



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

Revascularización pulpar en dientes permanentes con ápice abierto por medio de la utilización de plasma rico en plaquetas en combinación con soportes de colágeno tipo I. Estudio descriptivo

Ingrid Lorena Bustos Orozco

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Odontología. Especialidad en Endodoncia
Bogotá, Colombia
2014

Revascularización pulpar en dientes permanentes con ápice abierto por medio de la utilización de plasma rico en plaquetas en combinación con soportes de colágeno tipo I. Estudio descriptivo

Ingrid Lorena Bustos Orozco

Tesis o trabajo de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de:
Especialista en Endodoncia

Director:

Javier Laureano Niño Barrera. Magister en Ingeniería Biomédica

Codirectora:

Martha Raquel Fontanilla Duque. PhD Microbiología

Línea de Investigación:

Endodoncia regenerativa

Grupo de Investigación:

INVENDO: Grupo de Investigación en Endodoncia. Facultad de Odontología. Universidad Nacional de Colombia

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Odontología- Especialidad en Endodoncia

Bogotá, Colombia

2014

Dedicatoria

A Dios,

Por darme el privilegio de la vida, por ser el autor de mis sueños y el impulsador para mis metas y propósitos.

Por darme la sabiduría, valentía y fuerza para levantarme cada mañana a pelear la buena batalla de la fe.

Por su infinito amor que colma mi vida, llena mi ser y me hace infinitamente feliz.

A mis padres,

Luis Fernando Bustos y Amparo Orozco

Por ser mis grandes amores después de Dios.

Por ser quienes me han dado incondicionalmente su apoyo moral, espiritual, económico, familiar.

Gracias a ustedes es que puedo levantar la frente en alto, ver la vida diferente y continuar el camino.

Por ser quienes me sustentan, levantan mis brazos y animan en todo momento.

Sus sabios consejos, sus regaños, sus palabras de alientos, son las que me han motivado en cada paso.

*A mis hermanos,
Jorge, Diego, Cristian y Alexis
Por ser mi motor para salir adelante.
Por ser quienes han estado en cada alegría y
en cada tristeza, y en días donde no ocurría
nada extraordinario.
Por ser los hombres que complementan mi
vida y me llenan de su amor.
Soy la princesa más afortunada por tenerlos a
ustedes.*

*A mi abuela
Elizabeth Delgado, nuestra madre espiritual,
sé que cada doblada de rodilla ha sido
escuchada y tus oraciones suben como olor
fragante.
No hubo mañana que no me bendijeras, y
eso lo valoro.*

*A mis amigas y amigos,
Cada momento de alegría en mi vida, tiene el
nombre de alguno de ustedes.
Hay amigos más fieles que un hermano, y
ustedes han sido un bello instrumento de
Dios en mi vida.*

*A todo el ministerio de Ujieres-Casa Roca y
en especial al grupo Nicolás, son el grupo
más maravilloso de siervos que conozco y
quienes dan todo sin recibir nada a cambio.
Dios los recompensará.*

Agradecimientos

Al doctor Henry Sossa, especialista en Endodoncia, por ser el impulsador de este trabajo de grado. Por sus aportes, comentarios, sugerencias y críticas en la realización de los casos clínicos.

Por ser el docente que inspiro y motivo mi gusto por la Endodoncia regenerativa

A Edward Suesca y la doctora Martha Fontanilla por su trabajo en ingeniería de tejidos, quienes amablemente siempre estuvieron dispuestos a brindar su colaboración para la realización de este proyecto, por medio de la donación de los soportes de colágeno tipo I.

Al laboratorio de microbiología de la Facultad de Medicina y a todo su equipo, por su apoyo y disposición para la toma de muestras de sangre y la obtención del plasma rico en plaquetas. Este estudio le debe mucho a su maravillosa labor.

A mis compañeros y amigas, por sus aportes, su colaboración, apoyo y alegría. En especial a Milena Prieto y Alexandra Perdomo quienes siempre estuvieron dispuestas a colaborar en la realización de los casos clínicos.

A mis docentes del posgrado por sus enseñanzas y sus aportes a construir conocimiento, son un verdadero ejemplo a seguir.

Resumen

La revascularización pulpar es el procedimiento enmarcado dentro de la endodoncia regenerativa, con el fin de lograr el cierre apical, engrosamiento de las paredes dentinales y la resolución apical producto de una patología pulpar y/o periapical en dientes inmaduros. La endodoncia regenerativa busca regenerar y no reparar, está basada en tres componentes principales: las células madre, que pueden diferenciarse en células implicadas en el desarrollo radicular; los factores de crecimiento, que inducen la diferenciación celular y por último los andamios físicos, los cuales pueden promover la migración y el crecimiento celular. Dentro de los andamios más conocidos se encuentra el Plasma Rico en Plaquetas del cual se libera diversos factores de crecimiento que promueven la proliferación y diferenciación celular, estimulando la neovascularización y mejorando la respuesta inflamatoria local. Por su parte los soportes de colágeno son útiles para la proliferación, diferenciación y crecimiento de células que sintetizan tejido duro mineralizado. La revascularización pulpar teniendo en cuenta estos andamios y demás componentes de la endodoncia regenerativa, está encaminada al éxito clínico y radiográfico en el tratamiento de dientes inmaduros.

Palabras claves: revascularización, endodoncia regenerativa, diente permanente inmaduro, ingeniería de tejidos, andamio de colágeno, plasma rico en plaquetas

:

Abstract

The pulp revascularization is a regenerative endodontic procedure, which is used to achieve the apical closure, thickening of the dentin walls and apical resolution, product of pulp and/or periapical pathology in immature teeth. Regenerative endodontics seeks to regenerate, not repair, is based on three main components: stem cells, these can differentiate into cells involved in root development; growth factors, which induce cell differentiation and finally scaffolds, which can promote migration and growth cell. Within the best known scaffolds is Platelet Rich Plasma that releases several growth factors that promote cell proliferation and differentiation, stimulating neovascularization and improving the local inflammatory response. Meanwhile the collagen supports are useful for proliferation, differentiation and growth of cells that synthesize mineralized hard tissue. The pulp revascularization given these scaffolds and other components of regenerative endodontics, it is directed to the clinical and radiographic successful treatment of immature teeth

Keywords: Revascularization, regenerative endodontics, immature permanent tooth, tissue engineering, collagen scaffold, platelet-rich plasma.

Contenido

Pág.

Resumen.....	IX
Lista de figuras y gráficos.....	XIV
Lista de tablas.....	XVII
Lista de Símbolos y abreviaturas.....	XVIII
Introducción.....	1
1. Aspectos metodológicos.....	7
1.1 Pregunta de investigación.....	7
1.2 Justificación.....	7
1.3 Objetivos.....	9
1.3.1 Objetivo general.....	9
1.3.2 Objetivos específicos.....	9
2. Marco teórico.....	11
2.1 Generalidades.....	11
2.2 Apexificación.....	12
2.3 Barrera de MTA.....	15
2.4 Revascularización.....	17
2.4.1 Desinfección.....	19
2.4.1.1 Irrigación.....	21
2.4.1.2 Medicación intraconducto.....	23
2.4.2 Procedimiento de revascularización.....	27

2.5 Endodoncia regenerativa.....	30
2.5.1 Células madre.....	32
2.5.2. Andamio físico.....	33
2.5.2.1 Plasma rico en plaquetas.....	34
2.5.2.2 Soporte de colágeno.....	36
2.5.3 Factores de crecimiento.....	39
2.6 Éxito de la revascularización.....	40
3. Diseño metodológico.....	43
3.1 Tipo de estudio.....	43
3.2 Materiales.....	43
3.3 Métodos.....	46
3.3.1 Protocolo de atención.....	46
3.3.2 Revisión y análisis de la literatura.....	51
3.3.3 Población y muestra.....	51
3.3.4 Criterios de inclusión.....	52
3.3.5 Criterios de exclusión.....	52
3.3.6 Aspectos éticos.....	53
3.4 Descripción casos clínicos.....	54
3.4.1 Caso clínico 1.....	54
3.4.2 Caso clínico 2.....	67
4. Resultados.....	83
4.1 Caso clínico 1.....	84
4.2 Caso clínico 2.....	85
5. Discusión.....	88
6. Conclusiones y recomendaciones.....	93
6.1 Conclusiones.....	93
6.2 Recomendaciones.....	94

7. Anexos.....	95
7.1 A. Consentimiento informado.....	95
7.2 B. Folleto informativo.....	101
Bibliografía	103

Lista de figuras

FIGURA	DESCRIPCIÓN	REFERENCIA	PÁGINA
Figura 2.4.1	Porcentaje de géneros microbianos	25	20
Figura 2.4.1.1	Porcentaje de supervivencia de SCAP por diferentes irrigantes	35	22
Figura 2.4.1.2	Porcentaje de supervivencia de SCAP por diferentes medicamentos	42	26
Figura 2.5	Factores claves para la regeneración tisular	25	32
Figura 3.4.1.1	Radiografía inicial caso 1	-	55
Figura 3.4.1.2	Fotografía clínica aislamiento absoluto, caso 1	-	56
Figura 3.4.1.3	Fotografía tubos de sangre obtenidos, caso 1	-	57
Figura 3.4.1.4	Fotografía tubos de sangre colocados en centrifuga, caso 1	-	58
Figura 3.4.1.5	Fotografía centrifuga Rotofix 32	-	59
Figura 3.4.1.6	Fotografía de tubos después del proceso de centrifugación, caso 1	-	59
Figura 3.4.1.7	Fotografía paso del PRP a tubo estéril, caso 1	-	60
Figura 3.4.1.8	Fotografía jeringa estéril con el PRP, caso 1	-	61
Figura 3.4.1.9	Fotografía clínica de aislamiento, segunda cita, caso 1	-	62
Figura 3.4.1.10	Fotografía clínica de la aplicación del PRP, caso 1	-	63

Figura 3.4.1.11	Fotografía clínica del soporte de colágeno, caso 1	-	64
Figura 3.4.1.12	Fotografía clínica del soporte de colágeno en loseta, caso 1	-	65
Figura 3.4.1.13	Fotografía clínica de colocación de soporte intraconducto, caso 1	-	65
Figura 3.4.1.14	Fotografía clínica de colocación de MTA, caso 1	-	66
Figura 3.4.2.1	Radiografía diente 21, caso 2	-	67
Figura 3.4.2.2	Fotografía clínica aislamiento absoluto, caso 2	-	68
Figura 3.4.2.3	Fotografía clínica de irrigación intraconducto, caso 2	-	69
Figura 3.4.2.4	Fotografía clínica de toma de obtención de muestra de sangre, caso 2	-	70
Figura 3.4.2.5	Fotografía de centrifugadora Rotofix 32	-	70
Figura 3.4.2.6	Fotografía tubos obtenidos después de centrifugación, caso 2	-	71
Figura 3.4.2.7	Fotografía de paso del PRP a tubo estéril, caso 2	-	71
Figura 3.4.2.8	Fotografía jeringa estéril con el PRP, caso 2	-	72
Figura 3.4.2.9	Fotografía clínica de aislamiento e irrigación, caso 2	-	73
Figura 3.4.2.10	Fotografía clínica secado de conducto, caso 2	-	74
Figura 3.4.2.11	Fotografía clínica sobreinstrumentación, caso 2	-	75
Figura 3.4.2.12	Fotografía clínica aplicación de PRP intraconducto, caso 2	-	76

Figura 3.4.2.13	Fotografía clínica de PRP intraconducto, caso 2	-	76
Figura 3.2.2.14	Fotografía clínica de soporte de colágeno almacenado, caso 2	-	77
Figura 3.2.2.15	Fotografía clínica soporte de colágeno en loseta, caso 2	-	78
Figura 3.2.2.16	Fotografía clínica colocación de soporte intraconducto, caso 2	-	78
Figura 3.2.2.17	Fotografía clínica de condensación de soporte de colágeno, caso 2	-	79
Figura 3.2.2.18	Fotografía clínica de soporte de colágeno intraconducto, caso 2	-	79
Figura 3.2.2.19	Fotografía clínica de proceso de colocación del MTA, caso 2	-	80
Figura 3.2.2.20	Fotografía clínica colocación de MTA hasta línea amelocementaria, caso 2	-	80
Figura 3.2.2.21	Fotografía clínica de colocación de obturación temporal, caso 2	-	81
Figura 3.2.2.22	Radiografía final del proceso de revascularización, caso 2	-	81
Figura 4.1.1	Radiografía diente 36 a tres meses de seguimiento, caso 1	-	84
Figura 4.2.1	Fotografía clínica decoloración diente 21, caso 2	-	85
Figura 4.2.2	Radiografía diente 21 a tres meses de seguimiento, caso 2	-	86

Lista de tablas

TABLA	DESCRIPCIÓN	REFERENCIA	PÁGINA
Tabla 1	Análisis histológico del tratamiento con PRP y coágulo de sangre en la Endodoncia regenerativa	(47)	36
Tabla 2	Materiales e instrumentos utilizados en la revascularización en el estudio.	--	43-46

Lista de Símbolos y abreviaturas

ABREVIATURA	TÉRMINO
AAE	Asociación Americana de Endodoncia
BMP	Proteína morfogenética osea
Ca(OH)₂	Hidróxido de Calcio
DMP1	Proteína de Matriz dentinal 1
DPSCs	Célula madre de la pulpa dental
DSPP	Sialoproteína dentinal
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
EGF	Factor de crecimiento epidermal
FGF	Factor de crecimiento fibroblástico
FDA	Administración de alimentos y drogas
HpdIsc	Células madre del ligamento periodontal
IGF	Factor de crecimiento similar a la insulina
IRM	Material de restauración intermedio
MMP	Metaloproteinasas de matriz
MTA	Mineral Trióxido Agregado
NaOCl	Hipoclorito de Sodio
PDGF	Factor de crecimiento derivado de plaquetas
PDL	Ligamento periodontal
PDLSCs	Células madre del ligamento periodontal
PPP	Plasma pobre en plaquetas
PRP	Plasma rico en plaquetas
PTH	Hormona paratiroidea
PLA	Ácido poliláctico
PGA	Ácido poliglicólico

qRT-PCR	Reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa cuantitativa en tiempo real
SCAPs	Células madre de la papila apical
Super EBA	Cemento EBA reforzado con aluminio (cemento de óxido de zinc y eugenol modificado con ácido etoxibenzoico)
TGF	Factor de crecimiento transformante
TGB-β	Factor de crecimiento transformante Beta
UAC	Unión Amelocementaria
VEGF	Factor de crecimiento vascular endotelial

Introducción

La caries dental, la enfermedad periodontal y el trauma dentoalveolar son las entidades con mayor prevalencia que conllevan a la pérdida prematura de los dientes, causando alteraciones en el crecimiento de los maxilares, maloclusiones, alteraciones en la fonación y si se involucra el segmento anterior, una serie de desórdenes psicosociales debido al compromiso de la estética del paciente (1)

Una de las causas de la pérdida de los dientes permanentes maduros o con desarrollo radicular incompleto, es el manejo odontológico tardío o inapropiado, que permite que se desencadene una inflamación pulpar irreversible, que evoluciona a una necrosis y posteriormente a una periodontitis apical, con resorción radicular externa inflamatoria asociada; y en cuyo caso el tratamiento anteriormente indicado era la apexificación, que tenía como objetivo promover la formación de una matriz apical mineralizada que permitiera la posterior obturación del diente con un material inerte. Pero a pesar de todo, la falta de desarrollo radicular y/o la resorción radicular externa inflamatoria, con el pasar del tiempo, conllevaban a fracturas radiculares y a la pérdida inminente del diente (2) (3).

Granath et al. en 1959 fue el primero en describir el uso del hidróxido de calcio para inducir el cierre apical (4) (5). La apexificación solo fomenta la formación de una matriz biomineralizada apical, pero no puede promover la regeneración de los tejidos dentales (6). Este proceso se basaba en la utilización de hidróxido de calcio por un largo periodo de tiempo hasta determinar radiográficamente la formación de una barrera apical radicular y posterior a ello, se realizaba la obturación del conducto.

La revascularización pulpar se convirtió en una alternativa de tratamiento para los dientes permanentes inmaduros o los dientes permanentes, con formación radicular completa y/o con resorción radicular externa inflamatoria sin matriz apical, que por uno u otro motivo han sufrido algún tipo de lesión de etiología bacteriana o traumática, y en los cuales no es viable su cierre apical. Con este procedimiento de revascularización se ha demostrado mediante estudios clínicos, el continuo desarrollo de la raíz con un engrosamiento de las paredes dentinales y el completo cierre apical. Esta terapia promueve la migración de células madre desde la región apical hacia el espacio del conducto radicular, promoviendo la continuación de la formación radicular (7).

Nygaard-Östby en 1961 describió los primeros procedimientos regenerativos en endodoncia, mediante la formación de un tejido conectivo fibroso y cemento celular a nivel apical, luego de remover la pulpa y obturar el conducto parcialmente con gutapercha previa inducción en el tercio apical radicular, de la formación de un coágulo de sangre, y desinfección del conducto con peróxido de hidrógeno al 30 % y formaldehído al 4% para crear un andamio que permitía el crecimiento de un nuevo tejido; en este trabajo se enfatiza por primera vez en la importancia de la formación de un coágulo sanguíneo como inductor de reparación (8)

El coágulo de sangre que se forma es una fuente de factores de crecimiento, los cuales tienen el potencial de estimular la proliferación, migración, diferenciación, y maduración de células estromales mesenquimales en fibroblastos, odontoblastos, cementoblastos y osteoblastos (2) que secretan una matriz rica en colágeno y otras glicoproteínas y proteoglicanos que posteriormente se biomineraliza favoreciendo el engrosamiento y elongación de las paredes dentinales (1) (9).

El mecanismo de acción de la revascularización se basa en la posibilidad de que existan células madre mesenquimales en la papila apical, que quedan vitales en el extremo apical del conducto radicular, estas células pueden proliferar en la matriz recién formada del coágulo y diferenciarse a odontoblastos bajo la influencia de las células de la vaina radicular epitelial de Hertwig, que son resistentes a la lisis incluso en un tejido inflamado.

Los odontoblastos recién formados, empiezan a secretar dentina atubular en el extremo apical favoreciendo la apexogénesis, lo que le da un refuerzo a las paredes dentinales y a la porción dental radicular.

Trope et al. en el 2004, describieron la técnica de revascularización de dientes permanentes inmaduros con periodontitis apical. El protocolo habla de 3 principios: (a) la desinfección química del conducto sin instrumentación, (b) la producción de un medio adecuado para el andamio que soportara el crecimiento del nuevo tejido, (c) un sellado adecuado para evitar la entrada de bacterias al conducto (2). El conducto se desinfecta con abundante irrigación con NaOCl al 5,25 % y Peridex ® y una medicación intraconducto durante 26 días con la combinación de tres antibióticos (ciprofloxacina, metronidazol, minociclina) (10).

A los 26 días de la desinfección completa, el ápice se irrita mecánicamente para iniciar el sangrado en el conducto, produciendo un coágulo de sangre hasta la unión cemento esmalte, después se realiza el sellado con MTA y la restauración coronal definitiva. A través de estos tres pasos es posible lograr una revascularización exitosa donde se dé el desarrollo de la raíz y el refuerzo de las paredes dentinales por deposición de tejido biomineralizado, permitiendo que esta raíz sea resistente y poco susceptible a la fractura (4). Con la revascularización se requieren tiempos de tratamiento más cortos después del control de la infección, y la principal ventaja de esta técnica es que no se hace necesaria la obturación del conducto con un material inerte como con la apexificación (1).

El éxito de este proceso es la desinfección de los conductos radiculares, ya que el crecimiento del tejido se detendrá a nivel donde se encuentren las bacterias (3). Se ha discutido una gran variedad de protocolos de desinfección del conducto, donde se han realizado descontaminación con una irrigación pasiva con el fin de mantener la viabilidad celular, y estas células en contacto con el apósito dental puedan promover el desarrollo de la raíz. Dentro de los apósitos intraconductos más utilizados esta la pasta triantibiótica propuesta por Hoshino en 1996 (11) que está compuesta por metronidazol, minociclina,

ciprofloxacina; la cual ha demostrado que es eficiente contra los patógenos endodónticos y además promueve el desarrollo de la raíz (12).

Zbang et al. en 2009 describieron casos clínicos utilizando los mismos métodos que Trope. En este estudio se demostró que alrededor del 70% de los dientes responden adecuadamente al proceso de revascularización. En cambio Vivek Aggarwal et al. en el 2008 encontró una tasa de éxito del 78% con resolución de la lesión periapical. Es de importancia que una de las desventajas es el no establecimiento del coágulo, lo cual no siempre es predecible y una posible causa de esto es la resolución de la reacción inflamatoria después de la utilización de la pasta triantibiótica, por lo que es más difícil inducir el sangrado, o por la utilización del hidróxido de calcio que puede causar necrosis de la zona apical (13). Otra razón podría estar relacionada con el uso de anestesia local que contiene vasoconstrictores como la epinefrina que no favorece el establecimiento del coágulo (3) (13).

El tejido que se forma en la revascularización después de 3,5 semanas desde el aspecto histológico es tejido conectivo laxo con pocas fibras de colágeno, fibroblastos jóvenes en forma de huso o células mesenquimales, vasos sanguíneos y con pocas fibras nerviosas (6). Después del proceso de revascularización también se forma tejido cementoide, similar al cemento radicular (14).

Para la terapia de revascularización enmarcado dentro de la endodoncia regenerativa, se ha establecido tres componentes básicos: las células madre, moléculas de señalización y un andamio físico (13).

El plasma rico en plaquetas se ha propuesto como un andamio ideal en la revascularización ya que es autólogo, de fácil preparación, contiene factores de crecimiento y forma una matriz de fibrina que sirve de andamiaje. Este plasma rico en plaquetas contiene un 33% de plaquetas (1 millón/ μ L), lo que aumenta el número de factores de crecimiento secretados (3), que ayuda a la proliferación de células madre

mesenquimales y endoteliales que inducen la regeneración del tejido pulpar, estabiliza el coágulo de sangre formado, promueve la angiogénesis, estimula la producción de colágeno y produce agentes anti-inflamatorios que mejoran la respuesta inflamatoria local. Dentro de sus desventajas se encuentra la extracción de sangre del paciente, la necesidad de equipos y reactivos especiales para preparar el plasma rico en plaquetas, lo que aumenta el costo del tratamiento. Estas desventajas son menores en comparación con la mejora de la cicatrización y la reparación de la pulpa con el consecuente desarrollo radicular (13) (15).

Otro andamio físico son las matrices colágenas, que se colocan después de la formación del coágulo de sangre en el espacio del conducto, entre ellas está el Collaplug® o Collacote® con el fin de estabilizar y mantener el coágulo de sangre (16). Las matrices colágenas tienen grandes ventajas frente a otros tipos de matrices, ya que el colágeno es el principal componente en las matrices extracelulares y proporciona una gran resistencia a la tracción en los tejidos. Como matriz, el colágeno permite la migración y adhesión de las células y factores de crecimiento y permite el reemplazo con tejidos naturales después de someterse a la degradación. Estas matrices son de colágeno tipo I que es un importante componente fibroso del tejido pulpar (17).

Actualmente se maneja el término de endodoncia regenerativa y hacia allá será encaminada la práctica clínica y los procesos de revascularización. MacArthur y Oreffo et al. definen la ingeniería de tejidos como la comprensión de los principios de crecimiento de los tejidos, y la aplicación de estos para producir tejidos de reemplazo funcional para el uso clínico, lo que requiere el empleo de estrategias terapéuticas biológicas destinadas a la sustitución, reparación, el mantenimiento, y / o mejora de la función del tejido (18) (19). Por lo tanto, el propósito de este estudio es describir la utilización del plasma rico en plaquetas autólogo combinado con un soporte de colágeno Tipo I, el cual es elaborado en laboratorio a partir de tejido bovino mediante ingeniería de tejidos, (17) para favorecer el proceso de revascularización pulpar en dientes permanentes con ápice abierto.

1.Aspectos metodológicos

1.1 Pregunta de investigación

¿Podría la utilización de plasma rico en plaquetas en combinación con soportes de colágeno tipo I, favorecer el procedimiento de revascularización pulpar en dientes permanentes con ápice abierto?

1.2 Justificación

Como es bien sabido uno de los problemas que con más frecuencia se presenta en la consulta odontológica es la caries, el trauma dentoalveolar y la enfermedad periodontal que afectan en gran manera el desarrollo radicular en dientes inmaduros. Estas diferentes entidades altamente prevalentes pueden afectar el desarrollo no solo radicular sino el desarrollo de los procesos maxilares y mandibulares (1) (2).

A través de los años se han buscado diferentes mecanismos, materiales y protocolos de atención de dientes con formación radicular incompleta, con el fin de lograr el desarrollo continuo de la raíz (3) (4) (5) (6) (7) (9). Mediante diferentes técnicas con ventajas y desventajas sobre el proceso de formación radicular.

Una de las alternativas actualmente es la revascularización pulpar, en donde la utilización de matrices colágenas (17), son el mejor soporte para la migración, proliferación y diferenciación de células madre ectomesenquimales hacia el linaje odontoblástico, los cuales secretan matriz mineralizada y así favorecen la continuación del desarrollo

radicular. Adicionalmente con el uso concomitante del Plasma Rico en Plaquetas (PRP) se liberan más de cien factores de crecimiento, que ayudan a la proliferación de células endoteliales y de las células madre estromales que luego de su diferenciación promueven la neovascularización, estimulan la síntesis y secreción de proteínas de matriz y producen agentes antiinflamatorios que favorecen la respuesta local (3).

Aunque la revascularización pulpar con PRP se ha reportado en la literatura y se ha demostrado su éxito clínico, pocas investigaciones se han descrito donde se combine el PRP con soportes de colágeno; es por esto que buscamos describir mediante este estudio la utilización del PRP en combinación con soportes de colágeno tipo I, esperando generar un impacto positivo en el campo de la endodoncia regenerativa, ya que en nuestra profesión es de vital importancia la descripción y la comprobación clínica de los procedimientos, lo que se conoce como odontología clínica basada en la evidencia.

Al demostrar la efectividad de la revascularización con PRP en combinación con soportes de colágeno tipo I en el tratamiento endodóntico de dientes permanentes con ápice abierto, se generaran alternativas viables, eficaces y adecuadas, para el manejo de estas patologías, basadas en la evidencia clínica.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Describir el proceso de revascularización pulpar en dientes permanentes con ápice abierto, mediante la utilización de plasma rico en plaquetas en combinación con soportes de colágeno tipo I.

1.3.2 Objetivos específicos

- Determinar el grado de desarrollo radicular alcanzado, con la utilización de plasma rico en plaquetas en combinación con soportes de colágeno tipo I, en el proceso de revascularización pulpar en dientes permanentes con ápice abierto.
- Valorar el desarrollo de las paredes dentinales del diente a tratar.
- Medir y evaluar la sensibilidad del tejido dental que ha sido tratado con la técnica de revascularización pulpar mediante la utilización de plasma rico en plaquetas en combinación con soportes de colágeno tipo I.
- Generar otra alternativa de tratamiento para los dientes permanentes con ápice abierto mediante la utilización de plasma rico en plaquetas con soportes de colágeno tipo I.

10 Revascularización pulpar en dientes permanentes con ápice abierto por medio de la utilización de plasma rico en plaquetas en combinación con soportes de colágeno tipo I.
Estudio descriptivo

2. Marco teórico

2.1 Generalidades

Embriológicamente, los dientes son órganos ectodérmicos que se forman de interacciones recíprocas e inductivas entre células del epitelio oral y células ectomesenquimales. A través del desarrollo dental, las señales son intercambiadas para coordinar cada proceso, mediadas por moléculas señal en una matriz adecuada, lo que permite la inducción de células madre mesenquimales multipotentes (20).

Durante el proceso de morfogénesis, las células ectomesenquimales adyacentes al epitelio dental interno, comienzan a diferenciarse en odontoblastos, secretores de matriz de dentina, y las células ectomesenquimales remanentes de la papila dental, darán origen a la pulpa dental. Las células epiteliales del epitelio dental interno formarán los ameloblastos y el resto de células epiteliales formaran el retículo estrellado que está limitado por el epitelio dental interno, externo y el estrato intermedio. Las interacciones que conducen a la diferenciación de odontoblastos y ameloblastos dependen de la señalización molecular entre el epitelio y el ectomesénquima, tal y como sucede en todos los órganos de origen ectodérmico (20).

Como es bien sabido el diente posee una estructura externa biomineralizada que puede verse expuesta a factores como las infecciones, el trauma tanto físico como químico y defectos congénitos, lo que puede afectar el tejido pulpar (21).

La pulpa dental tiene un importante papel en la homeostasis del diente. Dentro de la pulpa dental podemos encontrar diferentes células como odontoblastos, fibroblastos, células estromales mesenquimales, células inmunes y células endoteliales. Se ha determinado que en la formación dental el tejido de la papila apical puede quedar como producto final de esa formación y ayudar en procesos de autoreparación (20).

Los microorganismos y sus toxinas son capaces de inducir la enfermedad pulpar y perirradicular. Cuando la necrosis se produce durante la formación del diente, la formación radicular queda limitada, dejando al diente con paredes dentinales muy delgadas y sin cierre apical, lo que lo hace susceptible a la fractura (22) (23). Debido a estas patologías que detienen el desarrollo radicular, el tratamiento convencional de conductos se hace difícil de realizar, por la amplitud del foramen no se puede lograr un adecuado selle apical (24).

El resultado ideal para un diente con una raíz inmadura y una pulpa necrótica sería la regeneración del tejido pulpar, capaz de promover el continuo desarrollo de la raíz. Las ventajas del procedimiento de apicoformación es el gran potencial para el refuerzo de las paredes dentinales por la deposición de tejido biomineralizado, y el desarrollo de una morfología apical más apropiada para los procedimientos en el conducto radicular, además de favorecer, si llega a ser necesario el tratamiento futuro (24) (25).

Gibbs et al. (2014) concluyeron en su estudio de cohortes retrospectivo que la tasa de supervivencia de los dientes que habían sido tratados con procedimientos de apicoformación y revascularización era entre el 95-100%, en cuanto a tasas de éxito, se encontró que la revascularización tenía una tasa de 79% y la apexificación del 100%, lo cual indica que tales procedimientos son una estrategia adecuada para el manejo de dientes inmaduros (26).

2.2 Apexificación

Se han descrito en la literatura diferentes técnicas de tratamiento para los dientes inmaduros, dentro de esas técnicas se encuentra la apexificación (27), la cual se define como “un método para inducir una barrera calcificada en una raíz con ápice abierto, para que pueda completar su continuo desarrollo”. Esta técnica desarrollada por Granath et al., describió el uso del hidróxido de calcio para el cierre apical o para el establecimiento de una barrera apical, ya que anteriormente se extraían los dientes con pulpas necróticas y ápice abierto (24) (26).

Un número de investigadores han demostrado el cierre apical utilizando una pasta antiséptica como material de relleno provisional tras el desbridamiento del conducto

radicular (27). El verdadero avance se produjo en 1964, cuando Kaiser et al., aprovechando la propiedad potencial osteogénica del $\text{Ca}(\text{OH})_2$, describe una técnica de apexificación que implicaba el uso de hidróxido de calcio y paraclorofenol-alcanforado. Esta técnica fue popularizada por Frank et al. en 1966 (27). La técnica de Frank requiere la sustitución de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ cada 3 meses hasta que se forme una barrera. Esto podría tardar hasta 24 meses o más (28).

En la década de 1970, varios investigadores demostraron cambios histológicos en el sitio de la apicoformación. McCormick et al., planteó la hipótesis de que el desbridamiento del conducto radicular y la eliminación del tejido pulpar necrótico y microorganismos, junto con una disminución en el espacio de la pulpa, son los factores críticos en la apicoformación (27).

La técnica de la apexificación baso su éxito en la utilización del hidróxido de calcio como medicamento intraconducto, el cual se ha utilizado en la odontología durante casi un siglo. Desde su introducción en la década de 1920, el hidróxido de calcio ha sido utilizado ampliamente en el campo de la endodoncia en tratamientos a corto o a largo plazo dentro del conducto como apósito antibacteriano (28).

La pasta de hidróxido de calcio usado en endodoncia se compone de un polvo, un vehículo, y un radiopacificador que es opcional. Varias propiedades biológicas y efectos tales como la actividad antimicrobiana, la capacidad de disolución, la inhibición de la resorción del diente, y la inducción de la reparación por la formación de tejido biomineralizado se han atribuido a esta fuerte sustancia alcalina, que tiene un pH de aproximadamente 12,5. (24)(27).

De acuerdo con Tronstad et al., el mecanismo de acción de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ se atribuye directamente a su capacidad de disociarse en calcio y iones hidroxilo y aumentar el pH local. El $\text{Ca}(\text{OH})_2$ media la neutralización de los lipopolisacáridos bacterianos y estimula la cicatrización de los tejidos periapicales duros. Además de actuar como una barrera física, el $\text{Ca}(\text{OH})_2$ como apósito puede prevenir la reinfección del conducto radicular. Tiene la capacidad como medicación intra-conducto de absorber el dióxido de carbono en los conductos radiculares y perturba los suministros nutricionales a las bacterias, eliminando así algunos patógenos y previniendo el crecimiento de los demás (26).

Dentro de las ventajas de este material, el hidróxido de calcio se ha considerado como una buena opción terapéutica, y ha sido ampliamente recomendado y usado debido a sus propiedades antibacterianas probadas, como la estimulación de la cicatrización del tejido periapical, biocompatibilidad, actividad anti-exudado, propiedad de disolución del tejido necrótico, y la cicatrización periapical gracias a la reducción de la infección en el sistema de conductos radiculares (29).

A pesar de una larga historia de uso en los procedimientos de apicoformación, el hidróxido de calcio tiene varias limitaciones y desventajas. Debido a estas limitaciones, la apicoformación con hidróxido de calcio no puede considerarse un procedimiento universal en los dientes con pulpas necróticas y ápices abiertos. Ha sido controversial el tiempo de acción del hidróxido, ya que se sabe que el hidróxido de calcio después de 15 días pierde su acción, para lo cual se hace indispensable el recambio constante en la técnica de apexificación. Y Se han expresado preocupaciones de que el hidróxido de calcio a largo plazo altera las propiedades mecánicas de la dentina. La acción biológica de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ puede no ser suficiente para eliminar las lesiones apicales crónicas generalizadas de los dientes inmaduros a una edad temprana, y la fragilidad y porosidad de la barrera apical calcificada durante el tratamiento puede complicarse y poner en peligro el resultado de la apexificación (25). La duración del tratamiento y el número de visitas necesarias para la formación de la barrera, que se informa puede llevar de tres a 24 meses o periodos más extensos, lo cual, son a menudo tratamientos demasiado largos para los pacientes jóvenes, que conduce a la deserción del paciente como resultado de la fatiga, las múltiples visitas y la ubicación del paciente, lo que hace difícil garantizar el éxito. Incluso si tiene éxito, la apexificación sólo puede inducir una barrera de tejido duro en el ápice, y no promueve la maduración radicular (18). El apósito Intra-conducto de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ también puede conducir hacia un debilitamiento de las paredes dentinales, debido a sus propiedades higroscópicas y proteolíticas. Algunos autores plantearon la hipótesis de que el pH alcalino de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ puede dar lugar a la neutralización y la desnaturalización de las proteínas orgánicas de la dentina, dejando la raíz más propensa a fracturas (30) (23). Ya que el $\text{Ca}(\text{OH})_2$, por su bajo peso molecular puede facilitar su penetración a través de la apatita encapsulada en la matriz colágena y conducir a un cambio en la conformación dimensional del tropocolágeno (30). La

obtención del conducto radicular con $\text{Ca}(\text{OH})_2$ crea un entorno físico que evita la migración de las células estromales mesenquimales en el conducto impidiendo la formación dentinal adecuada en las paredes radiculares (21).

Sus aplicaciones clínicas han sido bien documentadas en la literatura científica, incluyendo su uso como un agente antimicrobiano, el control del exudado en los conductos radiculares, en la detención de la resorción radicular inflamatoria, y la inducción de una matriz mineralizada, y también como un sellador de conductos. A pesar de ser una técnica poco frecuente en la actualidad, se ha reportado tasas de éxito del 90%. (28) (27)

2.3 Barrera de MTA

Para evitar los problemas asociados con el hidróxido de calcio a largo plazo en los procedimientos de apicoformación, se ha sugerido una técnica no quirúrgica, para la formación alternativa de una barrera apical. En la pasada década, el interés de la apexificación se ha centrado en el uso del MTA, un material introducido por primera vez en 1993, que recibió aprobación de la Administración de Alimentos y Drogas (FDA) en 1998 (29).

La apexificación con MTA está definida como la condensación no quirúrgica de un material biocompatible en el extremo apical del conducto radicular, con el fin de establecer un tope apical que permita la obturación del conducto. Materiales tales como gutapercha, cementos basados en óxido de zinc-eugenol (SuperEBA e IRM), resina compuesta, cemento de ionómero de vidrio, láminas de oro, cemento de policarboxilato, cemento de polivinilo y amalgama, se han usado para sellar las comunicaciones entre el sistema de conductos radiculares y los tejidos periapicales. Desafortunadamente, la mayoría de ellos no cumplen satisfactoriamente algunas características propias de los biomateriales como la biocompatibilidad, la solubilidad, las propiedades de manipulación, tiempo de fraguado y el costo.

En cambio el MTA, que se solidifica como una estructura en menos de tres horas, tiene una resistencia a la compresión igual al material restaurador intermedio (IRM) y SuperEBA. El uso del MTA en la obturación inmediata de los dientes con ápices abiertos

se ha defendido y se ha convertido en el estándar de tratamiento para los dientes con pulpas necróticas y ápices abiertos. Recientes estudios sobre los resultados futuros de los dientes con ápice abierto obturados con MTA en una sola cita demuestran las tasas de cicatrización que oscilan desde 81 hasta 100% (29).

El MTA es un cemento de silicato bioactivo, alcalino por sí mismo, y es capaz de inducir la expresión prematura y mejorada de la actividad de la fosfatasa alcalina para las poblaciones de fibroblastos, lo que puede ayudar en el proceso de mineralización. Es un agente osteoinductivo y cementoinductivo que estimula las células inmunes para liberar citoquinas y factores de crecimiento necesarios para la bioremineralización y la cicatrización de defectos óseos periapicales, la inducción de la regeneración del cemento y el ligamento periodontal (22) (30).

La naturaleza conductora y / o inductiva del MTA podría proporcionar un mecanismo que module el fenotipo osteoblástico, lo cual permite la unión de diversas células, que proliferan, y expresen proteínas que están implicadas en la cementogénesis. Los iones de calcio liberados del MTA pueden inducir una reacción con el fosfato del medio ambiente. Esto conduce a la precipitación de cristales de hidroxiapatita no sólo en la interface dentina-MTA sino también en la superficie de la raíz.

Otros investigadores analizaron la posibilidad de que el MTA pueda liberar principales componentes catiónicos y precipitados que son estructuralmente y químicamente similar a la hidroxiapatita (22).

La naturaleza hidrófila de las partículas de polvo del MTA permite su uso incluso en la presencia de contaminación por humedad, específicamente la sangre, y no afecta su capacidad de sellado, lo cual a menudo es un problema con otros materiales utilizados típicamente en la apicoformación. El MTA no sólo cumple con el requisito ideal de ser bacteriostático, por la formación de una capa intersticial mineralizada, sino que también proporciona un entorno difícil para la supervivencia bacteriana con buena sensibilidad antifúngica (22) (25).

En comparación con el selle apical con el hidróxido de calcio, el MTA tiene una mayor tasa de éxito a largo plazo, ya que evita muchos de los problemas asociados con los

procedimientos de apicoformación tradicionales, incluyendo una reducción en el tiempo del tratamiento y el número de visitas por parte de los pacientes, lo que brinda una oportuna restauración del diente que se traduce en una menor probabilidad de fractura. La obturación total o parcial del sistema de conductos radiculares utilizando MTA es una opción viable, para los dientes que muestran extensa reabsorción radicular, ápices abiertos y casos seleccionados con variaciones anatómicas incluyendo los conducto en C, o la fusión o la geminación. Teniendo en cuenta que esta técnica en cuanto a ápices abiertos solo proporciona un selle apical pero no interfiere en la continuación del desarrollo radicular (28).

La desventaja del MTA, además de su difícil manipulación, es el largo tiempo de fraguado requerido en la aplicación clínica, con un rango reportado de 75 minutos a 72 horas inicialmente y 21 días para una cristalización completa del material. Adicional el MTA puede decolorar los dientes con el tiempo si el material se coloca en el espacio de la cámara pulpar o cerca de la unión cemento-esmalte en dientes anteriores. Otro problema potencial con el material puede ser el retiro después de la colocación y fraguado (22) (24).

A pesar de que la eliminación se puede lograr con la ayuda de los instrumentos ultrasónicos, la obturación en conductos curvos con MTA puede plantear un dilema (22) (24).

2.4 Revascularización

El campo de la endodoncia regenerativa no es un concepto moderno, desde 1961 Nygaard-Ostby et al. planteó la hipótesis de que la laceración de los tejidos apicales, podría promover el sangrado y la formación de un coágulo que sirviera como andamio, apoyando el nuevo crecimiento de tejido pulpar en el conducto radicular, por estimulación de las células de la papila apical (31), que conllevaba a un mayor desarrollo de la raíz (10). Este procedimiento es similar a la inducción de la hemorragia y la formación del coágulo en la cripta ósea después de una exodoncia o cirugía, para iniciar el proceso de cicatrización (31). Möller et al. mostraron que el tejido pulpar necrótico infectado provoca fuertes reacciones inflamatorias en los tejidos apicales. Cooke et al. declararon que los restos de la vaina radicular epitelial de Hertwig, en condiciones favorables, pueden

organizar los tejidos mesodérmicos apicales de la raíz y así potenciar la revascularización. Myers et al. y Nevins et al. demostraron la efectividad de la revascularización mediante la formación del coágulo intraconducto, lo que potenció el desarrollo de la raíz en diversos estudios clínicos.

Este fenómeno, que es diferente de la terapia convencional, tiene el potencial de inducir la formación de tejidos biomineralizados. El objetivo final de este enfoque es la extracción de la pulpa y el reemplazo del tejido pulpar necrótico por uno sano (22)

El tratamiento de estos dientes con desarrollo radicular incompleto se ha convertido en un desafío. La revascularización pulpar es una modalidad de tratamiento para manejar los dientes permanentes con formación radicular incompleta necróticos mediante la desinfección del sistema de conductos radiculares con una pasta triantibiótica o biantibiótica o incluso con hidróxido de calcio, ya que la disminución de la infección y la creación de un ambiente apropiado promueve la regeneración de los tejidos y su posible revitalización permitiendo que el diente continúe con su desarrollo (23). Se sospecha que este proceso se realiza a través del estímulo apropiado a las células de la papila apical residuales, que migran al interior del conducto, conservando un alto potencial de diferenciación (22)

Existe pues un sin número de publicaciones de casos y series de casos publicadas desde el 2001 donde se ha documentado el desarrollo clínico de la raíz con una respuesta nociceptiva favorable ante las pruebas de sensibilidad, pero cabe destacar que también a través de las publicaciones que se han hecho al respecto, se evidencian efectos adversos del procedimiento de revascularización, como la pigmentación coronal producto de los diferentes medicamentos utilizados y la gran variabilidad en los protocolos de atención, lo que impide una estandarización y comparación efectiva de los estudios (23).

2.4.1 Desinfección

Los clínicos se enfrentan a menudo al reto del desbridamiento adecuado de estos conductos, en dientes con indicación para el proceso de revascularización, ya que los dientes cuentan con paredes dentinales débiles, lo que contraindica una instrumentación mecánica y donde se hace necesario el desbridamiento químico (23) (33). Además de establecer que un tejido infectado no podrá llevar a cabo los procesos de reparación y de regeneración a pesar de que las células madre sobreviven a ambientes hostiles (33).

Fouad et al. (2014) observaron en un estudio la diversidad de la microbiota en endodoncia, cuando existía una cavidad normal, en el espacio del conducto necrótico y en el absceso apical, las cuales acompañan generalmente a los procesos de revascularización en dientes inmaduros, y que deberán ser erradicados con la desinfección, esto concuerda con Gomes y Almeida et al. (2014) donde se compararon dos medicamentos intraconductos diferentes y la prevalencia de bacterias presentes después de los protocolos de desinfección (34) (Fig. 2.4.1)

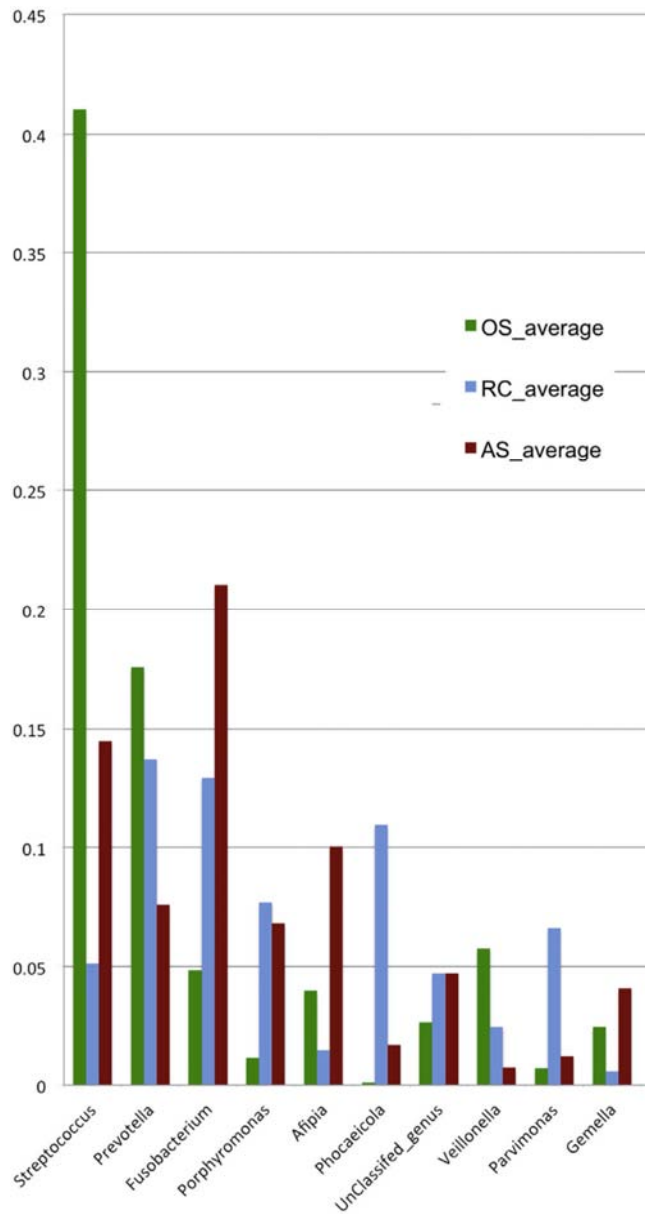


Figura 2.4.1

Porcentaje de géneros microbianos abundantes en 3 sitios del mismo paciente (OS: cavidad normal, RC: conducto necrótico y AS: absceso apical agudo). ($N= 23$ muestras en total de 8 pacientes) que produjeron 231.519 secuencias. Cada muestra tenía una media de 70 géneros bacterianos (rango 26-132).

(Modificado de Hsiao WW, Li KL, Liu Z, et al. transformación microbiana de la microbiota oral normal a las infecciones agudas de endodoncia BMC Genomics 2012; 13:... 345 Publicado por BioMed Central) (25)

La desinfección química deberá de hacerse mediante el uso de medicamentos intraconductos e irrigantes, y estos deben ser seleccionados con base a sus propiedades bactericidas/bacteriostático y su capacidad de promover la supervivencia y proliferación de las células madre (20) (25) (34).

2.4.1.1 Irrigación

El hipoclorito de sodio (NaOCl) sigue siendo el irrigante ideal ya que posee una eficacia bacteriana, una capacidad adecuada para la disolución del tejido y lubricación de los instrumentos, lo cual constituye al hipoclorito como el irrigante ideal en dientes inmaduros.

Estudios recientes han evaluado la supervivencia de las células madre de la papila apical (SCAPS) bajo irrigación con diferentes sustancias. Lo que concluyo que el uso de 6% de NaOCl tenía un efecto perjudicial para las SCAPS, en contraposición el EDTA al 17% promovía una mayor supervivencia de estas células madre, indicando pues un efecto perjudicial del hipoclorito de sodio a concentraciones mayores de 1.5% en la supervivencia de las células madre y la diferenciación celular, alteración de la composición química de la dentina, la desnaturalización de los factores de crecimiento y las moléculas de unión (35) (25) como se muestra en la (Figura 2.4.1.1)

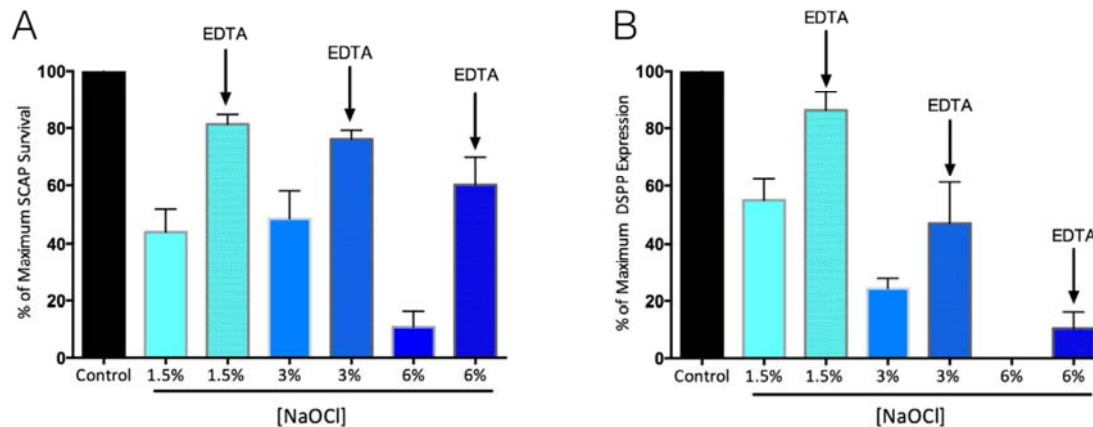


Figura 2.4.1.1

NaOCl disminuye la supervivencia SCAPS y diferenciación de una manera dependiente de la concentración. En modelos experimentales se realizó el protocolo de irrigación y se realizó la siembra de SCAPS y se cultivaron in vitro por 7 días. El porcentaje de células viables se determinó por un ensayo de luminiscencia (CellTiter-Glo; Promega, Madison, WI). (A) La disminución de la supervivencia de SCAPS depende de la concentración de NaOCl y se invirtió parcialmente por una irrigación final con 17% de EDTA. Además, se utilizó la reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa cuantitativa en tiempo real (qRT-PCR) para determinar la expresión del marcador la sialoproteína dentinal (DSPP). EL NaOCl disminuye la expresión DSPP de una manera dependiente de la concentración con ninguna expresión observado en el grupo tratado con 6%. (B) Además, EDTA revirtió parcialmente el efecto negativo del NaOCl en la expresión DSPP. Los datos se presentan por el porcentaje del efecto máximo observado en el grupo de tratamiento-EDTA solo (control) (Versión modificada de los datos publicados de Martin DE, De Almeida JF, Henry MA, et al. efecto dependiente de la concentración del hipoclorito de sodio en la supervivencia y diferenciación de las células madre de la papila apical. J Endod 2014; 40:51-5.) (35).

Se ha demostrado que el EDTA al 17% que actúa como un quelante, es capaz de retirar el calcio de la red cristalina del fosfato de calcio inorgánico, creando una zona de desmineralización superficial de la dentina, eliminando la capa de smear layer y logrando así, que los túbulos dentinales queden abiertos. Solubiliza diferentes factores de crecimiento inmersos en la dentina tales como el Factor de Crecimiento Transformante β (TGF- β), la Proteína Morfogénica Ósea 2 (BMP-2) y los factores angiogénicos como el Factor de Crecimiento Derivado de las Plaquetas (PDGF), el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y el Factor de Crecimiento Fibroblástico 2 (FGF2), los cuales

se sabe que tienen un efecto potencializador sobre la diferenciación y proliferación de las células madre mesenquimales, que se diferencian hacia seudodontoblastos, además de promover la supervivencia de estas y su adhesión a dentina (23) (24) (33) (36).

2.4.1.2 Medicación intraconducto

Con el auge de la revascularización de los dientes permanentes inmaduros, se consideró la desinfección del conducto radicular como un procedimiento de vital importancia (27), varios autores han considerado la pasta triantibiótica como el mejor método de desinfección. La pasta triantibiótica con eficacia se ha demostrado primero en animales, luego en reporte de casos en humanos. Hoshino et al. introducen en 1998 (11) una combinación de 3 antibióticos: minociclina, ciprofloxacina y metronidazol, que denominaron pasta triantibiótica (3Mix) (19) (25) (34). Varios estudios informaron resultados prometedores cuando se utilizó 3Mix en dientes necróticos con formación radicular incompleta.

Se ha demostrado que 0.39 g/ml de 3Mix producen un 90% de viabilidad de las células madre (37). Esta concentración fue capaz de reducir significativamente el número de bacterias. Actualmente en estudios publicados no existe un consenso en cuanto a la cantidad de antibiótico utilizado en la pasta triantibiótica, al parecer se utilizan concentraciones excesivas, lo que puede tener un efecto deletéreo sobre las células madre restantes y entorpecer la cicatrización y regeneración de los tejidos. Por lo tanto, no se puede producir un patrón de diferenciación esperado (por ejemplo, la diferenciación de odontoblastos y formación de dentina). 3Mix ha demostrado ser citotóxico gracias a la combinación de citotoxicidades individuales, aunque requiera estudios in vivo, y no in vitro. Una de las razones para su citotoxicidad podría ser el bajo pH (pH = 4,0 a 4,6) de 3Mix (37).

El clorhidrato de minociclina y clorhidrato de ciprofloxacina se utilizan generalmente para la preparación de 3Mix. La liberación de los iones de hidrógeno de los grupos de HCl da lugar a una condición ácida que era una condición desfavorable para el cultivo celular. Además, el pH bajo le permitió a más agentes permanecer soluble y disponible para la absorción en las células, por lo que el fármaco retenido fue capaz de desarrollar más

citotoxicidad. Desde este punto de vista, el efecto citotóxico de 3Mix por su condición ácida debe ser una preocupación. Otros antibióticos que tienen un pH neutro se debe elegir como un sustituto de la minociclina y la ciprofloxacina. Sin embargo, los antibióticos alternativos deben ofrecer intensamente una eficacia antibacteriana potente (19).

Se ha determinado que la mayoría de bacterias en el interior del conducto son anaerobios estrictos, por lo tanto el metronidazol se convierte en su primera elección, a su vez la ciprofloxacina es un inhibidor de la ADN girasa y es un antibiótico potente contra los patógenos Gram-negativos y con actividad limitada contra los patógenos Gram positivos (38). Por lo tanto, la combinación de 3 fármacos proporciona un espectro antibacteriano más amplio que solo un único fármaco. Sin embargo, el equilibrio entre el efecto citotóxico y eficacia antibacteriana es importante y todavía necesita más estudio. (19).

Las desventajas de esta mezcla no son bien conocidas, ya que dentro de los componentes de la pasta triantibiótica se encuentra la minociclina que es un derivado de las tetraciclinas, y que como es bien conocido puede inducir la decoloración de los dientes después de un largo periodo de tiempo (7). Kim et al. sugirieron que Ledermix ((Haupt Pharma GmbH, Wolfratshausen, Germany) puede causar decoloración por la demeclociclina. Sin embargo ha habido preocupación por la minociclina de la pasta triantibiótica y se han buscado sustitutos para este medicamento, ya que en diferentes reportes de casos después de la colocación de la pasta triantibiótica se ha evidenciado un cambio de color del diente hacia tonos azul-grisáceo a las 6 semanas de colocada esta pasta (39).

Kim et al. utilizaron perborato de sodio mezclado con agua destilada con 3 recambios en 7 días para retirar la pigmentación de la corona del diente, aunque el color del diente nunca mejoro totalmente ya que continúo de color blanco azulado (40) (41). Kim et al. en su estudio *in vitro* utilizo un grupo de dientes con pasta triantibiótica y otros con cada componente de la pasta: un grupo con ciprofloxacina, otro con metronidazol y otro con minociclina, determinó que la minociclina era la causa de la decoloración del diente. La minociclina es un derivado semisintético de la tetraciclina y es eficaz contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, se une a iones calcio por medio de la quelación y

forma un complejo insoluble incorporado dentro de la matriz dentinal lo que causa la decoloración de esta por una reacción foto iniciada. Así mismo se determinó que posibles sustitutos de la minociclina podrían ser el cefaclor y la fosfomicina en términos de su eficacia antibiótica. Kim et al. determinó que la minociclina si ha de utilizarse como medicamento en la pasta triantibiótica debe limitarse al conducto radicular debido al riesgo potencial de decoloración de los dientes, a pesar del éxito biológico (40) (41).

Algunos autores sugieren la eliminación de la minociclina y mantener sólo metronidazol y ciprofloxacina en la pasta antibiótica (bipasta) (29).

Teniendo en cuenta la problemática actual en cuanto la concentración de los medicamentos que componen la pasta triantibiótica, siendo recomendable una concentración de 1 mg/ml (23). Abordando esta cuestión un estudio reciente comparó el efecto de la concentración de la pasta triantibiótica, bipasta y el hidróxido de calcio sobre la supervivencia de las células madre, dando como resultado que el hidróxido de calcio no representa efectos nocivos en la supervivencia de las células madre, y la utilización adecuada de las concentraciones mínimas de la pasta triantibiótica también resulto en una disminución de la toxicidad celular de la pasta triantibiótica, siendo todavía eficaces contra los patógenos endodónticos (42) (Fig 2.4.1.2)

Estos medicamentos intraconductos generalmente son aplicados a longitud del conducto radicular por varias semanas o al mes, entrando en contacto con las células madre de la papila apical, dando lugar a toxicidades y disminuyendo el número de células madre mesenquimales viables. También el medicamento intraconducto residual en las paredes del conducto puede interactuar con las células madre producto del coágulo de sangre que se ha estimulado, para lo cual es importante no solo realizar una adecuada medición de estos medicamentos, sino también se requieren más estudio de viabilidad celular (42).

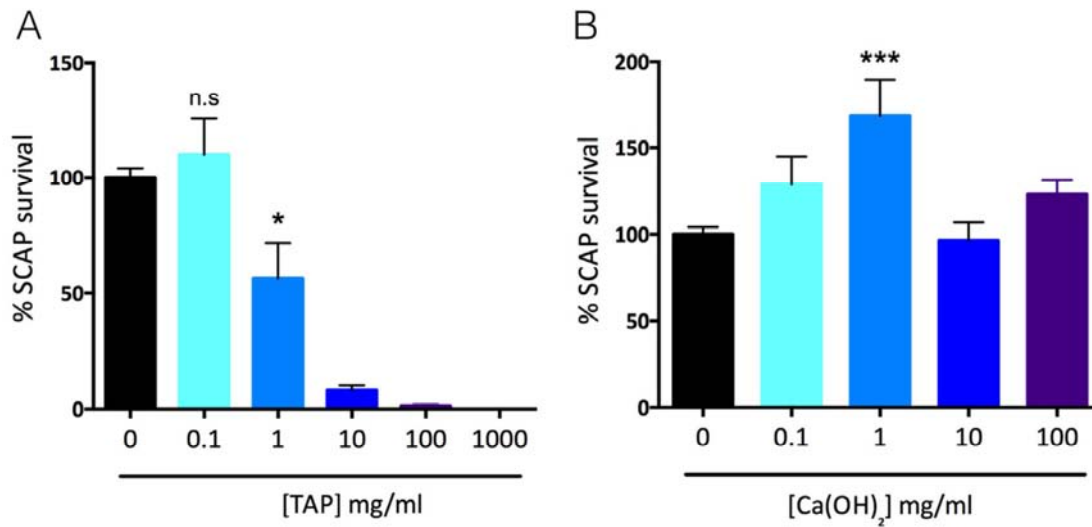


Figura 2.4.1.2

Medicamentos intraconductos de uso común en los procesos de revascularización tienen efectos opuestos sobre la supervivencia de las SCAPS. Aproximadamente 600.000 células se sembraron en una placa de 24 pocillos y se trataron con los medios de cultivo sólo o progresistas 1:10 diluciones en serie desde el 1000-mg / ml de stock de TAP o Ca (OH)₂ (Ultracal; South Jordan, UT). El recuento de células se realizó en el día 3 o al 80% de confluencia usando un método automatizado de detección de colorante azul de tripano ($n = 6-10$, los experimentos se realizaron por triplicado).

(A) TAP disminución de la viabilidad de las SCAPS de una manera dependiente de la concentración con $LC_{50} = 1$ mg / mL y no SCAPS viable a la concentración requerida para una consistencia pastosa (1,000 mg / ml). (B) En contraste, Ca (OH)₂ no tiene ningún efecto perjudicial sobre la supervivencia SCAPS con un aumento de la proliferación observada a la concentración de 1 mg / ml. (Modificado de Ruparel NB, Teixeira FB, Ferraz CC, et al. efecto directo de los medicamentos intraconductos en la supervivencia de las células madre de la papila apical J Endod 2012; 38: 1372-5) (42)

Alternativamente, la pasta triantibiótica podría utilizarse como medicación primaria mientras la concentración del fármaco respete su rango terapéutico (0.01–0.1 mg/mL) y continuar consecutivamente con hidróxido de calcio, el cual ha demostrado mayor viabilidad de las células madre. Este equilibrio entre la desinfección y la viabilidad celular merece una mayor investigación (23).

2.4.2 Procedimiento de revascularización

El protocolo típico de revascularización (30) para un diente inmaduro, con diagnóstico de periodontitis apical, se basaba en tener un acceso e irrigación, ya sea con NaOCl al 5% y 3% H₂O₂ o solo NaOCl 5.25% y Peridex TM (Procter & Gamble, Cincinnati, OH). Un agente antimicrobiano (ya sea un antibiótico tal como el metronidazol y / o ciprofloxacina, Ciprofloxacina-metronidazol minociclina, o hidróxido de calcio) con los que se obtura el sistema de conductos radiculares seguido del selle de la cavidad de acceso con un ionómero de vidrio. En ausencia de síntomas, el diente debe ser re-instrumentado e irritar los tejidos periapicales hasta que el sangrado se inicie y se forme un coágulo de sangre. A los 15 minutos, El MTA se debe colocar sobre el coágulo de sangre y sellar el acceso con un ionómero de vidrio (22).

A pesar de la presencia continua del engrosamiento de las paredes dentinales y el cierre apical posterior, hay muy poco o ningún conocimiento sobre la naturaleza celular de los tejidos formados dentro del sistema de conductos radiculares. Es posible que algunas células de la pulpa vital permanezcan en el extremo apical del conducto de la raíz. La eliminación de las bacterias en la pulpa coronal permite que las células de la pulpa apical queden vitales y proliferen en el espacio abierto, lo que se conoce como el procedimiento de revascularización habitual. La razón es que si se proporciona una matriz de tejido estéril en la que las nuevas células puedan crecer, la vitalidad pulpar puede ser restablecida. Hay una creciente evidencia que demuestra que la técnica de revascularización con el coágulo de sangre si se realiza correctamente, sirve como un andamio de proteínas y permite el crecimiento interno tridimensional del tejido, pero hasta ahora los datos en humanos se limitan a unos pocos informes de casos (24), además que se ha establecido que al irritar el tejido apical con la sobreinstrumentación, las células que se instauran son de origen del cemento, ligamento periodontal y hueso y no de origen pulpar propiamente dicho (43).

En muchos casos reportados, el MTA ha sido colocado sobre el coágulo de sangre con el fin de aislar el conducto de la superficie externa del diente. La colocación de MTA crea una barrera dura en su punto de contacto con el coágulo de sangre y, además, proporciona moléculas de señalización para el crecimiento de las células madre.

Andreasen et al. reportaron una tasa de éxito de la revascularización del 34% en un estudio prospectivo que incluyó 94 dientes inmaduros reimplantados. Resultados similares han sido encontrados por otros investigadores (24).

El actual protocolo se basa en diferentes estudios y en la compilación de serie de casos y reportes de casos sobre la revascularización dando como resultado un protocolo que podría ser instaurado por el clínico (23):

1. El consentimiento informado, incluyendo la explicación de los riesgos y los tratamientos alternativos.
2. Tras cerciorarse de la anestesia local adecuada, se obtiene el aislamiento con tela de caucho.
3. Se determina el acceso a los sistemas de conductos radiculares, y la longitud de trabajo (radiografía de conductometría con la lima a 1 mm del extremo de la raíz).
4. Los sistemas de conductos radicular se irrigan lentamente primero con NaOCl al 1,5% (20 ml / durante 5 minutos) y luego se irrigan con EDTA al 17% (20 ml / durante 5 minutos), con la aguja de irrigación posicionada alrededor de 1 mm desde el extremo de la raíz.
5. Los conductos se secan con puntas de papel.
6. se coloca como medicación intraconducto el hidróxido de calcio o pasta antibiótica a una concentración no mayor de 100µg/ml.
7. Se realiza la colocación de restauración temporal

La (segunda) visita será entre (2-4 semanas después de la primera visita), allí se realizara lo siguiente:

1. El examen clínico se realiza primero para asegurar que no haya moderada a severa sensibilidad a la palpación y la percusión. Si se observa tal sensibilidad o un tracto o inflamación, a continuación, se repite el tratamiento previsto en la primera visita. En este punto, el clínico puede optar por utilizar pasta triantibiótica (a no más de 1 mg de cada fármaco / ml).
2. Tras cerciorarse de la anestesia local adecuada con mepivacaína al 3% (sin epinefrina), se obtiene el aislamiento con tela de caucho.
3. El acceso a los sistemas de conductos radiculares; el medicamento intracanal se elimina mediante irrigación con EDTA al 17% (30 ml / durante 10 minutos).
4. Los conductos se secan con puntas de papel.
5. El sangrado es inducido por la rotación de una lima K-file tamaño # 25 a 2 mm más allá del foramen apical con el objetivo de que todo el conducto se llene de sangre hasta la unión cemento-esmalte.
6. Una vez que se forma un coágulo de sangre, se puede colocar Collaplug® (Zimmer Dental Inc, Warsaw, IN) en la parte superior del coágulo de sangre que sirve como una matriz interna para la colocación de aproximadamente 3 mm de MTA blanco (Dentsply, Tulsa, Okay).
7. Se coloca (3-4 mm) de capa de ionómero de vidrio (por ejemplo, Fuji IX; GC América, Chicago, IL, u otros) y se hace fluir suavemente sobre el MTA con fotocurado durante 40 segundos.
8. Una restauración de resina compuesta reforzada (por ejemplo, 100-Z, 3M, St Paul, MN, u otros) se coloca sobre el ionómero de vidrio.
9. El caso debe ser objeto de seguimiento a los 3 meses, 6 meses, y anualmente después de eso para un total de 4 años.

2.5 Endodoncia regenerativa

Los procedimientos de la endodoncia regenerativa pueden ser definidos como procesos con base biológica, diseñados específicamente para reemplazar estructuras o tejidos enfermos o ausentes, incluyendo la dentina, el cemento y las células del complejo pulpodentinal, con los tejidos, preferiblemente del mismo origen, restableciendo las funciones fisiológicas normales (40).

La endodoncia regenerativa podría ser considerada como dos entidades, una del complejo dentina-pulpa, lo cual se refiere a la preservación de la vitalidad pulpar y el recubrimiento pulpar. Y la otra entidad sería la regeneración de la pulpa dental (43).

Zander et al. en 1939 fue de los primeros en publicar estudios sobre la utilización del hidróxido de calcio para mantener la vitalidad pulpar en un recubrimiento pulpar. Desde allí se ha desarrollado un sin número de ensayos clínicos determinando el éxito para mantener la vitalidad pulpar en un 72,9% para el recubrimiento pulpar y el 99,4% para la pulpotomía parcial, aunque en estudios más recientes, estas tasas de éxito han disminuido sustancialmente (43).

La remodelación de la dentina no se produce, ya que el tejido nunca será reemplazo por tejido nuevo como si ocurre con el hueso. La dentina es penetrada de forma única por los procesos odontoblásticos que forman una unión íntima por debajo de la empalizada odontoblástica formando una capa protectora de la pulpa, pero que también puede ser dañada con procesos como la caries, trauma o procesos iatrogénicos generando una exposición pulpar. De verse afectada la dentina, esta será reemplaza por un tejido reparador como la dentina terciaria que bien puede ser reaccionaria o dentina reparativa en función del odontoblasto que la forme (43) (44).

Se ha determinado entonces que los materiales utilizados para el recubrimiento pulpar, los cuales inicialmente inducen una irritación de los tejidos, provocan un proceso de reparación y formación de minerales considerándose una reparación y no regeneración del tejido (43).

Durante los últimos 15 años, ha habido un enorme aumento en los materiales, instrumentos, medicamentos, y el conocimiento de los campos de ingeniería de tejidos, que puede ser aplicada a lo que se conoce como regeneración del complejo pulpo-dentinal. El material ideal para la regeneración de la pulpa deberá ser capaz de resistir la microfiltración a largo plazo, fácil de manejar, radiopaco, no absorbible, no tóxico, no corrosivo, no carcinogénico, no pigmentar, actuar ante la humedad, impermeable, antibacteriano, antifúngico, biocompatible, y capaz de estimular el tejido pulpar restante para volver a un estado sano y promover la formación de tejido duro y blando en el diente (24) (44). La ingeniería de tejidos investiga actualmente cual podría ser ese material ideal.

Este enfoque terapéutico de los dientes con ápice abierto y necrosis pulpar desarrollada por la ingeniería de tejidos, busca regenerar y no reparar los tejidos perdidos o dañados in vitro (43) aunque cabe aclarar que el término de regeneración no es el adecuado para las técnicas terapéuticas actuales como el recubrimiento pulpar y demás, ya que no se forma un tejido nuevo con funciones normales, más bien se debe considerar que es una estrategia terapéutica reparativa. Sin embargo al hablar de la revascularización en función de generar un tejido biológico dentro del espacio del conducto radicular, entonces se podría mencionar que la técnica de revascularización posee estrategias regeneradoras, pero que todavía son necesarios más estudios y modelos experimentales para determinar la verdadera naturaleza del tejido regenerado (43).

Los elementos clave que participan en la endodoncia regenerativa son las células madre, que pueden diferenciarse en células implicadas en el desarrollo radicular, los factores de crecimiento, que inducen la proliferación y diferenciación celular, y los andamios como una matriz extracelular, para promover la migración y crecimiento celular (Fig 2.5) (25) (27) (41) (45) (46) (47).



Figura 2.5 Factores clave para la regeneración tisular (25)

2.5.1 Células madre

La medicina regenerativa resuelve problemas médicos usando células vivas como materiales de ingeniería. Una fuente celular apropiada es aquella que pueda diferenciarse en los tipos celulares requeridos, que tenga capacidad de proliferación, conveniente para la implantación, y autógena con el fin de evitar reacciones inmunológicas.

Las células más valiosas para la medicina regenerativa son las células madre, que se puede dividir de forma continua, producir células madre hija, y generar cualquier tejido (41). Todos los tejidos se originan a partir de células madre, las cuales fueron obtenidas por primera vez en tejido pulpar de terceros molares extraídos, por Gronthos et al. En principio, los procedimientos de endodoncia regenerativa utilizan el potencial de las poblaciones de las células progenitoras de la pulpa embrionaria y adulta para reconstruir las estructuras dentales (27) (41). Recientemente, nuevas poblaciones de células madre de la pulpa dental multi-potentes (DPSCs) aisladas de tejido pulpar dental adulto, demostraron una capacidad de auto-replicación y la capacidad de producir el complejo dentino-pulpar, regenerar los tejidos, y proliferan a tasas más altas en comparación con las de la médula ósea. Miura et al. presentaron otra fuente de células multipotentes en los dientes deciduos exfoliados, capaces de diferenciarse en una variedad de tipos de células incluyendo células neuronales, adipocitos, y odontoblastos. Más recientemente,

Kerkis et al. aislaron células más inmaduras y homogéneas que las observadas por Miura et al. y las denominaron células madre inmaduras de la pulpa dental (hDPSCs), aumentando la posibilidad de usar las células madre de la pulpa dental para la ingeniería de tejidos dentales (41).

Después de la desinfección del conducto y bajo la influencia de las células epiteliales que sobrevivieron de la vaina radicular de Hertwig, las células madre de la papila apical (SCAPS) se diferencian en odontoblastos primarios con el fin de completar la formación de la raíz. Otros dos posibles mecanismos de desarrollo de la raíz se pueden atribuir a las células madre del ligamento periodontal o de la pulpa (24) (27) (41) (45).

2.5.2 Andamio físico

El segundo componente de la ingeniería de tejidos es un andamio físico adecuada que puede controlar la diferenciación de las células madre, unirse selectivamente y localizar las células, contienen factores de crecimiento, y se someten a la biodegradación en el tiempo. Proporciona un microambiente fisicoquímico y biológico tridimensional para la migración celular, adhesión, crecimiento y diferenciación (48), este andamio debe ser eficaz en el transporte de nutrientes, oxígeno y demás que contribuyan a la proliferación, migración y diferenciación celular. Debe ser degradado y favorecer paulatinamente el reemplazo de este para la regeneración del tejido.

Gracias a los nuevos andamios biodegradables en ingeniería tisular se ha podido vincular diferentes células madre para regenerar el tejido pulpar. Estos andamios sembrados con células madre han demostrado gran validez en la regeneración pulpar (24) (45) (49).

Se han descrito numerosos andamios sintéticos dentro de la ingeniería de tejidos, tales como el ácido poliglicólico (PGA) y ácido poliláctico (PLA) que son poliésteres biodegradables que ayudan a los procesos de adhesión y proliferación ayudando a la formación de estructuras en la revascularización (44).

La fibrina también se ha propuesto como andamio ideal ya que se le puede asociar con la coagulación de la sangre y es útil en procesos de adhesión, sin embargo estructuralmente es lábil similar al colágeno (44)

2.5.2.1 Plasma rico en plaquetas

El plasma rico en plaquetas (PRP) se ha descrito como un concentrado de plaquetas, las cuales al activarse liberan diversos factores de crecimiento y continúan por días sintetizando factores. Lo que ha sugerido que el PRP puede promover la reparación de los tejidos, mejorar la angiogénesis en las heridas, mediante sus factores bioactivos puede participar en el anabolismo, catabolismo y respuesta proinflamatoria, concediéndole al PRP un gran potencial para la ingeniería de tejidos (50).

Desde 1990 se han realizado diversas investigaciones sobre el PRP y su utilización en la clínica para regeneración de tejido óseo, cicatrización de tejidos blandos, etc (50).

Una serie de estudios, ha logrado cierto éxito en la revascularización con el plasma rico en plaquetas, que fue utilizado por primera vez en 1997 por Whitman y cols, para la endodoncia regenerativa; el cual cumple muchos de los criterios de un andamio ideal. Se ha informado que la formación de hueso aumenta entre 8-10% cuando se añade plasma rico en plaquetas (50).

El plasma rico en plaquetas contiene varios factores de crecimiento, incluyendo el factor de crecimiento transformante beta (TGF- β), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), factor de crecimiento similar a la insulina (IGF), y el factor de crecimiento epidérmico (EGF), que apoyan el crecimiento celular, la diferenciación, y la migración de DPSCs (50). Estimula la producción de colágeno, recluta otras células al sitio de la lesión, produce agentes antiinflamatorios, da inicio al crecimiento vascular, induce la diferenciación celular, controla la respuesta inflamatoria local, mejora la cicatrización de los tejidos y puede ser un buen suplemento para la regeneración dentino pulpar basada en células, ya que ayuda a la deposición de tejido duro para la formación radicular y el selle apical (51). El PRP ha demostrado que puede mejorar la cicatrización de heridas si el tejido no está completamente destruido (50).

El plasma rico en plaquetas puede ser derivado de la propia sangre del paciente, es fácil de preparar, y es capaz de formar una matriz de fibrina de 3 dimensiones (que actúa

como un andamio). El coágulo de PRP se compone de fibrina, fibronectina, vitronectina, las cuales son moléculas de adhesión celular necesarias para la migración (47). El PRP se coagula endógenamente y empieza la secreción de los diversos factores de crecimiento por parte de las plaquetas, dentro de los primeros 10 minutos secreta el 70% de los factores almacenados y alcanza el 100% durante la primera hora, y por 8 días se secretan cantidades adicionales (47), lo que permite la reparación y regeneración de tejidos. Se ha considerado que la trombina autóloga, el colágeno en el tejido apical y la inducción del sangrado proporciona factores de coagulación endógenos apropiados para la activación y esto hace que los factores de crecimiento se liberen lentamente (47). Por lo tanto, el plasma rico en plaquetas ha surgido como un andamio potencial para el procedimiento de endodoncia regenerativa (50) (51). El uso de plasma rico en plaquetas como un andamio ha dado lugar a respuestas positivas a las pruebas de frío y eléctricas de la pulpa, genera un engrosamiento significativo de las paredes dentinales, el alargamiento de la raíz, y el cierre apical (51).

Torabinejad et al. reportó un análisis histológico del tejido extraído de un diente que había sido tratado con revascularización con plasma rico en plaquetas, y en el cual encontró un tejido celular conjuntivo fibroso con fibroblastos y vasos sanguíneos, también se observó algunos linfocitos y células gigantes multinucleadas. El tejido que se ha producido en el conducto es el resultado de la presencia del plasma rico en plaquetas. Como se ha demostrado por Lovelace et al., el tejido periapical contiene una mayor concentración de células madre en comparación con la sangre de la circulación sistémica. Es probable que el PRP facilitara la migración de las células madre de los tejidos periapicales al interior del conducto (51).

T. Bezgin en el 2013 reportaron casos clínicos de revascularización mediante el uso de plasma rico en plaquetas con resultados favorables en cuanto al selle apical. Riccucci et al. reportaron un análisis histológico de la revascularización mediante PRP donde se encontró tejido mineralizado (tejido cementoide/osteoides) en algunas zonas del conducto radicular, el cual puede ser causado por la estimulación de las células madre del PDL, también se observó zonas de tejido conectivo fibroso, números espacios irregulares que contenían tejido conjuntivo y vasos sanguíneos vitales. No se observaron células parecidas al odontoblasto con sus procesos citoplasmáticos y la dentina del conducto estaba fuertemente unida al tejido mineralizado. En el área del foramen apical se

encontró una capa de tejido similar al cemento y un tejido fibroso con fibroblastos fusiformes que llenaban el foramen apical. En el ápice no se observaron células de la vaina radicular de Hertwig (31).

Zhang et al. (2014) en su estudio comparativo entre la utilización de PRP y el coágulo de sangre encontraron que no existía una diferencia significativa entre la utilización de diferente andamios, aunque se evidencia un porcentaje más alto para el PRP (Tabla 1)

Histologic Analysis of Regenerative Endodontic Treatment in PRP and Blood Clot Groups

Histologic manifestations	PRP (%)	Blood clot (%)	<i>P</i> value
Apical closure	9/12 (75.00)	11/17 (64.71)	.69
New hard tissue formation on the canal wall	11/12 (91.67)	13/17 (76.47)	.37
Pulplike tissue formation in the canal space	11/12 (91.67)	15/17 (88.24)	1.00

Tabla 1. Tomado de : Zhang D.D, Chen X, Bao Z-F, Chen M, Ding Z-J and Zhong M.

Histologic Comparison between Platelet-rich Plasma and Blood Clot in Regenerative Endodontic Treatment: An Animal Study. (J Endod 2014;40:1388– 1393) (47)

2.5.2.2 Soporte de colágeno

El colágeno pertenece a los polímeros naturales, es una proteína importante en el cuerpo humano compuesto de fibras insolubles y un componente importante de la matriz dentinal. Ayuda en el proceso de calcificación, pero no induce la calcificación por sí mismo (52).

A través del tiempo se han utilizado diferentes andamios, como los poliméricos que es similar a las suturas biodegradables, y que han demostrado éxito en la regeneración. También se han utilizado andamios de colágeno tipo I, que es un importante componente fibroso del tejido pulpar, este tipo de andamios también han demostrado gran éxito en experimentos con ratones. Estos hidrogeles formados a partir del colágeno se han

utilizado en estudios in vitro como medio para entregar diferentes factores de crecimiento y moléculas a las células de la pulpa dental en modelos animales, con cierto éxito en la regeneración de tejidos (44) (27) (45) (49).

Sin embargo, sigue siendo incierto el tipo de material de soporte (es decir, colágeno, polímero, o fosfato de calcio) que proporcionará el sustrato óptimo para la proliferación del tejido pulpar maduro, debido a que en estudios previos se han sembrado células sobre los andamios, en lugar de medir la capacidad de las células dentro del tejido pulpar para proliferar en los andamios (27) (45).

La Administración de Drogas y Alimentos de Estados Unidos FDA ha aprobado los andamios de colágeno y el polímero para algunos tratamientos médicos. Lo que sugiere que estos andamios pueden ser aprobados para la regeneración en endodoncia en el futuro.

En los resultados de un estudio (49) se observó la proliferación de las células de la pulpa dental con un fenotipo fibroblástico lo cual era evidente en los diferentes andamios. La tasa media de la proliferación de células en la pulpa dental madura era 1.305 células por día en el andamio de fosfato de calcio en comparación con 7.195 (un aumento de la tasa de 551%) en los andamios de colágeno y 13.885 (un aumento de la tasa de 1,064%) en el andamio de polímero. La razón más probable para la diferencia en la tasa de proliferación de células de la pulpa dental madura son las diferentes composiciones químicas de los andamios. Los andamios de polímero parecen ser el medio más óptimo para la proliferación de células de la pulpa dental madura, lo que concuerda con los estudios que han medido la vitalidad de las células madre de los dientes humanos exfoliadas sembradas en estos andamios (49). Aunque los andamios de colágeno han tenido éxito también.

Los andamios de colágeno poseen adecuadas propiedades que favorecen la regeneración endodóntica, entre ellos la biocompatibilidad, fácil manipulación, el tiempo adecuado de degradación y su estructura tridimensional que lo hace un andamio de buenas condiciones (53). A pesar de que el colágeno está en el medio extracelular y es altamente compatible con las células y tejidos, se ha evidenciado una desventaja y es que el hidrogel de colágeno al ser tan lábil no facilita su manejo y si se le realiza a este hidrogel procesos como entrecruzamiento químico disminuye su citocompatibilidad (44).

Una gran ventaja adicional de los hidrogeles de colágeno es que además de ser compatibles con las células progenitoras mesenquimales, también se han utilizado como sistemas de almacenamiento y entrega de moléculas anti-inflamatorias (IL-10, heparina, etc) que serían útiles en procesos de inflamación en la regeneración pulpar (44).

Los andamios o soportes de colágeno generalmente son de origen bovino, los cual se reabsorben aproximadamente en 60 días, permitiendo la organización celular y la formación de una estructura tridimensional dentro del conducto (53).

El promedio en dimensión requerido para este tipo de andamios es de 4.5 x 4.2 mm y el tamaño de sus poros deben ser de 100 a 200 μm , para facilitar la migración y la adherencia celular dentro de toda la red de colágeno (53) favoreciendo la formación de dentina (52).

En el 2010 Sahng G. Kim, et al. Reportaron dos casos clínicos de revascularización con matriz artificial de colágeno (collacote ®) en dientes maduros con necrosis pulpar y periodontitis apical asintomática. Aproximadamente un año después los pacientes se encontraban asintomáticos, la prueba de sensibilidad al frio y eléctrica eran normales, las medidas de profundidad al sondaje se encontraban dentro de los límites de normalidad y finalmente el diente mostró una resolución completa de la radiolucidez apical con el adelgazamiento del conducto radicular en el tercio apical.

Zhang et al experimento la siembra de células madre DPSC sobre soportes de colágeno, dando como resultado que las células madre poseían mejor adhesión a la superficie si el soporte de colágeno era colocado, las células pueden crecer y proliferar fácilmente, llenar los poros con tejido conectivo y sintetizar tejido duro mineralizado.

En 2013 Bustos y Fontanilla et al. describieron el proceso de fabricación de soportes de colágeno tipo I, utilizados en este estudio. Donde tomaron una suspensión de tejido bovino (5 mg/ml) en 0.1 M de ácido acético, esta preparación se congeló a -12 °C y se liofilizó para producir colágeno multidireccional. El volumen restante se utilizó para realizar soportes de colágeno unidireccional. Basados en la técnica descrita para la producción de cilindros con poros unidireccionales, se tomaron moldes similares a los utilizados para la producción de soportes multidireccionales para producir moldes de

soportes de colágeno unidireccional. Se vierte la suspensión de colágeno ya realizada anteriormente, el extremo libre se enfría por inmersión en nitrógeno líquido. Se obtienen láminas de colágeno (100 x 100 mm) liofilizado. La orientación de los soportes tanto unidireccionales como multidireccionales fue reticulado con glutaraldehído (0,02% por 24 horas, posteriormente se lavó con agua hasta que no hubo residuos de entrecruzamiento, se liofilizaron de nuevo y se esterilizaron con óxido de etileno y se almacenaron 48 horas para su uso (54).

Además de la fabricación de estos soportes por el grupo de Ingeniería de Tejidos de la Universidad Nacional de Colombia dirigido por la doctora Martha Fontanilla, ellos encontraron que la proliferación celular era significativamente mayor ($p < 0.05$) en el soporte multidireccional que en el unidireccional, y las células además se orientan alargadas y alineadas en los soportes unidireccionales lo que favorece la mayor secreción de factores, favoreciendo el proceso de cicatrización (54).

2.5.3 Factores de crecimiento

El tercer componente de la ingeniería de tejidos es la señalización por moléculas bioactivas que promueven la migración, proliferación, y diferenciación celular (27) (45) Es probable que la fuente de células y las moléculas de señalización disponibles cumplan un papel importante en la orientación del desarrollo de las células del tejido en regeneración. Estos factores de crecimiento son moléculas bioactivas o solubles tipo proteínas que se unen a las receptores celulares e inducen la proliferación y diferenciación. También proporcionan señales quimiotácticas para el reclutamiento de células progenitoras en el sitio de la lesión (55).

Diversos factores de crecimiento y proteínas de matriz extracelular que son expresados y secretados normalmente durante la dentinogénesis primaria y secundaria, aparentemente entran a desempeñar un papel fundamental en la reparación y en la regeneración dentinal (48).

Estos factores de crecimiento tienen una vida media corta en soluciones acuosas a 37° C, lo que se convierte en un desafío, la utilización de factores de crecimiento, ya que se requiere sistema de moléculas bioactivas con liberación controlada. Se estudia actualmente dentro del marco de la ingeniería de tejidos, en la creación de materiales

nuevos, donde puedan ser introducidos estos factores de crecimientos y sean liberados adecuadamente en los procesos regenerativos (48).

La utilización de factores de crecimiento del plasma rico en plaquetas (PRP) (51), proteínas morfogenéticas óseas (BMP), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), hormona paratiroidea (PTH) ha sido amplia en la ingeniería de tejidos. Inicialmente, se consideraron los factores de crecimiento para actuar como agentes sistémicos, pero la evidencia actual indica que funcionan principalmente como reguladores de crecimiento de las células locales. Estos factores son importantes en la señalización celular para la diferenciación y la estimulación de la secreción de matriz de dentina (45). Varios materiales de desmineralización pueden conducir a la liberación de factores de crecimiento atrapados dentro de la matriz de la dentina. Una vez en libertad, estos factores de crecimiento juegan un papel clave en la señalización de muchos de los eventos involucrados en la formación de dentina reparativa.

A largo plazo, es probable que los factores de crecimiento se utilicen en conjunción con las células madre postnatales para llevar a cabo el reemplazo de tejidos de la pulpa de dientes enfermos (51).

2.6 Éxito de la revascularización

El proceso de revascularización ha sido reportado por la literatura, sin embargo, la presencia de infección ha demostrado que interfiere con este proceso, aunque la endodoncia regenerativa puede ser una realidad en dientes con necrosis pulpar y patología periapical. Los dientes que se han sometido al proceso de revascularización están limitados por la verificación clínica de que exista realmente una nueva formación de tejido pulpar, aunque el aspecto radiográfico de cierre apical y de engrosamiento de las paredes dentinales puede dar la impresión de una pulpa regenerada, pero aunque esté funcionando, no hay evidencia histológica para apoyar estos hallazgos. Existen diversos estudios en animales que examinaron la naturaleza de los tejidos presentes en los conductos radiculares de los dientes tratados con procedimientos de revascularización. El tejido conectivo, cemento y hueso han sido reportados en estos dientes (51).

Por lo tanto, los componentes necesarios para el éxito de la revascularización incluyen la ausencia de infección intraconducto, un selle coronal para prevenir la reinfección, un andamio físico para promover el crecimiento y la diferenciación celular, y moléculas de señalización para el crecimiento de las células madre (51).

En diferentes estudios de endodoncia regenerativa ha sido evidente el continuo desarrollo de la raíz, un aumento en la longitud y espesor durante el periodo de seguimiento, este continuo desarrollo puede ser atribuido a diferentes mecanismos. Dentro de los cuales es postulado el que las células vitales de la pulpa que permanecen en el extremo apical del conducto tienen la capacidad de migrar, proliferar y diferenciarse en odontoblastos guiados tal vez por la vaina radicular de Hertwing, la cual se cree es resistente a la destrucción incluso ante la presencia de inflamación. Otra hipótesis está basada en que las células madre del ligamento periodontal tendrían la capacidad de migración, proliferación y diferenciación dentro del conducto radicular. También se habla que las células madre de la papila apical (SCAPS) pueden sobrevivir a la infección y tienen la capacidad de proliferar y diferenciarse en células formadoras de cemento o hueso. Como último mecanismo se habla del propio coágulo de sangre el cual es rico en factores de crecimiento como el factor de crecimiento derivado de plaquetas, factor de crecimiento endotelial vascular y el factor de crecimiento tisular. Los cuales van a estimular la diferenciación, crecimiento y maduración de fibroblastos, odontoblastos, cementoblastos a partir de precursores no diferenciados (46).

El tejido pulpar dental es el tejido más comúnmente lesionado y enfermo del cuerpo. Sin embargo, los procedimientos de regeneración utilizando las últimas técnicas de ingeniería de tejidos parecen prometedores. Aunque las terapias regenerativas tienen un gran potencial, siguen siendo impredecibles en su capacidad para producir consistentemente resultados aceptables en todas las situaciones. Cada una de las técnicas de regeneración tiene ventajas y desventajas, y algunas de las técnicas son todavía hipotéticas y requieren de más investigación para comprobar su efectividad (24).

3. Diseño metodológico

3.1 Tipo de estudio

Estudio descriptivo

Mediante la elaboración de un estudio descriptivo in vivo, con una muestra específica, dada de los pacientes que asisten a las clínicas de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Colombia, con indicación de revascularización pulpar por diagnóstico de necrosis pulpar y/o periodontitis apical sintomática-asintomática con ápice abierto, los cuales serán valorados y diagnosticados por el investigador.

3.2 Materiales

En cuanto a los materiales e instrumentos utilizados para la revascularización se determinan según cada paso del proceso en:

Tabla 2. Materiales e instrumentos

PROCEDIMIENTO	MATERIAL
Anestesia	Cárpules de anestesia Roxicaina ® 2% epinefrina, lidocaína 2%, epinefrina 1:80000. Ropsohn Therapeutics Ltda ®, Bogotá-Colombia, INVIMA 2004M-0003943, lote 30870, Vence: 11/15
	Cárpules de anestesia Pricanest ® 4%, prilocaína clorhidrato, Ropsohn Therapeutics Ltda ®, Bogotá-Colombia INVIMA 2012M-012596R2, lote 40289, Vence: 04/2016

	<p>Aguja larga, importado por New Stetic S.A, TERUMO ®, Medellín-Colombia, Made in Japón, INVIMA -01594, lote 100722, vence 06/2015</p>	
	<p>Aguja corta, Mediline, importado y distribuido por New Stetic S.A, Medellín-Colombia, Made in Corea por Biodent co Ltda, INVIMA 2012DM-0008603, lote 817120515, vence 14/05/2017</p>	
Apertura	Fresas de diamante redondas de diferentes tamaños	
Aislamiento	Tela de caucho, DENTAL DAMS, fabricado por Orbidental, Bogotá-Colombia, INVIMA 2009DM0004818, lote 041013, vence 10/2018	
	Grapas de diferente numeración Hu-Friedy	
	Portagrapa	
	Perforador de tela de caucho	
	Arco de Young	
		<p>Duralay: duracyl ® New Stetic S.A Antioquia-Colombia</p>
Establecimiento de longitud de trabajo e irritación mecánica del ápice:	limas manuales tipo K de la primera serie y segunda serie, Maillefer	
Radiografía	Radiovisiografo RVG, sistema de radiografía digital RVG Reference, sensor Trophy. Software CS Dental Imaging. Perteneciente a la clase 1 de la Directiva de los dispositivos médicos 93/42/CEE.	
Irrigación:	hipoclorito de sodio al 1.5%, ENZOHIP-1 ®, PRODONT, INVIMA 2011DM-0000793-R1, lote 093EN007, vence	

	09/2015
	irrigación final: EDTA al 17%, solución 120 ml, Eufar ®, Bogotá-Colombia, INVIMA 2012DM0008632, lote 130229, vence 02/2016
Secado de conductos	eyector de conductos
	puntas de papel: Absorbent paper point sterile, New Stetic, Antioquia-Colombia, INVIMA 2007DM-0000878, lote 010411, vence 04/2016
Pasta triantibiótica	Metronidazol, GENFAR ®, tabletas 500 mg, INVIMA 2008M-009881-R2, lote 441213, vence 12/15
	Amoxicilina, LA SANTÉ, capsulas 500 mg, INVIMA 2009M-010611-R2, manufacturado por mundial farmacéutica S.A, para laboratorios la santé S.A, Bogotá- Colombia, lote 3107806E1013, vence 10/16
	Ciprofloxacina, LAPOFF ® , 500 mg, laboratorios Laproff S.A, Antioquia-Colombia, INVIMA 2011M-0000338R1, lote 87891, vence 10/2015
	suero fisiológico
Sellado temporal	Coltosol: coltosol F ® , Temporary filling material, coltene/ USA, lote D56663, vence 06/2015
	Ionómero de vidrio: ultrebond TM, 3M ESPE, made USA. INVIMA 2007DM-0000684.
	Polvo 9 g: lote N547883, vence 12/2016 Líquido 5.5 ml: lote N533209, vence 12/2016
Obtención del PRP	jeringas desechables de 10 cc
	tubos de obtención de la sangre con anticoagulante (citrato de sodio)
	Centrifuga, Rotofix 32
Soporte de colágeno	Soporte de colágeno unidireccional, fabricado en laboratorio de Ingeniería de Tejidos, de la facultad de Farmacia de la

	Universidad Nacional de Colombia.	
Sellado del conducto	MTA: PROROOT ® MTA, distribuido por Dentsply Maillefer, hecho por Dentsply talsa dental specialties, lote 13073104, vence 08/2106	
Restauración definitiva	Resina de fotocurado	Resina 3M ESPE, Filtek TM, Z350 XT, lote N486732, vence 03/2016
		Desmineralizante: ULTRA ETCH ®, 35% phosphoric acid, ultradent products, inc.
		Adhesivo: TETRIC ® N-bond, ivoclar vivadent, INVIMA 2007DM0000768, lote 504943, vence 06/2015

3.3 Métodos

3.3.1 Protocolo de atención

Basado en protocolo sugerido en el trabajo de grado realizado por la doctora Paula Alejandra Camargo bajo la dirección del docente Henry Sossa Rojas, el cual se titula: **REVASCULARIZACIÓN PULPAR MEDIANTE LA UTILIZACIÓN DE PLASMA RICO EN PLAQUETAS AUTÓLOGO O EN COMBINACIÓN CON UNA MATRIZ COLÁGENA, COMO POSIBILIDADES TERAPÉUTICAS PARA DIENTES CON ÁPICE ABIERTO, PULPA NECRÓTICA Y/O PATOLOGÍA PERIAPICAL: REVISIÓN NARRATIVA DE LA LITERATURA**

Se generó el siguiente protocolo de atención:

**PROTOCOLOS Y CONSENTIMIENTOS INFORMADOS PROPUESTOS PARA LA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA, DE REVASCULARIZACIÓN MEDIANTE
PLASMA RICO EN PLAQUETAS, MATRIZ ARTIFICIAL EN COLÁGENO Y SU
COMBINACIÓN.**

Proponemos estos protocolos con base a la revisión realizada de la literatura y a la efectividad que ha demostrado este tipo de procedimientos. Sugerimos así, estos protocolos para revisión, análisis y discusión con el fin de implementarlos en el Posgrado de Endodoncia de la Universidad Nacional de Colombia, con el objetivo de unificar el desarrollo de estos procedimientos en los diferentes pacientes a los cuales aplica según su diagnóstico.

Historia Clínica y Consentimiento Informado el procedimiento.

Evaluación general del paciente, incluyendo motivo de consulta, historia de la enfermedad actual, anamnesis, examen físico extraoral e intraoral, de la misma manera, un análisis minucioso antes de llevar a cabo el procedimiento acerca del motivo de la consulta, el estado de desarrollo dental, la longitud radicular, apertura apical (1mm o mayor) mediante la evaluación radiológica según el estadio de nolla; la presencia o ausencia de lesión, y la capacidad de restauración de la corona.

Estos factores son importantes para lograr un diagnóstico veraz y garantizar que el resultado previsible se pueda lograr.

El consentimiento informado debe ser firmado por los padres o tutores del paciente, quienes deben ser orientados acerca del curso del procedimiento, la obtención de la muestra (en caso tal de ser necesario), los riesgos y complicaciones que se pueden presentar y el posible fracaso del mismo.

Deben ser informados acerca de la obligatoriedad de las citas de control, con el fin de evaluar y analizar la evolución que se da a partir del tratamiento inicial o ya sea para discutir otras opciones de tratamiento en caso de que éste deje de cumplir con los objetivos previstos (la reducción o resolución de la lesión apical, el desarrollo radicular, el selle apical, y la deposición de tejido mineralizado en las paredes del conducto radicular).

Después de obtener el consentimiento, (ver anexo) se procede a iniciar el tratamiento según protocolo:

**PROTOCOLO PARA PROCEDIMIENTO DE REVASCULARIZACIÓN PULPAR
MEDIANTE PLASMA RICO EN PLAQUETAS EN COMBINACIÓN CON UN SOPORTE
DE COLÁGENO TIPO I**

Cita No. 1

1. Bloqueo anestésico en la zona del diente afectado con el anestésico de elección dependiendo del estado sistémico del paciente.
2. Apertura del diente afectado, eliminando la causa de la enfermedad si es el caso.
3. Aislamiento absoluto del campo operatorio con tela de caucho.
4. Irrigación de la cámara pulpar y del tercio cervical del conducto radicular con 10 ml de NaOCl al 1.5% acompañado de succión negativa
5. Pulpectomía del tejido necrótico, se verifica evaluando hasta el punto donde haya evidencia de sangrado en el conducto
6. Inspección del conducto radicular bajo el uso de magnificación (lupas o microscopio).
7. Establecer longitud de trabajo con lima tipo k 10 o 15 teniendo en cuenta el numeral 5.
8. Irrigación del conducto radicular con 20 ml de NaOCl al 1.5% a 3 mm menos de la longitud de trabajo (está contraindicada la instrumentación mecánica) acompañado de succión negativa.
9. Secar el conducto con puntas de papel estériles de diámetros amplios a longitud de trabajo.
10. Dejar pasta triantibiótica intraconducto durante tres semanas, con el fin de favorecer la disminución de la carga bacteriana y así mismo para lograr desmineralización de la dentina y exposición del colágeno para facilitar la adherencia celular.

- Opción 1: (metronidazol 100µg/ml, amoxicilina 100µg/ml, ciprofloxacina 100µg/ml). (r)
- Opción 2: (metronidazol 100µg/ml, minociclina 100µg/ml, ciprofloxacina 100µg/ml). En caso de tomar esta opción se debe utilizar una barrera cervical con resina fluida para evitar la pigmentación dental.

11. Obturación temporal con ionómero de vidrio.

Cita No. 2. (Tres semanas después)

Antes de iniciar la cita No. 2 se debe asegurar de que el paciente no presente signos clínicos y que los síntomas hayan desaparecido o disminuido de forma significativa.

Cita No. 2. Parte 1. Toma de la muestra sanguínea

1. Se toman 10 ml de sangre entera por punción venosa, se recoge en un tubo estéril de 10 ml con un anticoagulante (Citrato de sodio).
2. Se centrifuga a 2500 rpm durante 10 minutos para separar el plasma rico en plaquetas (PRP) y el plasma pobre en plaquetas (PPP) a partir de la fracción de glóbulos rojos.
3. La mayoría de la capa superior (PRP + PPP) se transfiere a otro tubo, en un medio estéril para evitar la contaminación de la muestra y se centrifuga de nuevo a 3000 rpm durante 15 minutos para separar el PRP del PPP.
4. El precipitado de PRP se pone en una jeringa estéril listo para ser inyectado dentro del conducto radicular.

Cita No.2. Parte 2. Revascularización mediante plasma rico en plaquetas

1. Bloqueo anestésico en la zona del diente afectado con anestésico sin vasoconstrictor (pricanest 3% prilocaína + felipresina).
2. Retirar obturación temporal.
3. Aislamiento absoluto del campo operatorio con tela de caucho.
4. Irrigación del conducto radicular inicialmente con 20 ml de suero fisiológico y luego con 20 ml de NaOCl al 1.5% acompañado de succión negativa para eliminar la medicación intraconducto.
5. Irrigación final con 5 ml de EDTA al 17% durante un minuto para exponer el colágeno de la dentina y facilitar la adherencia celular.
6. Secar el conducto con puntas de papel estériles de diámetros amplios a longitud de trabajo.
7. Sobreinstrumentación con una lima tipo k de diámetro # 20 o 25 para inducir lesión en los tejidos periapicales para favorecer el sangrado hacia el conducto radicular y posterior migración de las células madre estromales para que se instauren en el tejido donde se van a volver funcionales.
8. Posterior a esto se inyecta al interior del conducto el Plasma Rico en Plaquetas autólogo, introduciéndolo de apical a coronal por medio de una aguja de calibre 25 siendo la aplicación inicial con presión apical. Bajo magnificación se constata que el conducto este completamente lleno con PRP hasta la unión amelocementaria.
9. Se coloca el soporte de colágeno tipo I, condensándolo con leve presión desde coronal y asegurándose de que quede en todo el conducto radicular, para permitir la migración

celular dentro de la red y a lo largo de todo el conducto. Bajo magnificación se constata que la matriz de colágeno se encuentre bien posicionada dentro del conducto radicular.

10. A nivel de la UAC se pondrá una capa de 3 mm de MTA, se deja una torunda de algodón húmeda de 1 a 3 días y se pone una restauración temporal en ionómero de vidrio.

Cita No.3. De uno a 3 días después del procedimiento

12. Se retira la torunda de algodón, se pone ionómero de vidrio en contacto con el MTA y se restaura el diente con resina.

3.3.2 Revisión y análisis de la literatura

Se realizó la revisión bibliográfica en los diferentes buscadores (Biblioteca Cochrane Plus (Cochrane Library), PubMed, Medline, EMBASE) para artículos científicos de revistas odontológicas, utilizando las palabras claves seleccionadas desde DeCS y MeSH los cuales soportaron el desarrollo de la investigación.

3.3.3 Población y muestra

En este tipo de estudio se incluyeron individuos de la primera y segunda infancia que están en tratamiento odontológico en las clínicas del posgrado de la facultad de odontología de la Universidad Nacional de Colombia, que presentaron diagnóstico de necrosis pulpar y /o periodontitis apical sintomática- asintomática y ápice abierto, y que su plan de tratamiento fue una técnica de revascularización cumpliendo con los criterios de inclusión definidos. Se tomó la población recolectada total a los cuales se les realizó el procedimiento siguiendo el protocolo de atención antes mencionado y se evaluaron los resultados.

3.3.4 Criterios de inclusión

- Pacientes menores de 18 años o que siendo mayores de edad no tienen desarrollo radicular completo.
- Paciente con diagnóstico de necrosis pulpar y/ periodontitis apical sintomática-asintomática y ápice abierto.
- Pacientes inscritos en la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Colombia.
- Pacientes sistémicamente sanos o controlados
- Pacientes sin tratamiento endodóntico del diente en cuestión
- Pacientes que hayan aceptado participar en el estudio mediante la aprobación del consentimiento informado.

3.3.5 Criterios de exclusión

- Pacientes no inscritos a la facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Colombia
- Pacientes con compromiso sistémico no controlado
- Pacientes que no acepten participar en el estudio

3.3.6 Aspectos éticos

Este proyecto titulado “REVASCULARIZACIÓN PULPAR EN DIENTES PERMANENTES CON ÁPICE ABIERTO POR MEDIO DE LA UTILIZACIÓN DE PLASMA RICO EN PLAQUETAS EN COMBINACIÓN CON SOPORTES DE COLÁGENO TIPO I. ESTUDIO DESCRIPTIVO” desarrollado en el posgrado de Endodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Colombia, fue presentado ante el comité de posgrados de la FOUN, como proyecto individual de trabajo de grado y posteriormente fue presentado al comité de Ética de la FOUN, para su aprobación, según la norma (Resolución 8430 de 1993, CIOMS 2002). Donde se le dio el aval para su realización. Basados en los aspectos éticos se desarrolla un consentimiento informado, donde se explica de forma clara, visual y comprensible, los objetivos, metodología y desarrollo del presente trabajo de investigación, el cual se entregó a cada acudiente del paciente, en caso de ser menor de edad, o al paciente directamente. Se apoyó con la realización de un folleto explicativo sobre el desarrollo del estudio, los riesgos, beneficios y compromisos. El paciente accedió al estudio mediante la autorización en el consentimiento informado.

Según la resolución No. 008430 de 1993 del Ministerio de Salud en su artículo 11 declara que esta investigación es una investigación con riesgo mayor que el mínimo ya que ensaya con nuevos dispositivos, como lo es la utilización de soportes de colágeno tipo I y el plasma rico en plaquetas. También está basado en el capítulo III de la presente norma donde dan las indicaciones y sugerencia de estudios en menores de edad y presenta un riesgo igual o mayor a otras alternativas ya establecidas para el diagnóstico y el tratamiento en cuanto a la revascularización, presentando un riesgo mínimo para el menor de edad.

También el proyecto fue regido por las normas CIOMS en su pauta 14 que habla del estudio en niños, en la cual se tendrá en cuenta el consentimiento informado del padre, madre o acudiente legal del niño y el acuerdo (asentamiento) del niño para el desarrollo de la investigación.

3.4 Descripción Casos clínicos

A continuación se describe el desarrollo del protocolo de revascularización pulpar en dientes permanentes con ápice abierto mediante la utilización de plasma rico en plaquetas en combinación con soportes de colágeno tipo I.

3.4.1 Caso clínico 1

Paciente de 10 años, de sexo femenino, sistémicamente sana, que asiste al posgrado de Endodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Colombia por remisión de institución externa. Al examen clínico en diente 36 se evidencia cemento temporal ocluso-linguo-meso-distal (OLMD) desadaptado, sin sintomatología a la percusión horizontal y vertical, no movilidad, no bolsas periodontales. La madre refiere que la paciente ha presentado dolor esporádico y que en anterior consulta odontológica, le realizaron retiro de lesión cariosa. Al examen radiográfico se evidencia zona radiolúcida apical en raíces mesiales y distal compatible con lesión apical, raíz distal con ápice abierto en estadio de nolla 9 (Fig. 3.4.1.1)



Figura 3.4.1. 1 Radiografía inicial diente 36, donde se evidencia lesión apical en raíces mesiales y en raíz distal. Raíz distal con ápice abierto en estadio nolla 9.

Diagnóstico de necrosis pulpar y periodontitis apical asintomática y ápice abierto, para tratamiento de revascularización. Previa explicación del consentimiento informado y folleto explicativo de la técnica de revascularización.

Se inicia procedimiento según protocolo. Se realiza anestesia técnica troncular del dentario inferior izquierdo, 1 cápsula de lidocaína al 2%, epinefrina 1:80000. Refuerzo vestibular técnica infiltrativa 1 cápsula de lidocaína al 2%, epinefrina 1:80000. Retiro de cemento temporal ocluso-linguo-meso-distal, localización de conductos MV, ML, D, aislamiento absoluto con tela de caucho, grapa # 14 y refuerzo con duralay alrededor de la grapa y el diente (Fig. 3.4.1.2)

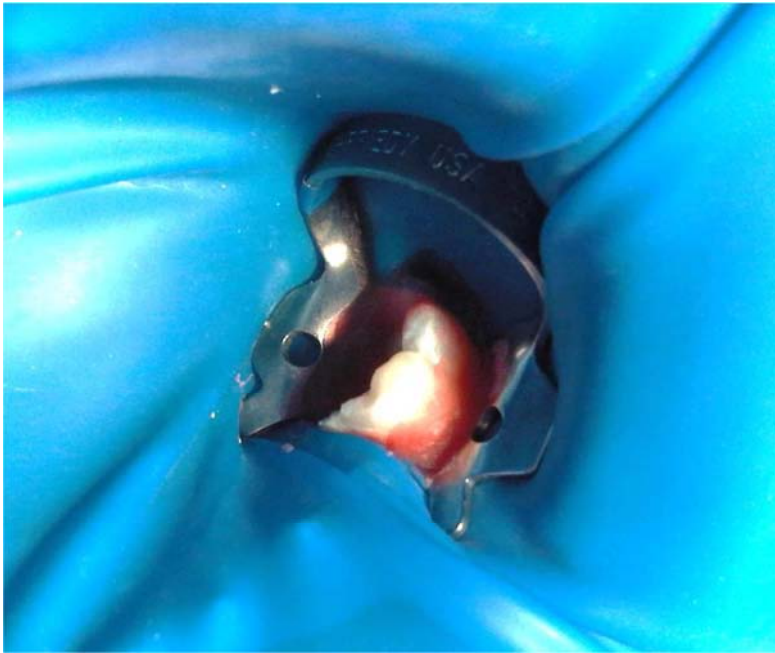


Figura 3.4.1. 2 Fotografía clínica del aislamiento absoluto

Pulpectomía de conductos MV, ML, D e irrigación de los conductos con hipoclorito de sodio al 1.5% acompañado de succión negativa en entrada de conductos retirando tejido infectado. Establecimiento de longitud de trabajo en conducto Distal de 18 mm con referencia en el borde disto-vestibular, conducto MV de 19 mm con referencia del borde meso-vestibular y conducto ML de 17 mm con referencia del borde meso-lingual. Irrigación con hipoclorito de sodio al 1.5% a 3 mm menos de la longitud de trabajo. Secado de conductos con puntas de papel estéril. Preparación y colocación de pasta triantibiótica intraconductos (metronidazol-amoxicilina-ciprofloxacina) mezclados en una proporción de 100 microgramos/ml de cada medicamento con suero fisiológico, colocada con lentúlos a longitud establecida., colocación de mota de algodón y cemento temporal Coltosol®. Por tres semanas

En segunda cita se realiza verificación de signos y síntomas y se decide realizar cambio de medicamento intraconducto por hidróxido de calcio mezclado en una proporción 1:1 con suero fisiológico. Se cita en dos semanas nuevamente.

El paciente asiste de nuevo a las dos semanas para continuar tratamiento de revascularización. Previa verificación de ausencia de signos y síntomas clínicos. Se realiza toma de sangre entera por punción venosa en tubo estéril de 10 ml con anticoagulante de citrato de sodio. Se obtuvieron tres tubos de sangre. Se realiza centrifugación a 1800 rpm x 8 minutos. El precipitado de plasma rico en plaquetas (PRP) se coloca en jeringa estéril, listo para ser usado en conducto radicular. (Fig. 3.4.1.3 a Fig. 3.4.1.8)

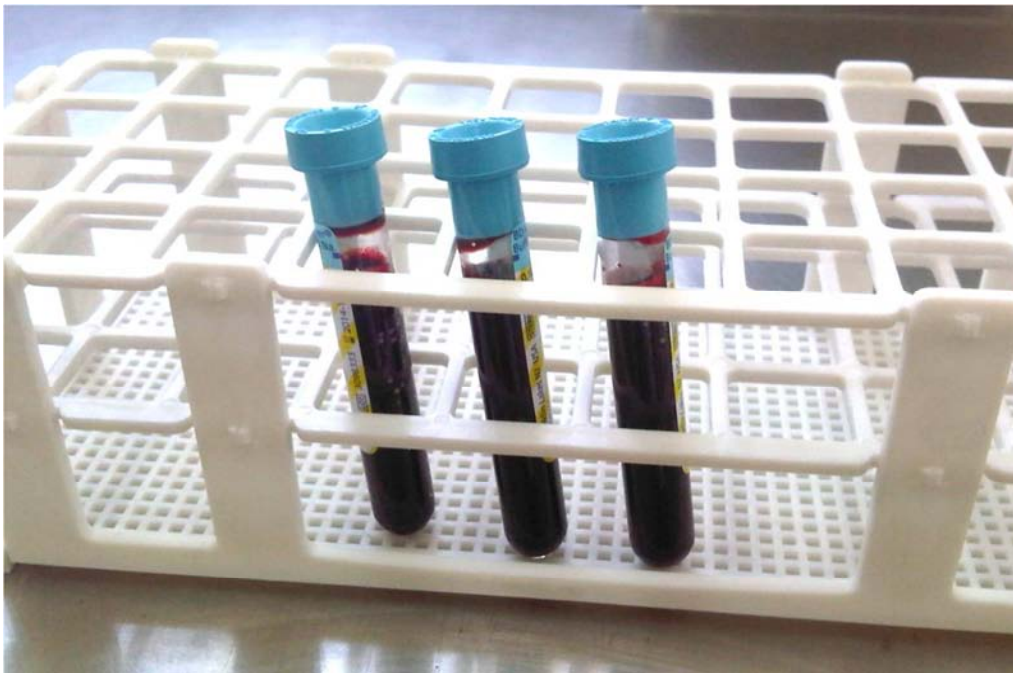


Figura 3.4.1.3 Fotografía tubos de sangre obtenidos del paciente



Figura 3.4.1.4 Fotografía tubos de sangre colocados en centrifuga



Figura 3.4.1.5 Fotografía centrifuga Rotofix 32 en proceso de centrifugación de las muestras. Centrifugación 1800 rpm x 8 minutos

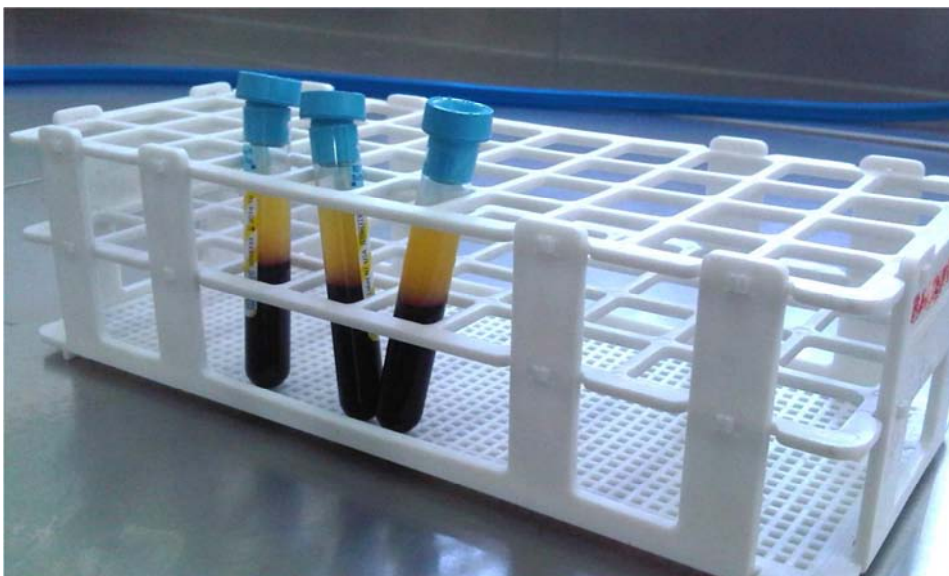


Figura 3.4.1.6 Tubos después del proceso de centrifugación donde se evidencia el PRP y el PPP



Figura 3.4.1.7 Fotografía paso del PRP a tubo estéril



Figura 3.4.1.8 Fotografía jeringa estéril con el PRP listo para ser inyectado intraconducto.

Se procede al bloqueo anestésico técnica troncular dentario inferior izquierdo con 1 cápsula de pricanest 3%, felipresina, refuerzo técnica infiltrativa vestibular en diente 36, retiro de obturación temporal tipo coltosol ® ocluso-linguo-meso-distal (OLMD), aislamiento absoluto con tela de caucho, grapo # 14 y refuerzo con duralay.

Irrigación de conductos radiculares con 20 ml suero fisiológico y luego con 20 ml de NaOCl al 1.5% acompañado de succión negativa para eliminar medicación intraconducto. (Fig. 3.4.1.9)

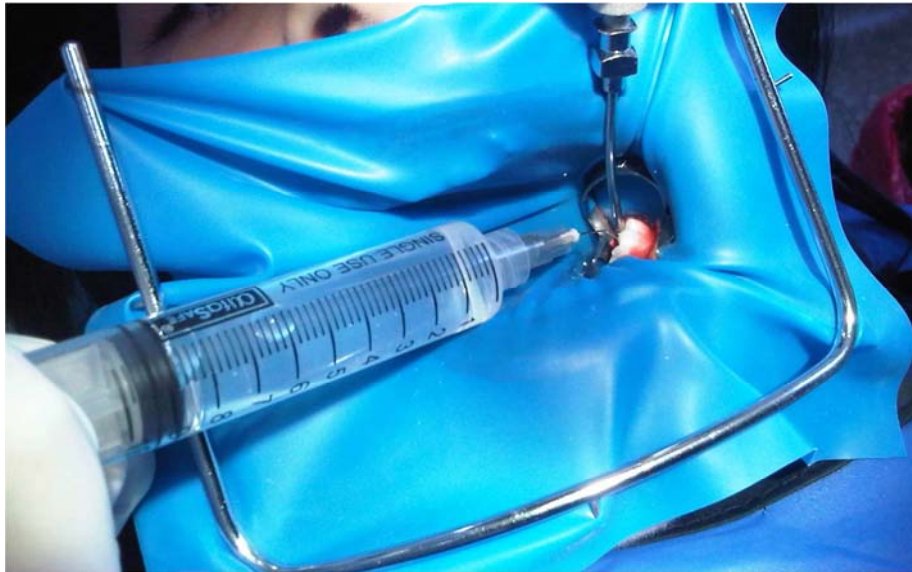


Figura 3.4.1.9 Fotografía clínica de aislamiento diente 36 previa anestesia sin vasoconstrictor, e irrigación de conductos con NaOCl al 1.5 eliminando medicación intraconducto.

Irrigación final con 5 ml de EDTA al 17% durante 1 minuto para exponer el colágeno de la dentina y facilitar la adherencia celular. Secado de conductos con puntas de papel estéril calibres 40 en conductos MV, ML y calibre 60 en conducto D.

Sobreinstrumentación con lima tipo K # 25, 2 mm más allá de la longitud establecida para inducir el sangrado de los tejidos periapicales y la posterior migración de las células madre con el fin de que se instauren intraconducto. Sangrado poco profuso que llena un tercio de los conductos radiculares.

Inyección al interior de los conductos del plasma rico en plaquetas autólogo, se introdujo de apical a coronal por medio de una aguja monojet calibre 25, aplicación inicial con presión apical. Se realiza observación clínica para constatar que los conductos queden completamente llenos del PRP hasta la línea amelocementaria. (Fig. 3.4.1.10)



Figura 3.4.1.10 Fotografía clínica de la aplicación de plasma rico en plaquetas intraconducto.

Posterior a que se instaure el plasma rico en plaquetas se coloca sobre este el soporte de colágeno tipo I proporcionado por el laboratorio de Ingeniería de tejidos de la Facultad de Farmacia de la Universidad Nacional de Colombia. Almacenado en tubo estéril con solución acuosa de alcohol para hidratación del soporte. (Fig. 3.4.1.11 y Fig. 3.4.1.12)



Figura 3.4.1.11 Fotografía clínica de soporte de colágeno tipo I almacenado e hidratado.



Figura 3.4.1.12 Fotografía clínica de soporte de colágeno colocado en loseta estéril previo al corte para la utilización intraconducto.

Colocación de soporte de colágeno cortado según diámetro aproximado de los conductos y condensación del soporte. (Fig. 3.4.1.13)

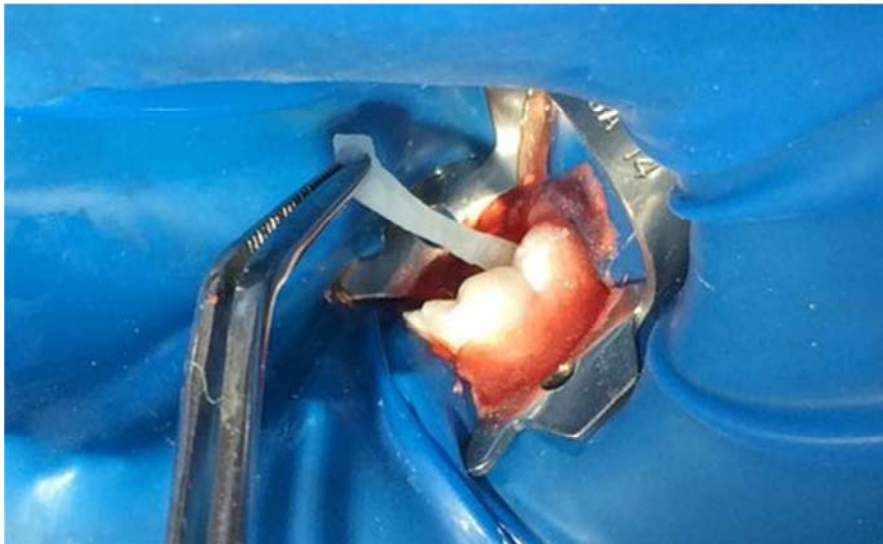


Figura 3.4.1.13 Fotografía clínica de colocación de soporte de colágeno intraconducto.

Verificación de adecuada colocación de soporte de colágeno tipo I en conductos MV, ML y D hasta la línea amelocementaria. Posterior colocación de una capa de 3 mm de MTA (Fig. 3.4.1.14)

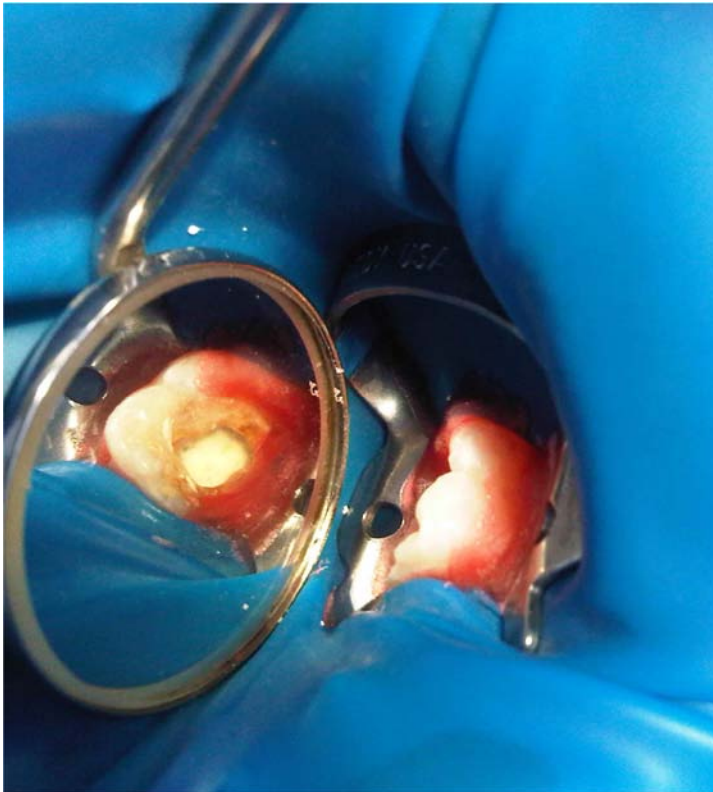


Figura 3.4.1.14 Fotografía clínica de colocación de MTA hasta la línea amelocementaria.

Se coloca una torunda de algodón estéril humedecida con agua destilada sobre el MTA y sobre esta una obturación con ionómero de vidrio.

A los tres días se retira la obturación temporal de ionómero de vidrio y la torunda de algodón, se evalúa el fraguado y selle del MTA con un explorador de conductos y se realiza el selle con ionómero de vidrio de fotocurado en contacto con el MTA y restauración definitiva del diente con resina de fotocurado.

Se cita a la paciente al primer control en 3 meses

3.4.2 Caso clínico 2

Paciente de 14 años, de sexo masculino, sistémicamente sano, con diagnóstico de labio y paladar hendido con tratamiento de ortodoncia activo, que asiste al posgrado de Endodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Colombia por remisión de institución externa. La madre refiere que el paciente presentó fractura coronal no complicada del 21 hace tres años sin control radiográfico durante el tiempo de evolución. Por remisión de ortodoncia en radiografía panorámica se evidencia ápice abierto en diente 21. Al examen clínico en diente 21 se evidencia restauración temporal en ionómero de vidrio palato-incisal desadaptado por fractura de borde incisal por desgaste, sin sintomatología a la percusión horizontal y vertical, no movilidad, no bolsas periodontales. Al examen radiográfico se evidencia diente en formación en estadio de nolla 8. Tratamiento de ortodoncia no activo para diente 21. (Fig. 3.4.2.1)



Figura 3.4.2.1 Radiografía de diente 21 con evidencia de falta de cierre apical y radiolucidez apical compatible con lesión apical en proceso.

Diagnóstico de necrosis pulpar, periodontitis apical asintomática y ápice abierto para tratamiento de revascularización. Previa explicación del consentimiento informado y folleto explicativo de la técnica de revascularización

Se inicia procedimiento según protocolo. Se realiza anestesia vestibular técnica infiltrativa 1 cárpula de lidocaína al 2%, epinefrina 1:80000, refuerzo en palatino con técnica infiltrativa. Retiro de ionómero palato-incisal, localización de conducto único, aislamiento absoluto con tela de caucho, grapa # 206 y refuerzo con duralay alrededor de la grapa y el diente (Fig. 3.4.2.2)



Figura 3.4.2.2 Fotografía clínica de aislamiento absoluto con grapa #206

Pulpectomía de conducto único e irrigación con hipoclorito de sodio al 1.5% acompañado de succión negativa en entrada de conducto retirando tejido infectado. Establecimiento de longitud de trabajo en 19 mm del borde incisal. Irrigación con hipoclorito de sodio al 1.5% a 3 mm menos de la longitud de trabajo (Fig. 3.4.2.3)



Figura 3.4.2.3. Fotografía clínica de irrigación intraconducto con hipoclorito de sodio al 1.5%

Secado de conducto con puntas de papel estéril. Preparación y colocación de pasta triantibiótica intraconducto (metronidazol-amoxicilina-ciprofloxacina) mezclados en una proporción de 100 microgramos/ml de cada medicamento con suero fisiológico, colocada con lentúlos a longitud establecida, colocación de mota de algodón y cemento temporal Coltosol®. Por tres semanas.

En segunda cita se realiza verificación de signos y síntomas y se decide realizar cambio de medicamento intraconducto por hidróxido de calcio mezclado en una proporción 1:1 con suero fisiológico. Se cita en dos semanas nuevamente.

El paciente asiste de nuevo a las dos semanas para continuar tratamiento de revascularización. Previa verificación de ausencia de signos y síntomas clínicos. Se realiza toma de sangre entera por punción venosa en tubo estéril de 10 ml con anticoagulante de citrato de sodio. Se obtuvieron dos tubos de sangre. Se realiza centrifugación a 1800 rpm x 8 minutos. El precipitado de plasma rico en plaquetas (PRP) se coloca en jeringa estéril, listo para ser usado en conducto radicular (Fig. 3.4.2.4 a Fig. 3.4.2.



Figura 3.4.2.4 Fotografía clínica de toma de obtención de muestra de sangre



Figura 3.4.2.5 Fotografía centrifuga Rotofix 32 en proceso de centrifugación de las muestras. Centrifugación 1800 rpm x 8 minutos.

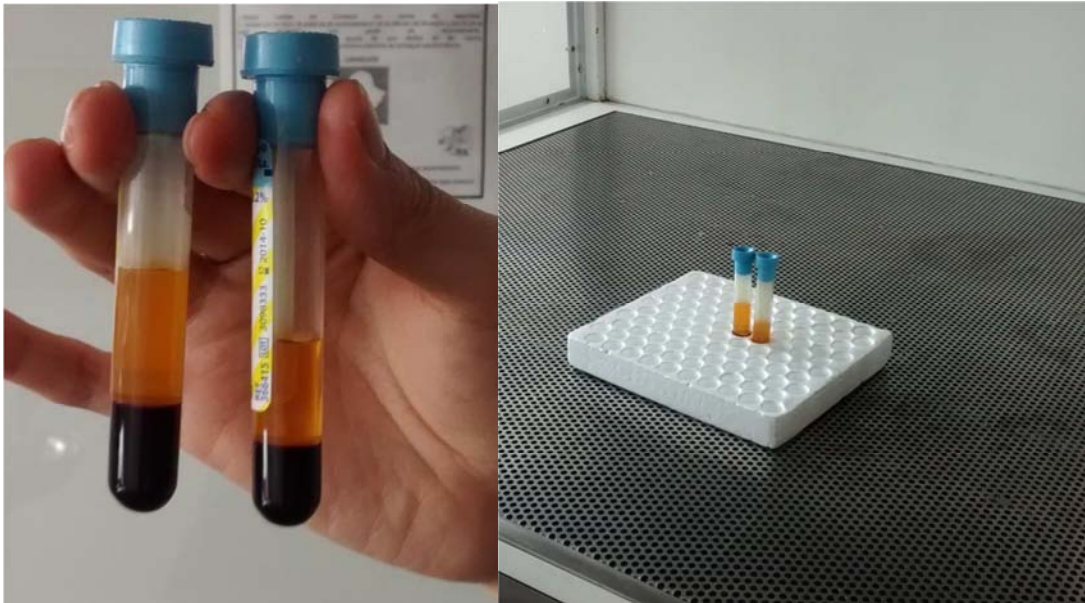


Figura 3.4.2.6 Fotografía de los dos tubos obtenidos después de la centrifugación donde se evidencia el PRP y PPP



Figura 3.4.2.7 Fotografía paso del PRP a tubo estéril

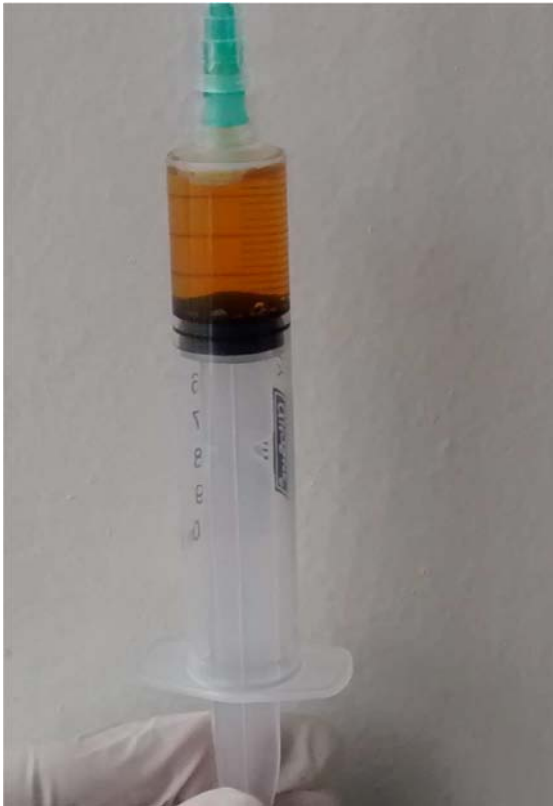


Figura 3.4.2.8 Fotografía jeringa estéril con el PRP listo para ser inyectado

Bloqueo anestésico técnica infiltrativa vestibular con 1 cápsula de pricanest 3%, felipresina, refuerzo palatino diente 21, retiro de obturación temporal tipo coltosol ® palato-incisal, aislamiento absoluto con tela de caucho, grapo # 206 y refuerzo con duralay.

Irrigación de conductos radiculares con 20 ml de suero fisiológico y 20 ml de NaOCl al 1.5% acompañado de succión negativa para eliminar medicación intraconducto. (Fig. 3.4.2.9)



Figura 3.4.2.9 Fotografía clínica de aislamiento diente 21 previa anestesia sin vasoconstrictor, e irrigación de conductos con NaOCl al 1.5 eliminando medicación intraconducto

Irrigación final con 5 ml de EDTA al 17% durante 1 minuto para exponer el colágeno de la dentina y facilitar la adherencia celular. Secado de conductos con puntas de papel estéril calibres 80 en conducto único (Fig. 3.4.2.10)

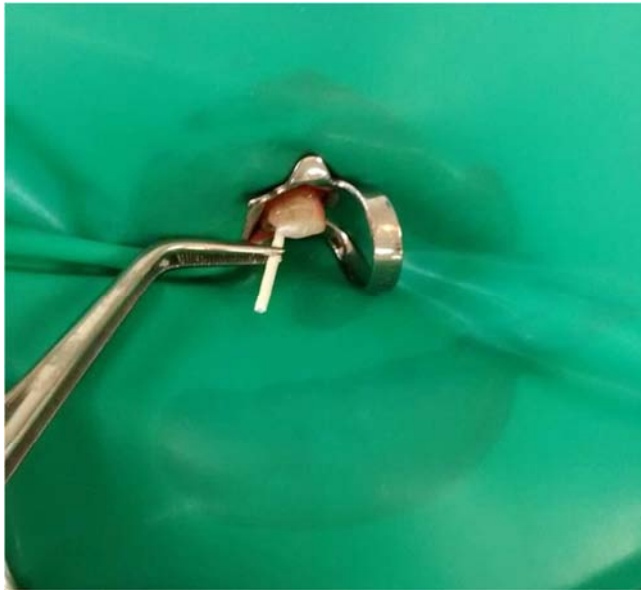


Figura 3.4.2.10 Fotografía clínica de secado de conducto único con puntas de papel estéril calibre 80.

Sobreinstrumentación con lima tipo K # 45, 2 mm más allá de la longitud establecida para inducir el sangrado de los tejidos periapicales y el homing de las células madre con el fin de que se instauren intraconducto. Sangrado poco profuso que llena un tercio de los conductos radiculares. (Fig. 3.4.2.11)



Figura 3.4.2.11 Fotografía clínica de la sobreinstrumentación

Inyección al interior del conducto del plasma rico en plaquetas autólogo, se introdujo de apical a coronal por medio de una aguja monojet calibre 25, aplicación inicial con presión apical. Se realiza observación clínica para constatar que el conducto quede completamente lleno del PRP hasta la línea amelocementaria. (Fig. 3.4.2.12 y Fig. 3.4.2.13)



Figura 3.4.2.12 Fotografía clínica de la aplicación del plasma rico en plaquetas intraconducto



Figura 3.4.2.13 Fotografía clínica de plasma rico en plaquetas intraconducto

Posterior a que se instaure el plasma rico en plaquetas se coloca sobre este el soporte de colágeno tipo I proporcionado por el laboratorio de Ingeniería de tejidos de la Facultad de Farmacia de la Universidad Nacional de Colombia. Almacenado en tubo estéril con solución acuosa de alcohol para hidratación del soporte. (Fig. 3.4.2.14 y Fig. 3.4.2.15)



Figura 3.4.2.14 Fotografía clínica de soporte de colágeno tipo I almacenado e hidratado



Figura 3.4.2.15 Fotografía clínica de soporte de colágeno colocado en loseta estéril previo al corte para la utilización intraconducto

Colocación de soporte de colágeno cortado según diámetro aproximado del conducto y condensación del soporte. Y verificación de adecuada colocación de soporte de colágeno tipo I en conducto único hasta la línea amelocementaria. (Fig. 3.4.2.16 a Fig. 3.4.2.18)

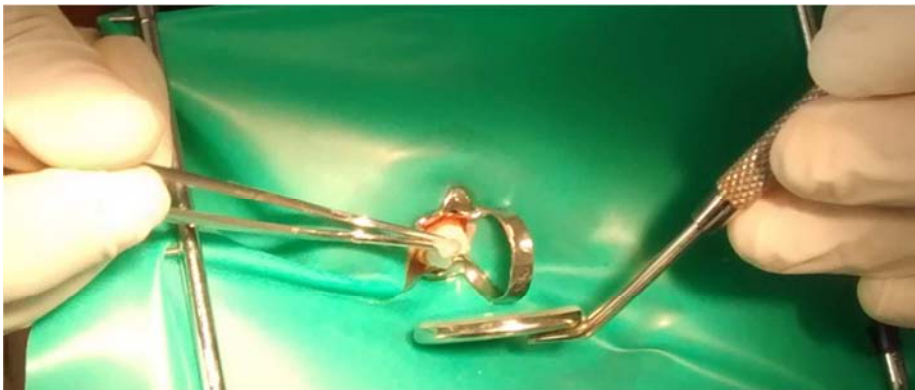


Figura 3.4.2.16 Fotografía clínica de colocación de soporte intraconducto



Figura 3.4.2.17 Fotografía clínica de condensación de soporte. Se realizó con dos conos de gutapercha de calibre mayor para evitar adherencia del soporte al condensador.



Figura 3.4.2.18 Fotografía clínica de verificación de adecuada colocación del soporte de colágeno tipo I intraconducto

Posterior colocación de una capa de 2 mm de MTA (Fig. 3.4.2.19 y Fig. 3.4.2.20)



Figura 3.4.2.19 Fotografía clínica colocación de MTA con jeringa de Messing y MTA preparado y mezclado según instrucciones del fabricante



Figura 3.4.2.20 Fotografía clínica de colocación de MTA hasta la línea amelocementaria

Colocación de torunda de algodón húmeda y posterior obturación con ionómero de vidrio (Fig. 3.4.2.21) y toma de radiografía final del proceso de revascularización (Fig. 3.4.2.22)

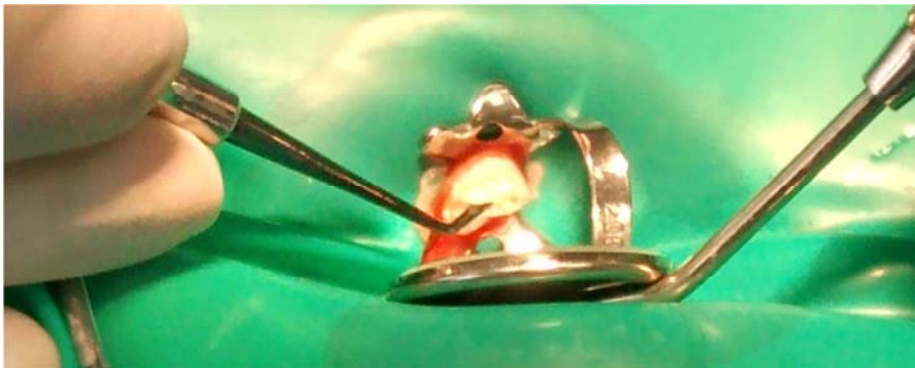


Figura 3.4.2.21 Fotografía clínica de colocación de obturación temporal en ionómero de vidrio



Figura 3.4.2.22 Radiografía final del proceso de revascularización, donde se evidencia la colocación del MTA y la obturación temporal en ionómero de vidrio

A los tres días se realiza retiro de obturación temporal de ionómero de vidrio previo y colocación de capa de ionómero de vidrio en contacto con el MTA y restauración del diente con resina de fotocurado.

Se cita al paciente al primer control en 3 meses

4. Resultados

Se obtuvieron 5 casos de dientes con diagnóstico de necrosis pulpar y/o periodontitis apical sintomática o asintomática y ápice abierto que como plan de tratamiento era requerido la revascularización. Tres casos debieron ser excluidos por las siguientes razones:

En un caso la paciente de 22 años en el diente 11 presentaba diagnóstico de necrosis pulpar y ápice abierto adicional presenta una zona radiolúcida de gran tamaño que requiere diagnóstico y manejo por cirugía maxilofacial. Aunque el plan de tratamiento planteado inicialmente fue la revascularización, la paciente se negó al procedimiento por sus creencias religiosas. Por ello debió ser remitida al servicio de cirugía maxilofacial para el diagnóstico y manejo de la lesión.

En otro caso el paciente de 10 años, presenta necrosis pulpar, ápice abierto del diente 21 y zona radiolúcida de tamaño moderado, compatible con lesión apical. Dado las condiciones sistémicas del paciente por presentar un trastorno cognitivo y limitaciones en el lenguaje ya que es paciente sordo mudo, se decide programar el tratamiento bajo sedación o anestesia general e interconsulta con odontopediatría y psicología para el manejo adecuado del paciente.

El último caso excluido de este estudio, es una paciente de 12 años que en diente 22 presenta diagnóstico de necrosis pulpar, ápice abierto y zona radiolúcida apical en contacto con tabla vestibular, palatina y seno maxilar, por el gran tamaño de la lesión se hace necesario un manejo previo de drenaje e interconsulta con cirugía maxilofacial para diagnóstico y tratamiento de la lesión antes del procedimiento de revascularización.

4.1 Caso clínico 1

Paciente asiste a control del procedimiento de revascularización del diente 36. 3 meses después de realizado. Al examen clínico se evidencia obturación OLMD adaptada y en condiciones favorables, sin fractura dental. No se evidencia signos clínicos de fistula o encía inflamada. Respuesta positiva a la percusión horizontal y vertical. A la prueba de sensibilidad térmica al frío refiere respuesta positiva disminuida y retardada, a la prueba eléctrica con vitalómetro presenta respuesta en intensidad 47. Lo puede sugerir una regeneración leve del tejido al interior del conducto.

Al examen radiográfico se evidencia disminución de la zona radiolúcida apical en raíces mesiales y distal y leve recuperación del contorno periapical en raíz distal asociado al proceso de cierre apical. Visto y calificado por dos observadores clínicos (J.C.A y F.J) diferente del operador clínico (I.B) (Fig 4.1.1)

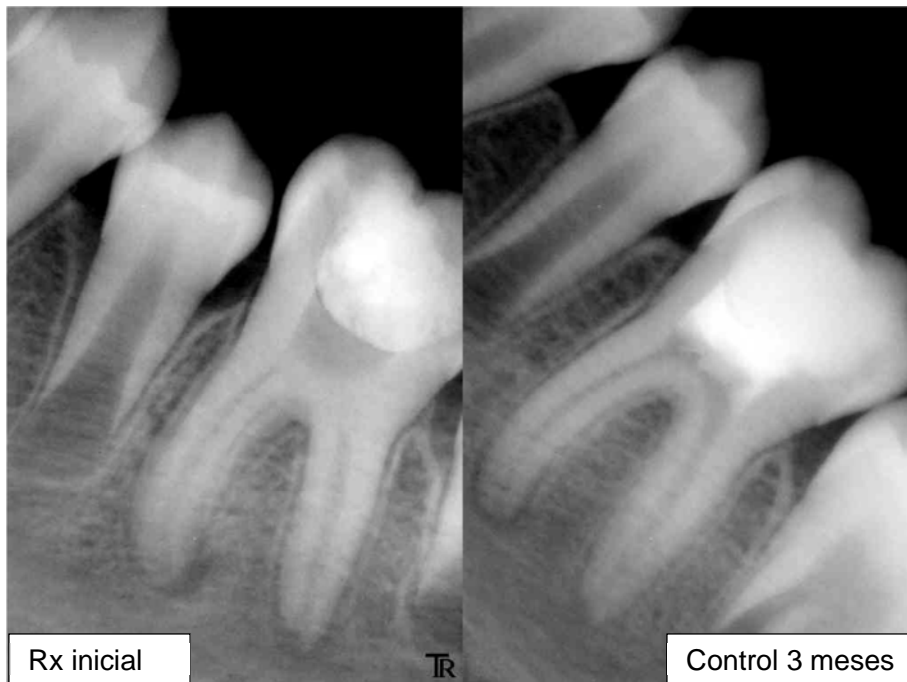


Figura 4.1.1 Radiografía diente 36 a tres meses de seguimiento, con evidencia de proceso de revascularización en condiciones favorables, disminución de lesión apical y proceso de cierre apical en raíz distal.

4.2 Caso clínico 2

Paciente asiste a control del procedimiento de revascularización del diente 21. 3 meses después de realizado. Al examen clínico se evidencia obturación palato-incisal adaptada y en condiciones favorables, fractura dental vestibular. No se evidencia signos clínicos de fistula o encía inflamada. Respuesta negativa a la percusión horizontal y vertical. A la prueba de sensibilidad térmica al frío refiere negativa, a la prueba eléctrica con vitalómetro presenta respuesta en intensidad 57. Lo puede sugerir una regeneración lenta, leve y disminuida del tejido al interior del conducto o posible respuesta de tejidos adyacentes como el ligamento periodontal. Se evidencia clínicamente cambio de color hacia el tono gris claro como producto de la decoloración del MTA. (Fig 4.2.1)



Figura 4.2.1 fotografía clínica de evidencia de decoloración coronal producto del MTA

Al examen radiográfico se evidencia zona apical con disminución de lesión apical, no se evidencia proceso de cierre apical ni de engrosamiento de las paredes. Producto tal vez del poco tiempo de seguimiento del caso, y de la respuesta lenta del tejido al proceso de revascularización. Para lo cual es necesario más tiempo de seguimiento. (Fig 4.2.2)



Figura 4.2.2 Radiografía de seguimiento a tres meses donde se evidencia disminución de lesión apical, no se evidencia proceso de cierre apical ni engrosamiento de las paredes.

Visto y calificado por dos observadores clínicos (J.C.A y F.J) diferentes al operador clínico (I.B)

5. Discusión

La AAE describe como objetivo principal del procedimiento de revascularización, la cicatrización de la periodontitis apical y como objetivos secundarios el aumento de grosor de las paredes dentinales y aumento de la longitud radicular permitiendo el cierre apical, y como meta terciaria una respuesta positiva a las pruebas de sensibilidad pulpar. Aunque estos objetivos no son esenciales para determinar el éxito clínico del procedimiento de revascularización, si fueron nuestros objetivos claves propuestos en este estudio, y como se ha mencionado, debido al poco tiempo de seguimiento no es valorable a profundidad el cumplimiento de estos objetivos, para lo cual es primordial un tiempo de seguimiento mayor. Sin embargo, en el poco tiempo de seguimiento se ha observado cómo se describe en los resultados, una disminución de la radiolucidez apical y un proceso de cierre apical, más una leve respuesta a la prueba del vitalómetro. No podemos afirmar todavía si es el ligamento periodontal o el tejido regenerado, el que responde a la prueba eléctrica, para ello es necesario más tiempo de seguimiento.

Simon et al. y Berdal et al. (2014) realizaron un seguimiento a 22 tratamientos de la técnica de revascularización según protocolo de la Asociación Americana de Endodoncia, el tiempo de seguimiento fue de 24 meses y sus resultados se centran en que radiográficamente se evidencia una cicatrización de los tejidos periapicales donde había patología periapical preexistente (43) como ha podido evidenciar en el poco tiempo de seguimiento de nuestro estudio. Existe pues una reducción de la radiolucidez apical en los dos casos realizados en este estudio. Encontraron también que podía evidenciar una barrera de tejido mineralizado cerca del material de relleno coronal producto de los diferentes andamios que pueden ser

utilizados (43) (56). En este punto, tal vez por el poco tiempo de seguimiento no se ha observado en nuestros casos, además que en el estudio de 22 tratamientos se utilizó una técnica convencional con la formación del coágulo intraconducto producto de la irritación mecánica del periápice, sin la utilización de plasma rico en plaquetas como si fue utilizado en nuestro estudio (43). Por lo cual se requiere más tiempo de seguimiento para darse esa mineralización, y que pueda ser evidente radiográficamente en nuestros dos casos.

Simon et al. y Holcomb et al. (2014) demostraron que el alargamiento coronal y el engrosamiento de las paredes no es un hecho tan rápido de evidenciar y que generalmente existe una obliteración del conducto (43) (57). Para nuestro estudio por el poco tiempo de seguimiento no es posible evaluar cualitativamente el cierre apical y el engrosamiento de las paredes, por lo cual se requiere de más tiempo de seguimiento y un adecuado examen tanto clínico como radiográfico, donde se pueda medir la longitud y el espesor con programas de medición geométrica dirigido a minimizar las diferencias potenciales en las angulaciones de las radiografías (46) (57).

Ng et al. (2011) determinaron que la infección endodóntica preoperatoria se evidencia por la falta de respuesta a las pruebas de sensibilidad como la percusión horizontal y vertical y a la imagen radiográfica, y que la infección preoperatoria reduce las posibilidades de cicatrización clínica y radiográfica en un 20% comparado con los casos en donde se tenga una pulpa vital, que sería en los casos de trauma dentoalveolar, los cuales son de mediana frecuencia, con un más alto porcentaje de casos como producto de la caries, la enfermedad periodontal que conlleva a la necrosis pulpar y enfermedad periapical (25). Aunque este punto es de discusión ya que como se ha observado en el desarrollo de este estudio, la realización de una buena técnica de desinfección, seguida por el protocolo de irrigación y medicación intraconducto, logra disminuir la carga bacteriana y es posible obtener buenos resultados. Estamos de acuerdo que un espacio vacío como es el conducto radicular podría ser fácilmente colonizado de nuevo por las bacterias, es por ello que es necesario que se realice una adecuada desinfección (33), un establecimiento del coágulo de sangre (en las técnicas de revascularización convencional) o que el conducto quede completamente lleno del andamio físico que se colocó, ya sea el plasma rico en plaquetas o el soporte de colágeno o la combinación de

ambos, como es nuestro caso. Es difícil asegurar la total desinfección y el completo llenado del conducto, ya que sería necesario estudios histológicos al respecto.

El MTA debe colocarse en la zona cervical del diente y extenderse a la parte coronal del conducto radicular, evitado así la formación de tejido mineralizado en esta zona, lo cual no será beneficioso a la biomecánica del diente. Este MTA lo ha reportado Ricucci y cols (2013) como un factor decisivo para la fractura horizontal (58), aunque nosotros no lo hemos evidenciado en nuestro estudio por poseer tan poco tiempo de seguimiento, es importante que este aspecto sea tenido en cuenta en siguientes estudios.

Una de las desventajas del procedimiento de revascularización es la decoloración de la corona del diente tratado, por muchos años, esta coloración se le atribuyo a la minociclina utilizada en la pasta triantibiótica, para evitar esa pigmentación en este estudio se realizó el cambio por amoxicilina, pero aun así en el caso 2 fue evidente una pigmentación, producto del MTA que a pesar de ser blanco, no garantiza la falta de pigmentación (57).

Como se ha descrito en la literatura la obtención del coágulo de sangre después de la irritación mecánica del periápice, es un desafío actual, ya que no siempre es viable lograrlo a pesar de utilizar adecuados instrumentos y una medición exacta (57), para lo cual se ha reportado en diferentes estudios, que la utilización de plasma rico en plaquetas y demás andamios son un buen sustituto del coágulo de sangre, pudiendo mejorar el proceso de revascularización. Nuestro estudio se basó en la utilización de plasma rico en plaquetas con excelentes resultados como la disminución de la radiolucidez apical, un mayor desarrollo de la raíz, un continuo cierre apical, respuesta positiva a las pruebas de sensibilidad al frío y prueba eléctrica (56), lo cual es evidente en el seguimiento de los casos realizados, al describir balances positivos en cuanto sensibilidad, resolución periapical y cierre apical de los dientes tratados con esta técnica, indicando un proceso clínico adecuado de la revascularización a pesar del corto tiempo de seguimiento, pero con la firme convicción que es necesario tiempos de seguimientos más largos.

En la revascularización pulpar es de vital importancia que se correlacione los hallazgos clínicos del procedimiento conforme a su aspecto histológico como se ha revisado y experimentado en animales. Los hallazgos de diferentes estudios sugieren que el tejido regenerado no es del todo el tejido original, ya que se ha encontrado depósitos de tejido mineralizado a lo largo de las paredes dentinales semejando al cemento y la osteodentina. También los reportes histológicos muestran tejido mineralizado similar al hueso dentro del tejido conectivo laxo. Y el cierre apical dado más por cemento que por deposición de dentina (23) (25) (43) (56) (59). Estos reportes histológicos se han evidenciado en casos donde el tratamiento por diferentes motivos ha fracasado y ha sido necesaria la exodoncia. Para nuestro estudio no es posible determinar que tejido realmente se está formando en el proceso de revascularización, solo nos remontaremos a estudios in vivo de dientes humanos donde se ha visto los reportes histológicos.

Para lo cual es necesario que se den más estudios tanto clínicos como histológicos sobre el mecanismo de acción de la revascularización y determinar exactamente los diferentes aspectos del éxito que se alcanza con la técnica, para así poder comprender la complejidad de los aspectos que se interrelacionan y que podrían dar mejores resultados a corto plazo (23) (43).

Estamos de acuerdo con Texeira et al. (2014), los cuales afirman que la endodoncia regenerativa ha estado en gran auge desde la primera publicación del caso clínico por Trope y Branchs en el 2004, pero que a partir de ahí se generó una avalancha de casos clínicos con diferentes protocolos, lo cual es imprescindible que se estandaricen (60) aunque ya haya habido un acercamiento a la estandarización por parte de la Asociación Americana de Endodoncia mediante su comité de Endodoncia Regenerativa. Adicional, es importante que la endodoncia regenerativa pase de ser reporte de casos clínicos a un ensayo clínico aleatorizado o ensayos controlados, con poder de evidencia más alto y por lo tanto donde se pueda evidenciar mayor investigación y se genere un protocolo de atención general para la revascularización. Nosotros tomamos un protocolo propuesto y se adaptó a nuestras condiciones, pero no es nuestro fin generar sino proponer esta guía de manejo, aunque para ello sea necesario un estudio de más nivel en la evidencia científica (57) (60).

Gibbs et al. (2014) en su estudio, definió que la supervivencia del diente se podía determinar en el tiempo en que el diente estaba en boca, y el éxito clínico lo definió como el tiempo que el diente sobrevivió pero al mismo tiempo no requirió de otra intervención endodóntica (26). Aunque para nosotros estos criterios de supervivencia y éxito clínico no son evaluables por el poco tiempo de seguimiento, si es meta de este estudio lograr en todos los casos, un tiempo de supervivencia más largo de los dientes tratados con los procedimientos de revascularización.

6. Conclusiones y recomendaciones

6.1 Conclusiones

- La revascularización pulpar ha demostrado altas tasas de éxito y es una opción viable para el tratamiento de dientes inmaduros.
- Es necesario más tiempo de seguimiento de los casos clínicos realizados para determinar el total éxito de la técnica de revascularización con plasma rico en plaquetas en combinación con un soporte de colágeno tipo I.
- A pesar del poco de tiempo de seguimiento se ha evidenciado una disminución de la radiolucidez apical en los dos casos clínicos, producto de la técnica de desinfección, irrigación, medicación intraconducto y los andamios físicos colocados favoreciendo la respuesta biológica de los tejidos.
- Aunque es poco viable un estudio histológico con el fin de determinar el tejido que se está formando en los casos de revascularización, podemos inferir según los estudios ya realizados y por la respuesta del tejido a las pruebas de sensibilidad que vamos en buen camino hacia el éxito, no sin antes aclarar que es imprescindible un adecuado seguimiento clínico y radiográfico de estos casos.

6.2 Recomendaciones

- Está claro mediante estudios histológicos, la presencia de células madre en el tejido revascularizado, lo que ha sugerido que la estimulación de las células madre de la papila apical y su migración al conducto radicular juega un importante papel en el proceso de revascularización, aunque todavía no es clara la procedencia exacta de estas células progenitoras y por ello hace indicativo la revascularización solo en dientes inmaduros (43) (61) estamos de acuerdo que de encontrar el mecanismo de reclutar células madre más allá de la papila apical podría darse una fuente de tratamiento para los dientes permanentes con ápice cerrado. Lo cual es imperativo que se realicen estudios para demostrar dicha hipótesis.
- Es necesario que se genere una guía de manejo de dientes inmaduros para la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Colombia, que sea de manejo del Posgrado y del Pregrado a partir de las bases científicas, clínicas y radiográficas para un adecuado tratamiento de estos dientes.
- Evaluación del tejido formado mediante estudios histológicos en animales.
- Se requiere más tiempo de seguimiento de los casos clínicos ya realizados. Y además, la incorporación de nuevos casos que sustente el éxito de la técnica de revascularización pulpar con plasma rico en plaquetas en combinación con soportes de colágeno tipo I.
- Sugerimos realizar estudios con un nivel de evidencia más alto, donde se evidencie el manejo clínico de más casos con la técnica descrita.

A. Anexo: Consentimiento informado

**CONSENTIMIENTO INFORMADO PROCEDIMIENTO
REVASCULARIZACIÓN CON PLASMA RICO EN PLAQUETAS EN
COMBINACIÓN CON UN SOPORTE DE COLÁGENO TIPO I.
UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
POSGRADO DE ENDODONCIA**

CONSENTIMIENTO INFORMADO

CLÍNICA DE POSGRADO DE ENDODONCIA

FECHA: Día ____ Mes ____ Año ____

DATOS DE IDENTIFICACIÓN:

NOMBRE DEL PACIENTE:

NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN:

NÚMERO DE HISTORIA CLÍNICA:

REVASCULARIZACIÓN MEDIANTE PLASMA RICO EN PLAQUETAS EN COMBINACIÓN CON UN SOPORTE DE COLÁGENO TIPO I

INFORMACIÓN GENERAL

La revascularización es un procedimiento que se ha descrito a partir de varios estudios donde por medio de la inducción de los tejidos periapicales se crea un sangrado dentro del conducto radicular, después del tiempo, se ha evidenciado la continuidad fisiológica radicular y el engrosamiento de las paredes del conducto, gracias a la activación celular y a la de muchos factores que influyen en un estado de normalidad en la formación radicular.

Adicional a la inducción de los tejidos periapicales, se ha reportado el uso de matrices que aumentan el éxito en este tipo de procedimientos. El colágeno contribuye a la estabilidad celular, y por ende de los tejidos y órganos. Ayudan a mantener la estructura y la integridad, son flexibles y tienen resistencia tensora.

El colágeno es fundamental en el complejo dentinopulpar, corresponde a un gran porcentaje en estos tejidos, la dentina por ejemplo, es uno de los tejidos mineralizados del cuerpo, dentro de su composición el colágeno representa alrededor de un 20 %, se ha encontrado, que particularmente el colágeno tipo I, es el principal constituyente de la dentina y se ha utilizado para proporcionar un ambiente de cultivo tridimensional de varios tipos celulares, incluyendo las células madre de la pulpa dental. Cuando se forma un coágulo estable en combinación con una matriz artificial de colágeno se ha encontrado resolución completa de la radiolucidez apical, continuidad en el desarrollo radicular y selle apical.

El Plasma Rico en Plaquetas (PRP) contiene factores de crecimiento, estimula la producción de colágeno, recluta otras células al sitio de la lesión, produce agentes antiinflamatorios, da inicio al crecimiento vascular, induce a la diferenciación celular y controla la respuesta inflamatoria local. Por esta razón, el uso de PRP en combinación con una matriz artificial de colágeno en dientes con pulpas necróticas y ápices abiertos son capaces de regenerar los tejidos dentro del conducto radicular, gracias a la atracción y organización celular de manera tridimensional, lo cual conllevará a la deposición continua de tejido mineralizado, la formación radicular, el selle apical, y la respuesta de sensibilidad térmica.

1. Me han explicado y he comprendido satisfactoriamente la naturaleza y propósitos del tratamiento _____.
2. Autorizo la toma de muestra de sangre entera para el procesamiento y resultado final del Plasma Rico en Plaquetas que será la matriz autóloga que se utilizará en dicho procedimiento.
3. También me han aclarado todas las dudas y me han dicho los posibles riesgos y complicaciones que se pueden encontrar antes (toma de muestra), durante y después del procedimiento.

Generales:

Específicos:

4. Se realizarán controles clínicos y radiográficos posteriores al procedimiento a los 3, 6, 12, 18 y 24 meses inicialmente, a los cuales asistiré con el fin de llevar el seguimiento del mismo.

Doy mi consentimiento para que me efectúen el procedimiento descrito arriba, y los procedimientos complementarios que sean necesarios o convenientes durante la realización de éste tratamiento a juicio de los profesionales que lo lleven a cabo y que he entendido en forma clara y precisa todo lo que se me ha explicado.

Tutor Legal o Familiar:

Sé que el paciente:

_____ ha sido considerado por ahora incapaz de tomar por sí mismo la decisión, de aceptar o rechazar el procedimiento descrito arriba.

Yo, _____ con documento de identidad como aparece al pie de mi firma, doy mi consentimiento para que el (los) doctor (es) le realicen este procedimiento.

Puedo revocar este consentimiento cuando en bien del paciente se presuma oportuno.

Firma del Paciente/Tutor Legal

CC:

Parentesco:

Firma del Testigo

CC:

Hemos informado al paciente acerca del propósito y naturaleza del procedimiento descrito arriba, sus alternativas, posibles riesgos y complicaciones y de los resultados que se esperan.

Firma de Docente Encargado


Firma Residente Endodoncia

B. Anexo: Folleto explicativo

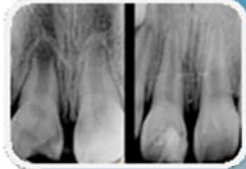
Se sella el conducto con MTA e ionómero de vidrio

3 cita:


Se colocara una resina de fotocurado que proteja el procedimiento



Se tendrán controles radiográficos cada 3, 6 meses, a 1 año para determinar el cierre del ápice y que el proceso de revascularización se este llevando adecuadamente. Recuerde que cualquier inquietud puede ser contestada por el estudiante y que su participación en este estudio es voluntaria y que en cualquier momento puede retirarse de la investigación.



Agradecemos su participación, colaboración y compromiso con el desarrollo de esta investigación.

 UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

FACULTAD DE ODONTOLÓGIA

POSGRADO DE ENDODONCIA

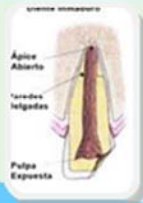
SE PODRÁ CONTACTAR CON:
LORENA BUSTOS 3012362610

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

POSGRADO DE ENDODONCIA

FACULTAD DE ODONTOLÓGIA

FOLLETO EXPLICATIVO, PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO:
“REVASCULARIZACIÓN PULPAR EN DIENTES PERMANENTES CON ÁPICE ABIERTO POR MEDIO DE LA UTILIZACIÓN DE PLASMA RICO EN PLAQUETAS EN COMBINACIÓN CON SOPORTES DE COLÁGENO TIPO I. ESTUDIO DESCRIPTIVO”



"REVASCULARIZACIÓN PULPAR EN DIENTES PERMANENTES CON ÁPICE ABIERTO POR MEDIO DE LA UTILIZACIÓN DE PLASMA RICO EN PLAQUETAS EN COMBINACIÓN CON SOPORTES DE COLÁGENO TIPO I. ESTUDIO DESCRIPTIVO"

Con este folleto queremos explicarle en que consiste nuestro proyecto de investigación y los diferentes pasos del procedimiento a los que en calidad de paciente será sometido su hijo (a) si decide aceptar.

En primer lugar se aclara que este proyecto es realizado por un estudiante del posgrado de Endodoncia de la Universidad Nacional de Colombia.

Lo que se busca con esta investigación es describir el proceso de revascularización mediante la utilización de plasma rico en plaquetas en combinación con un soporte de colágeno tipo I, con el fin de lograr el cierre apical y la formación de la raíz. Ya que debido a diferentes patologías como caries, enfermedad periodontal y trauma dentoalveolar, no podrá continuar el desarrollo de la raíz.

En este momento el diente a tratar tiene el ápice abierto y buscamos tener un ápice cerrado, los pasos para ello serán:



ÁPICE ABIERTO ÁPICE CERRADO

1 cita:

Después de realizar la historia clínica completa. Se realizará la anestesia del diente, apertura de la cavidad, y posterior aislamiento del mismo del resto de la boca.

Se retirará todo material necrótico del diente, y se lavará el conducto con sustancias desinfectantes como el hipoclorito de sodio al 1.5%.

Se inspeccionará el conducto con microscopio y se medirá la longitud del diente con limas tipo K 10 o 15, e irrigación de nuevo con hipoclorito de sodio al 1.5% . mas secado del conducto.

luego se coloca dentro del conducto un medicamento conocido como pasta triantibiótica que consta de: metronidazol, amoxicilina, ciprofloxacina con el fin de lograr una desinfección adecuada del conducto.

Se dejara un cemento temporal y nos veremos dentro de 3 semanas para continuar con el tratamiento.

2 cita :

Se evaluará la respuesta del diente a la primera fase del tratamiento.

Se realiza la toma de la muestra sanguínea en tubos de 10 ml con anticoagulante y se centrifuga



















Para obtener el plasma rico en plaquetas.

Luego se volverá a realizar la anestesia y aislamiento del diente. Se retirará el cemento temporal. Se volverá a limpiar el conducto con hipoclorito y sustancias como el EDTA al 17%, se seca los conductos .

Se irritará mecánicamente con una lima , el ápice para que sangre los tejidos periapicales y se forme un coágulo que llene el conducto.

Se inyecta el plasma rico en plaquetas al interior del conducto hasta que quede lleno. Posterior a ello se coloca el soporte de colágeno tipo I y se condensa.

Bibliografía

1. Shah N, Logani A, Bhaskar U, and Aggarwal V. Efficacy of Revascularization to Induce Apexification/Apexogenesis in Infected, Nonvital, Immature Teeth: A Pilot Clinical Study. *J Endod* 2008;34:919–925
2. Wigler R, Kaufman A, Lin S, Steinbock N, Molina H, and Torneck C. Revascularization: A Treatment for Permanent Teeth with Necrotic Pulp and Incomplete Root Development. *J Endod* 2013;39:319–326
3. Ding R, Cheung G, Chen J, Zhe Yin X, Wang Q and Zhang C. Pulp Revascularization of Immature Teeth With Apical Periodontitis: A Clinical Study. *J Endod* 2009;35:745–749
4. Banchs F and Trope M. Revascularization of Immature Permanent Teeth With Apical Periodontitis: New Treatment Protocol?. *J Endod* 2004; 30,4: 196-200
5. Witherspoon D, Small J, Regan J and Nunn M. Retrospective Analysis of Open Apex Teeth Obturated with Mineral Trioxide Aggregate. *J Endod* 2008;34: 1171–1176
6. Becerra P, Ricucci D, Loghin S, Gibbs J, MAS and Lin L. Histologic Study of a Human Immature Permanent Premolar with Chronic Apical Abscess after Revascularization/ Revitalization. *J Endod* 2013;:-1–7. Article in Press
7. Soares A, Lins F, Nagata J, Almeida B, Zaia A, Ferraz C, Almeida J and Souza F. Pulp Revascularization after Root Canal Decontamination with Calcium Hydroxide and 2% Chlorhexidine Gel. *J Endod* 2013;39:417–420
8. Ostby BN. The role of the blood clot in endodontic therapy: an experimental histologic study. *Acta Odontol Scand* 1961;19:324 –53
9. Trope M. Regenerative Potential of Dental Pulp. *J Endod* 2008;34:S13-S17
10. Petrino J, Boda K, Shambarger S, Bowles W and McClanahan S. Challenges in Regenerative Endodontics: A Case Series. *J Endod* 2010;36:536–541

11. Hoshino E, Kurihara-Ando N, Sato I. In-vitro antibacterial susceptibility of bacteria taken from infected root dentine to a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline. *Int Endod J* 1996;29:125–30
12. Chuensombat S, Khemaleelakul S, Chattipakorn S and Srisuwan T. Cytotoxic Effects and Antibacterial Efficacy of a 3-Antibiotic Combination: An In Vitro Study. (*J Endod* 2013;39:813–819)
13. Jadhav G, Shah N and Logani A. Revascularization with and without Platelet-rich Plasma in Nonvital, Immature, Anterior Teeth: A Pilot Clinical Study. *J Endod* 2012;38:1581–1587
14. Shimizu E, Jong G, Partridge N, Rosenberg P and Lin L. Histologic Observation of a Human Immature Permanent Tooth with Irreversible Pulpitis after Revascularization/Regeneration Procedure. *J Endod* 2012;38:1293–1297
15. Torabinejad M and Turman M. Revitalization of Tooth with Necrotic Pulp and Open Apex by Using Platelet-rich Plasma: A Case Report. *J Endod* 2011;37:265–268
16. Law A. Considerations for Regeneration Procedures. *J Endod* 2013;39:S44–S56
17. Prescott R, Alsanea R, Fayad M, Johnson B, Wenckus C, Hao J, John A and George A. In Vivo Generation of Dental Pulp-like Tissue by Using Dental Pulp Stem Cells, a Collagen Scaffold, and Dentin Matrix Protein 1 after Subcutaneous Transplantation in Mice. *J Endod* 2008;34: 421– 426
18. Murray P, Garcia F and Hargreaves K. Regenerative Endodontics: A Review of Current Status and a Call for Action. *J Endod* 2007;33:377–390
19. Hargreaves K, Diogenes A and Teixeira F. Treatment Options: Biological Basis of Regenerative Endodontic Procedures. *J Endod* 2013;39:S30–S43
20. Huang G, Sonoyama W, Liu Y, Wang S, Shi S. The Hidden Treasure in Apical Papilla: The Potential Role in Pulp/Dentin Regeneration and BioRoot Engineering. *Journal of Endodontics*. 2008; 34(645-651).
21. Xu Chen, Zhi-Fan Bao, Yao Liu, Ming Liu Xiao-Qing Jin and Xue-Bin Xu. Regenerative Endodontic Treatment of an Immature Permanent Tooth at an Early Stage of Root Development: A Case Report. *Journal of Endodontics*. 2013; 39 (719–722).

22. Torabinejad M and Abu-tahun I. Management of teeth with necrotic pulps and open ápices. *Endodontic Topics* 2012, 23, 105–130
23. Diogenes A R, Ruparel N B, Teixeira F B and Hargreaves K M, Translational Science in Disinfection for Regenerative Endodontics. *J Endod* 2014;40:S52–S57
24. Malhotra N. and Mala K. Regenerative endodontics as a tissue engineering approach: Past, current and future. *Aust Endod J* 2012; 38: 137–14855
25. Fouad A.E. and Verm P, Healing after Regenerative Procedures with and without Pulpal Infection. (*J Endod* 2014;40:S58–S64)
26. Alobaid A.S, Cortes L.M, Lo J, Nguyen T.T, Albert J, Abu-Melha A.S, Lin L.M, and Gibbs J.L, Radiographic and Clinical Outcomes of the Treatment of Immature Permanent Teeth by Revascularization or Apexification: A Pilot Retrospective Cohort Study. (*J Endod* 2014;40:1063–1070)
27. Yassen G, Chu T, Eckert G and Platt J. Effect of Medicaments Used in Endodontic Regeneration Technique on the Chemical Structure of Human Immature Radicular Dentin: An In Vitro Study. (*J Endod* 2013;39:269–273)
28. Shahrokh Shabahang, Treatment Options: Apexogenesis and Apexification, (*J Endod* 2013;39:S26–S29)
29. Kim J, Kim Y, Shin S-J, Park J-W and Jung II-Y. Tooth Discoloration of Immature Permanent Incisor Associated with Triple Antibiotic Therapy: A Case Report. (*J Endod* 2010;36:1086–1091)
30. Gawthaman M, Vinodh S, Mathian V, Vijayaraghavan R, and Karunakaran R. Apexification with calcium hydroxide and mineral trioxide aggregate: Report of two cases. *J Pharm Bioallied Sci.* 2013 July; 5(Suppl 2): S131–S134
31. Martin G, Ricucci D, Gibbs J.L and Lin L.M. Histological Findings of Revascularized/Revitalized
32. Immature Permanent Molar with Apical Periodontitis Using Platelet-rich Plasma. (*J Endod* 2013;39:138–144)
33. Lin L, Shimizu E, Gibbs J.L, Loghin S and Ricucci D, Histologic and Histobacteriologic Observations of Failed Revascularization/Revitalization Therapy: A Case Report. *J Endod* 2014;40:291–295)
34. Nagata J.Y, Soares A.J, DDS, Souza-Filho F.J, Zaia A.A, Ferraz C.C, , Almeida J.F and Gomes B, Microbial Evaluation of Traumatized Teeth Treated with Triple

- Antibiotic Paste or Calcium Hydroxide with 2% Chlorhexidine Gel in Pulp Revascularization. *J Endod* 2014;40:778–783
35. Trevino EG, Patwardhan AN, Henry MA, et al.. Effect of irrigants on the survival of human stem cells of the apical papilla in a platelet-rich plasma scaffold in human root tips. *J Endod* 2011;37:1109–15.
36. Pang N.S, Lee S.J, Kim E, Shin D.M, Cho S.W, Park W, Zhang X and Jung Y, Effect of EDTA on Attachment and Differentiation of Dental Pulp Stem Cells. (*J Endod* 2014;40:811–817
37. Phumpatrakom. P and Srisuwan T, Regenerative Capacity of Human Dental Pulp and Apical Papilla Cells after Treatment with a 3-Antibiotic Mixture. (*J Endod* 2014;40:399–405)
38. Palasuk J, Kamocki K, Hippenmeyer L, Platt J.A, Spolnik K.J, Gregory R.L, and Bottino M.C, Bimix Antimicrobial Scaffolds for Regenerative Endodontics. Article in Press. (*J Endod* 2014;1–6)
39. Nosrat A, Seifi A and Asgary S. Regenerative Endodontic Treatment (Revascularization) for Necrotic Immature Permanent Molars: A Review and Report of Two Cases with a New Biomaterial. *J Endod* 2011;37:562–567
40. Anibal d, Henry M, Teixeira F and Hargreaves K. An update on clinical regenerative endodontics. *Endodontic Topics* 2013, 28, 2–23
41. Sharma L, Sharma A and Dias G. Advances in regeneration of dental pulp – a literatura Review. *Journal of Investigative and Clinical Dentistry* 2013, 4, 1–14
42. Ruparel NB, Teixeira FB, Ferraz CC, et al.. Direct effect of intracanal medicaments on survival of stem cells of the apical papilla. *J Endod* 2012;38:1372–5
43. Simon S R, Tomson P.L, and Berdal A, Regenerative Endodontics: Regeneration or Repair?. *J Endod* 2014;40:S70–S75
44. Colombo J.S, Moore A. N, Hartgerink J.D, and D'Souza R.N. Scaffolds to Control Inflammation and Facilitate Dental Pulp Regeneration. (*J Endod* 2014;40:S6–S12)
45. Chandrasana S, Murray P and Namerow K. Proliferation of Mature Ex Vivo Human Dental Pulp Using Tissue Engineering Scaffolds. (*J Endod* 2011;37:1236–1239)

46. Nagy M, Tawfik H.E, Hashem A. A and Abu-Seida A, Regenerative Potential of Immature Permanent Teeth with Necrotic Pulps after Different Regenerative Protocols. (J Endod 2014;40:192–198)
47. Zhang D.D, Chen X, Bao Z-F, Chen M, Ding Z-J and Zhong M. Histologic Comparison between Platelet-rich Plasma and Blood Clot in Regenerative Endodontic Treatment: An Animal Study. (J Endod 2014;40:1388– 1393)
48. Geisler TM. Clinical Considerations for Regenerative Endodontic Procedures. Dent Clin N Am. 2012; 56(603–626)
49. Zhu X, Zhang Ch, Huang G, Cheung G, Dissanayaka W and Zhu W Transplantation of Dental Pulp Stem Cells and Platelet-rich Plasma for Pulp Regeneration. (J Endod 2012;38:1604–1609)
50. Li X, Hou J, Wu B, Chen T and Luo A, Effects of Platelet-rich Plasma and Cell Coculture on Angiogenesis in Human Dental Pulp Stem Cells and Endothelial Progenitor Cells (J Endod 2014;1–5). Article in press
51. Torabinejad M and Faras H. A Clinical and Histological Report of a Tooth with an Open Apex Treated with Regenerative Endodontics Using Platelet-rich Plasma. (J Endod 2012;38:864–868)
52. Ashammakhi E. N, Reis R and Chiellini E. Topics in Tissue Engineering, Vol. 3, 2007
53. Murray PE. Constructs and Scaffolds Employed to Regenerate Dental Tissue. Dent Clin N Am. 2012; 56(577–588)
54. Bustos R, Suesca E, Millán D, González J.M and Fontanilla M.R. Real-Time Quantification of Proteins Secreted by Artificial Connective Tissue Made from Uni-Or Multidirectional Collagen I Scaffolds and Oral Mucosa Fibroblasts. Anal. Chem. 2014, 86, 2421–2428
55. Kerstin M. Galler RNDMF. Dentin Conditioning Codetermines Cell Fate in Regenerative Endodontics. Journal of Endodontics. 2011; 37(1536–1541)
56. Torabinejad M, Faras H, Corr R, Wright K.R and Shabahang S. Histologic Examinations of Teeth Treated with 2 Scaffolds: A Pilot Animal Investigation. (J Endod 2014;40:515–520)
57. Kabler B, Mistry S, Moule A, Ringsmuth A, Case P, Thomson A and Holcombe T, Revascularization Outcomes: A Prospective Analysis of 16 Consecutive Cases. (J Endod 2014;40:333–338)

58. Shimizu E, Ricucci D, Albert J, et al.. Clinical, radiographic, and histological observation of a human immature permanent tooth with chronic apical abscess after revitalization treatment. *J Endod* 2013;39:1078–83
59. Becerra P, Ricucci D, Loghin S, Gibbs J.L and Lin L, Histologic Study of a Human Immature Permanent Premolar with Chronic Apical Abscess after Revascularization/ Revitalization. (*J Endod* 2014;40:133–139)
60. Hargreaves K.M, Diogenes A, Teixeira F.B. Paradigm Lost: A Perspective on the Design and Interpretation of Regenerative Endodontic Research. (*J Endod* 2014;40:S65–S69)
61. Law AS. Outcomes of Regenerative Endodontic Procedures. *Dent Clin N Am.* 2012; 56(627–637)