* 2016;49(8):717–23.
 55. Diogenes A, Henry MA, Teixeira FB, Hargreaves KM. An update on clinical regenerative endodontics. *Endod Top.* 2013;28(1):2–23.
 56. Damle SG, Bhattal H, Loomba a. Apexification of anterior teeth: a comparative evaluation of mineral trioxide aggregate and calcium hydroxide paste. *J Clin Pediatr Dent [Internet].* 2012;36(3):263–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22838228>
 57. Bakland LK, Andreasen JO. Will mineral trioxide aggregate replace calcium hydroxide in treating pulpal and periodontal healing complications subsequent to dental trauma? A review. *Dent Traumatol.* 2012;28(1):25–32.
 58. Chaniotis A, Petridis X. Cervical Level Biological Repair of the Access Opening after Regenerative Endodontic Procedures: Three Cases with the Same Repair Pattern. *J Endod [Internet].* 2019;45(10):1219–27. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2019.07.003>
 59. Kahler B, Lin LM. a Review of Regenerative Endodontics: Current Protocols and Future Directions. *J Istanbul Univ Fac Dent.* 2017;51(0):41–51.
 60. Neha K, Kansal R, Garg P, Joshi R, Garg D, Grover HS. Management of immature teeth by dentin-pulp regeneration: A recent approach. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2011;16(7).
 61. Dager ES. Ventajas y usos de las células madre en estomatología Advantages

- and uses of mother cells in Stomatology MsC. Elizabeth Santiago Dager,.
Medisan. 2014;18(9):1283–92.
62. Hargreaves KM, Diogenes A, Teixeira FB. Treatment options: Biological basis of regenerative endodontic procedures. Vol. 35, Pediatric Dentistry. 2013. p. 129–40.
 63. Windley W, Teixeira F, Levin L, Sigurdsson A, Trope M. Disinfection of immature teeth with a triple antibiotic paste. *J Endod*. 2005;31(6):439–43.
 64. Ruparel NB, Teixeira FB, Ferraz CCR, Diogenes A. Direct effect of intracanal medicaments on survival of stem cells of the apical papilla. *J Endod* [Internet]. 2012;38(10):1372–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2012.06.018>
 65. Albuquerque MTP, Valera MC, Nakashima M, Nör JE, Bottino MC. Tissue-engineering-based strategies for regenerative endodontics. *J Dent Res*. 2014;93(12):1222–31.
 66. Diogenes AR, Ruparel NB, Teixeira FB, Hargreaves KM. Translational science in disinfection for regenerative endodontics. *J Endod* [Internet]. 2014;40(4 SUPPL.):S52–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2014.01.015>
 67. Meschi N, Hilkens P, Lambrichts I, Van den Eynde K, Mavridou A, Strijbos O, et al. Regenerative endodontic procedure of an infected immature permanent human tooth: an immunohistological study. *Clin Oral Investig*. 2016;20(4):807–14.
 68. Martin G, Ricucci D, Gibbs JL, Lin LM. Histological findings of revascularized/revitalized immature permanent molar with apical periodontitis using platelet-rich plasma. *J Endod* [Internet]. 2013;39(1):138–44. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2012.09.015>
 69. Andreasen JO, Bakland LK. Pulp regeneration after non-infected and infected necrosis, what type of tissue do we want? A review. *Dent Traumatol*. 2012;28(1):13–8.
 70. Chen MYH, Chen KL, Chen CA, Tayebaty F, Rosenberg PA, Lin LM. Responses of immature permanent teeth with infected necrotic pulp tissue and apical periodontitis/abscess to revascularization procedures. *Int Endod J*. 2012;45(3):294–305.
 71. Kahler B, Kahler SL, Lin LM. Revascularization-associated Intracanal Calcification: A Case Report with an 8-year Review. *J Endod* [Internet]. 2018;44(12):1792–5. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2018.08.009>

72. Torabinejad M, Alexander A, Vahdati SA, Grandhi A, Baylink D, Shabahang S. Effect of Residual Dental Pulp Tissue on Regeneration of Dentin-pulp Complex: An In Vivo Investigation. *J Endod* [Internet]. 2018;44(12):1796–801. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2018.09.005>
73. Torabinejad M, Turman M. Revitalization of tooth with necrotic pulp and open apex by using platelet-rich plasma: A case report. *J Endod* [Internet]. 2011;37(2):265–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2010.11.004>
74. Becerra P, Ricucci D, Loghin S, Gibbs JL, Lin LM. Histologic study of a human immature permanent premolar with chronic apical abscess after revascularization/revitalization. *J Endod* [Internet]. 2014;40(1):133–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2013.07.017>
75. Huang GTJ, Sonoyama W, Liu Y, Liu H, Wang S, Shi S. The Hidden Treasure in Apical Papilla: The Potential Role in Pulp/Dentin Regeneration and BioRoot Engineering. *J Endod*. 2008;34(6):645–51.
76. Staffoli S, Plotino G, Torrijos BGN, Grande NM, Bossù M, Gambarini G, et al. Regenerative endodontic procedures using contemporary endodontic materials. *Materials (Basel)*. 2019;16(6):1–28.
77. Andreasen JO, Farik B, Munksgaard EC. Long-term calcium hydroxide as a root canal dressing may increase risk of root fracture. *Dent Traumatol*. 2002;18(3):134–7.
78. Consent I, Appointment F. AAE Clinical Considerations for a Regenerative Procedure Revised 4-1-18. *Aae*. 2018;1–7.
79. Petrino JA, Boda KK, Shambarger S, Bowles WR, McClanahan SB. Challenges in Regenerative Endodontics: A Case Series. *J Endod* [Internet]. 2010;36(3):536–41. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2009.10.006>
80. Carlos Estrella. *Ciencia Endodóntica*. In: 1era edici. 2005. p. 415–55.
81. Zehnder M. Root Canal Irrigants. *J Endod*. 2006;32(5):389–98.
82. Essner, M. D., Javed, A. & E. Effect of sodium hypochlorite on human pulp cells: an in vitro study. 2011.
83. Trevino EG, Patwardhan AN, Henry MA, Perry G, Dybdal-hargreaves N, Hargreaves KM. Effect of Irrigants on the Survival of Human Stem Cells of the Apical Papilla in a Platelet-rich Plasma Scaffold in Human Root Tips. *J Endod* [Internet]. 2011;37(8):1109–15. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2011.05.013>

84. Pang NS, Lee SJ, Kim E, Shin DM, Cho SW, Park W, et al. Effect of EDTA on attachment and differentiation of dental pulp stem cells. *J Endod* [Internet]. 2014;40(6):811–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2013.09.007>
85. Lin LM, Shimizu E, Gibbs JL, Loghin S, Ricucci D. Histologic and histobacteriologic observations of failed revascularization/revitalization therapy: A case report. *J Endod* [Internet]. 2014;40(2):291–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2013.08.024>
86. Vianna ME, Horz HP, Gomes BPFA, Conrads G. In vivo evaluation of microbial reduction after chemo-mechanical preparation of human root canals containing necrotic pulp tissue. *Int Endod J*. 2006;39(6):484–92.
87. Kaiser HJ. Management of wide open apex canals with calcium hydroxide. Present 21st Annu Meet Am Assoc Endodontist.
88. Frank AL. Therapy for the divergent pulpless tooth by continued apical formation. *J Am Dent Assoc*. 1966;72(1):87–93.
89. Wang Z, Shen Y, Haapasalo M. Effectiveness of endodontic disinfecting solutions against young and old *Enterococcus faecalis* biofilms in dentin canals. *J Endod* [Internet]. 2012;38(10):1376–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2012.06.035>
90. Waltimo TMT, Ørstavik D, Sirén EK, Haapasalo MPP. In vitro susceptibility of *Candida albicans* to four disinfectants and their combinations. *Int Endod J*. 1999;32(6):421–9.
91. Madhubala MM, Srinivasan N, Ahamed S. Comparative evaluation of propolis and triantibiotic mixture as an intracanal medicament against *enterococcus faecalis*. *J Endod* [Internet]. 2011;37(9):1287–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2011.05.028>
92. Carlos Estrela-Roberto Holland. *Ciencia Endodóntica*. In: 1er edició. 2005. p. 457–538.
93. Theodor Lambrianidis JM and PB. Removal efficiency of calcium hydroxide dressing from the root canal. *J Contemp Dent Pract*. 1999;25(2):85–8.
94. Hoshino E, Kurihara-Ando N, Sato I, Uematsu H, Sato M, Kota K, et al. In-vitro antibacterial susceptibility of bacteria taken from infected root dentine to a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline. *Int Endod J*. 1996;29(2):125–30.
95. Sato I, Ando-Kurihara N, Kota K, Iwaku M, Hoshino E. Sterilization of infected

- root-canal dentine by topical application of a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline in situ. *Int Endod J.* 1996;29(2):118–24.
96. Jagdale S, Bhargava K, Bhosale S, Kumar T, Chawla M, Jagtap P. Comparative evaluation of coronal discoloration induced by two triple antibiotic revascularization protocols when used at varying depths of temporary sealing material at the end of varying time periods. Vol. 21, *Journal of Conservative Dentistry.* 2018. p. 388–93.
 97. Kim JH, Kim Y, Shin SJ, Park JW, Jung IY. Tooth discoloration of immature permanent incisor associated with triple antibiotic therapy: A case report. *J Endod [Internet].* 2010;36(6):1086–91. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2010.03.031>
 98. Shokouhinejad N, Razmi H, Farbod M, Alikhasi M, Camilleri J. Coronal tooth discoloration induced by regenerative endodontic treatment using different scaffolds and intracanal coronal barriers: a 6-month ex vivo study . *Restor Dent Endod.* 2019;44(3):1–10.
 99. Segura-Egea JJ, Gould K, Şen BH, Jonasson P, Cotti E, Mazzoni A, et al. European Society of Endodontology position statement: the use of antibiotics in endodontics. *Int Endod J.* 2018;51(1):20–5.
 100. Faria G, Rodrigues EM, Coaguila-Llerena H, Gomes-Cornélio AL, Neto Angéloco RR, Swerts Pereira MS, et al. Influence of the Vehicle and Antibiotic Formulation on Cytotoxicity of Triple Antibiotic Paste. *J Endod.* 2018;44(12):1812–6.
 101. Parirokh M. Mineral trioxide aggregate and other bioactive endodontic cements : an updated overview – part I : vital pulp therapy. 2018;177–205.
 102. Camilleri J. The chemical composition of mineral trioxide aggregate. Vol. 11, *Journal of Conservative Dentistry.* 2008. p. 141.
 103. Willershausen I, Wolf T, Kasaj A, Weyer V, Willershausen B, Marroquin BB. Influence of a bioceramic root end material and mineral trioxide aggregates on fibroblasts and osteoblasts. *Arch Oral Biol.* 2013;58(9):1232–7.
 104. Samyuktha V, Ravikumar P, Nagesh B, Ranganathan K, Jayaprakash T, Sayesh V. Cytotoxicity evaluation of root repair materials in human-cultured periodontal ligament fibroblasts. Vol. 17, *Journal of Conservative Dentistry.* 2014. p. 467–70.
 105. Bartols A, Roussa E, Walther W, Dörfer CE. First Evidence for Regeneration of the Periodontium to Mineral Trioxide Aggregate in Human Teeth. *J Endod.* 2017;43(5):715–22.

106. Miller AA, Takimoto K, Wealleans J, Diogenes A. Effect of 3 Bioceramic Materials on Stem Cells of the Apical Papilla Proliferation and Differentiation Using a Dentin Disk Model. *J Endod* [Internet]. 2018;44(4):599–603. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2017.12.018>
107. www.septodont.es.
108. Daltoé MO, Paula-Silva FWG, Faccioli LH, Gatón-Hernández PM, De Rossi A, Silva LAB. Expression of mineralization markers during pulp response to biodentine and mineral trioxide aggregate. *J Endod*. 2016;42(4):596–603.
109. Aggarwal V, Singla M, Miglani S, Kohli S. Comparative evaluation of push-out bond strength of ProRoot MTA, Biodentine, and MTA Plus in furcation perforation repair. Vol. 16, *Journal of Conservative Dentistry*. 2013. p. 462–5.
110. El Karim IA, McCrudden MTC, McGahon MK, Curtis TM, Jeanneau C, Giraud T, et al. Biodentine reduces tumor necrosis factor alpha-induced TRPA1 expression in odontoblastlike cells. *J Endod*. 2016;42(4):589–95.
111. <https://brasselerusadental.com/products/bc-rrm/>.
112. Kit BCO, Kit BCS. REDEFINING ENDODONTICS Bioceramic Technology EndoSequence. 1937;
113. Chaniotis A. Treatment Options for Failing Regenerative Endodontic Procedures: Report of 3 Cases. *J Endod* [Internet]. 2017;43(9):1472–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2017.04.015>
114. Bose R, Nummikoski P, Hargreaves K. A Retrospective Evaluation of Radiographic Outcomes in Immature Teeth With Necrotic Root Canal Systems Treated With Regenerative Endodontic Procedures. *J Endod* [Internet]. 2009;35(10):1343–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2009.06.021>
115. Whittle M. Apexification of an infected untreated immature tooth. *J Endod*. 2000;26(4):245–7.
116. Žižka R, Buchta T, Voborná I, Harvan L, Šedý J. Root Maturation in Teeth Treated by Unsuccessful Revitalization: 2 Case Reports. *J Endod*. 2016;42(5):724–9.
117. Glendor U. Epidemiology of traumatic dental injuries - A 12 year review of the literature. *Dent Traumatol*. 2008;24(6):603–11.
118. Manguno C, Murray PE, Howard C, Madras J, Mangan S, Namerow KN. A survey of dental residents' expectations for Regenerative endodontics. *J Endod* [Internet]. 2012;38(2):137–43. Available from:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2011.10.028>

119. CASE REPORT maturogenesis.
120. Geisler TM. Clinical Considerations for Regenerative Endodontic Procedures. Dent Clin North Am [Internet]. 2012;56(3):603–26. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cden.2012.05.010>
121. Michael Robinson C, Jenkins PJ. Letters to the editor. J Bone Jt Surg [Am]. 2008;90(11):2550–1.
122. Możyńska J, Metlerski M, Lipski M, Nowicka A. Tooth Discoloration Induced by Different Calcium Silicate-based Cements: A Systematic Review of In Vitro Studies. J Endod. 2017;43(10):1593–601.
123. Aksel H, Serper A. Recent considerations in regenerative endodontic treatment approaches. J Dent Sci [Internet]. 2014;9(3):207–13. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jds.2013.12.007>

9. AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Andrés por la paciencia y amor con el que me acompañó en el proceso de la realización de este trabajo.

A mi familia por alentarme a siempre superarme.

A mi perrita OBBY compañera incansable.

A mis grandes profesoras: Nelly, Sylvia y Beatriz por cada aporte y enseñanza, y al resto del equipo docente de la cátedra de endodoncia.

A mis tutoras, a ambas Maria Noel y Verito por su tiempo dedicado y por cada granito de arena que aportaron, que esto no hubiera sido posible de otra manera.

GRACIAS A TODOS, fue un placer que cada uno apareciera en mi vida!!!