



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

TESIS

**“EFECTO DEL HIDRÓXIDO DE CALCIO Y DEL ALOE
VERA SOBRE LA VIABILIDAD DE CÉLULAS TRONCALES
MESENQUIMALES HUMANAS.
PROPUESTA DE UN MODELO EXPERIMENTAL”**

PRESENTA:

C.D. CYNTHIA VERÓNICA MURILLO GAONA

PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN ENDODONCIA

ASESOR

**DOCTOR EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS
DEYANIRA SERRATO OCHOA**

COASESOR

**DOCTOR EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS
RENATO NIETO AGUILAR**

Morelia, Michoacán; Febrero 2015.

**“EFECTO DEL HIDRÓXIDO DE CALCIO Y DEL ALOE
VERA SOBRE LA VIABILIDAD DE CÉLULAS TRONCALES
MESENQUIMALES HUMANAS.
PROPUESTA DE UN MODELO ESPERIMENTAL”.**

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mis padres Horacio Murillo Cortés y Jovita Gaona Alcántar que nunca dudaron de mí ni de mis éxitos profesionales, gracias por sus grandes enseñanzas y por darme las armas necesarias para ser cada día una mejor persona y un mejor ser humano, por su grandioso esfuerzo, dedicación e inmenso amor.

A mi pequeña Ximenita que fue y sigue siendo el motor de mi vida en esta trayectoria y gracias por su paciencia, por su gran amor, por su confianza y por la inmensa felicidad que provoca en mí con sólo verla sonreír.

A mi prometido Raúl Godínez Guzmán que con su gran amor hizo que éste camino fuera más fácil, gracias por sus palabras de aliento cuando más las necesité y sobre todo por siempre recordarme que nada es imposible.

A mi hermano Horacio Murillo Gaona por ser un gran apoyo en mi vida y gracias por sus sabios consejos en esta travesía.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco principalmente a Dios y a la Virgencita de Guadalupe por sus grandes bendiciones.

A mi asesor de tesis la Dra. Deyanira Serrato Ochoa ya que con su conocimiento y su enorme apoyo, me permitió culminar esta investigación, en conjunto al programa Conacyt, por el otorgamiento de una beca financiada con recursos para nuevos profesores de tiempo completo del PRODEP 2013.

A mi coasesor de tesis el Dr. Renato Nieto Aguilar por su supervisión y asesoramiento en la presente investigación.

A mis profesores por brindarme sus conocimientos y las armas para triunfar en mi vida profesional, a los administrativos que permiten el desarrollo de las actividades en el Posgrado de la Facultad de Odontología de la UMSNH.

ÍNDICE

RELACIÓN DE FIGURAS Y TABLAS.....	5
GLOSARIO.....	11
RESUMEN.....	13
PALABRAS CLAVE.....	13
ABSTRACT.....	14
KEYWORDS.....	14
INTRODUCCIÓN.....	15
ANTECEDENTES GENERALES.....	22
ANTECEDENTES ESPECÍFICOS.....	136
JUSTIFICACIÓN.....	143
OBJETIVO GENERAL.....	144
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	145
HIPÓTESIS.....	146
MATERIALES Y MÉTODOS.....	147
RESULTADOS	149
ANÁLISIS Y DISCUSIÓN.....	151
CONCLUSIONES.....	160
SUGERENCIAS PARA TRABAJOS FUTUROS.....	161
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	162

RELACIÓN DE FIGURAS Y TABLAS

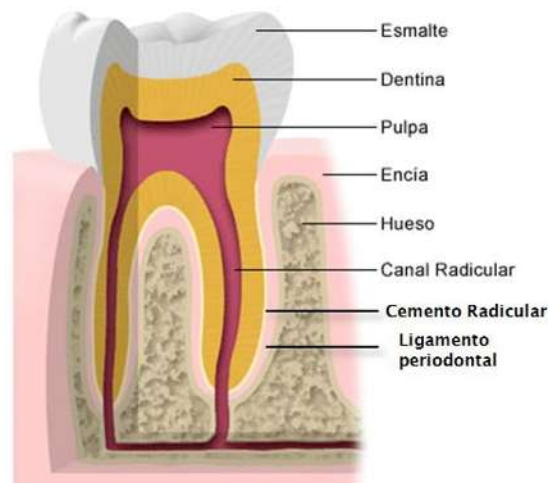


Figura 1. Imagen donde se observa la estructura dental y sus tejidos ([Google imágenes](#), [Tejidos dentarios](#)).

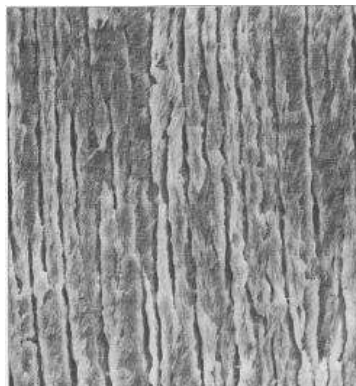


Figura 2. Se observan los prismas dispuestos del esmalte paralelamente en un corte longitudinal M.E. ([M. E. Gómez de Ferraris, et al., 2010](#)).

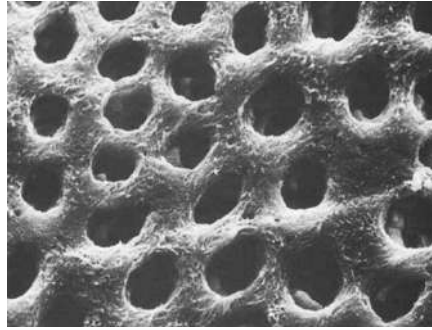


Figura 3. Túbulos dentinarios cortados transversalmente. MEB, x 3.000 (M. E. Gómez de Ferraris, *et al.*, 2010).

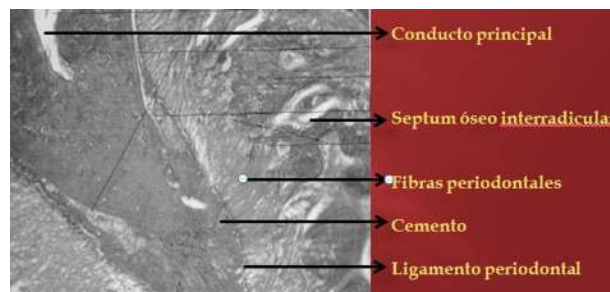


Figura 4. Se observa el sector de la región interradicular. Se muestra el conducto principal, septum óseo interradicular o hueso alveolar, las fibras periodontales, el cemento y el LP, x100 (M. E. Gómez de Ferraris, *et al.*, 2010).



Figura 5. En esta imagen se observa el aislamiento absoluto con dique de hule (Gerald N. Glickman, *et al.*, 2011).



Figura 6. En esta imagen se observa un premolar ya con la preparación del acceso coronal. ([Google imágenes](#), [Acceso coronal](#)).



Figura 7. En esta imagen se ilustra la técnica manual para la limpieza y conformación dental ([Gerald N. Glickman, et al., 2011](#)).



Figura 8. Se observa la técnica de irrigación endodóntica ([Google imágenes](#), [Irrigación endodoncia](#)).



Figura 9. Radiografía postoperatoria de un primer molar superior derecho, con longitud, densidad y conicidad adecuadas ([Gerald N. Glickman, et al., 2011](#)).



Figura 10. Hidróxido de Calcio ([Google imágenes, Hidródo de Calcio](#)).



Figura 11. Pasta triantibiótica ([Carol Abdulmesih T., 2010](#)).



Figura 12. Estudio radiográfico de un tratamiento de apicogénesis. (A) Radiografía preoperatoria; (B) después del recubrimiento pulpar del cemento CEM; (C) después de restaurar el diente con el segmento separado; (D) 6 meses después del tratamiento de apicoformación; (E) 12 meses después del tratamiento ([PubMed](#), [Apicogénesis](#)).



Figura 13. Cemento MTA ([Google imágenes](#), [MTA](#)).



Figura 14. La radiografía muestra un premolar inferior inmaduro necrótico con ápice abierto ([A Thomson, et al., 2010](#)).



Figura 15. Gel extraído de la hoja de Aloe Vera.

Tipo de fibra	Función	Diámetro (μm)	Velocidad de conducción (m/s)
Aα	Motora, propiocepción	12-20	70-120
Aβ	Presión, tacto	5-12	30-70
Aγ	Motora en los husos musculares	3-6	15-30
Aδ	Dolor, temperatura, tacto	1-5	6-30
B	Autónoma preganglionar	<3	3-15
C raíz dorsal	Dolor	0,4-1,0	0,5-2,0
Simpática	Simpática posganglionar	0,3-1,3	0,7-2,3

Tabla 1. Clasificación de las fibras nerviosas (Keijo Luukko, *et al.*, 2011).

Fibra	Mielinización	Localización de los terminales	Características del dolor	Umbral de estimulación
Aδ	Si	Principalmente en la región pulpodentinaria	Agudo, punzante	Relativamente bajo
C	No	Probablemente distribuidos a través de la pulpa	Ardiente, menos soportable que las sensaciones de las fibras Aδ	Relativamente alto, usualmente asociado a lesión tisular

Tabla 2. Características de las fibras sensoriales (Keijo Luukko, *et al.*, 2011).

GLOSARIO

ENDODONCIA REGENERATIVA: Procedimientos biológicamente basados y fisiológicamente diseñados para tratar de reemplazar estructuras dañadas del diente, incluyendo estructuras de dentina y de la raíz, así como células del complejo dentino-pulpar ([AAE, 2013](#)).

CÉLULAS TRONCALES DEL LIGAMENTO PERIODONTAL: Son células madre capaces de proliferación y diferenciación en células especializadas ([AAE, 2013](#)).

HIDRÓXIDO DE CALCIO: Polvo inodoro, básicamente fuerte, blanco que se utiliza con frecuencia como un medicamento intraconducto en procedimientos no quirúrgicos de endodoncia y también en lesiones traumáticas secundarias; fomenta la calcificación; puede prepararse de diferentes formas para utilizarlo como recubrimiento pulpar, pulpotomía, apicoformación, apicogénesis, en procedimientos de la dentición secundaria; reabsorción; parece inhibir la resorción inflamatoria y demuestra la actividad antimicrobiana ([AAE, 2013](#)).

MTA: Es un cemento que se utiliza como material terminal de relleno de conductos para la reparación de una perforación, como recubrimiento pulpar y como una barrera del extremo de la raíz en dientes con un ápice abierto ([AAE, 2013](#)).

PASTA TRI Y POLIANTIBIOTICA: Es una combinación de tres antibióticos que se utilizan para desinfectar a fondo el sistema de conductos; típicamente se utiliza para endodoncia regenerativa ([AAE, 2013](#)).

ALOE VERA: El aloe vera es una planta tropical perteneciente a la familia Liliaceae, que se utiliza como un acelerador de curación en pequeñas heridas y quemaduras por su efecto antimicrobiano y la acción de epitelización en piel dañada ([Prakash P. Athiban, et al., 2012](#)).

APICOGÉNESIS: Es un procedimiento de la terapia pulpar vital que se lleva a cabo para fomentar la continuidad fisiológica del desarrollo y formación del extremo apical de la raíz dental; utilizado con frecuencia para describir la terapia pulpar vital realizada para alentar la continuación de este proceso ([AAE, 2013](#)).

APICOFORMACIÓN: Es un método para inducir una barrera calcificada en una raíz con un ápice abierto o en raíces incompletas de dientes en desarrollo con pulpas necróticas ([AAE, 2013](#)).

RESUMEN

El tratamiento de los dientes necróticos inmaduros es un reto en endodoncia. El desarrollo de las raíces tras una necrosis pulpar puede conducir a una débil estructura de la raíz con paredes dentinales delgadas, lo que hace que el diente sea susceptible a las fracturas y reduce su tasa de supervivencia (Cvek M, 1992).

En la literatura disponible sobre la regeneración y la revascularización pulpar aún no se ha encontrado un protocolo de tratamiento ideal. Recientemente el potencial para las terapias de regeneración y revascularización pulpar exitosas está aumentando debido al conocimiento de las células madre de la pulpa dental.

Éste trabajo revisa el progreso actual y las estrategias viables para la regeneración y la revascularización pulpar humana, y de esta manera, indicar el método más eficaz en base a la literatura existente para aumentar el grado de éxito en procesos de apicoformación.

PALABRAS CLAVE

Hidróxido de calcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$), aloe vera, revascularización, regeneración pulpar, pasta triantibiótica (TAP), pasta doble (DAP) y células madre en endodoncia.

ABSTRACT

Immature necrotic teeth treatment in endodontics is still a challenge. Roots developed during or after a pulpar necrosis may generate a weak structure at apicogenesis state which produce in turn thin dentin walls which increases fracture rate and reduces survival tooth rate.

Pulp regeneration and revascularization information in the literature has not reported an efficient protocol to reach it. By the knowledge about stem cells of dental pulp, may guide protocols in order to regenerate and revascularize efficiently dental pulp organ.

This paper reviews the actual progress and viable strategies for human pulp regeneration and revascularization. In this manner the purpose would be to find the most effective method reported in the literature in order to increase success rates on revascularization processes.

KEYWORDS

Calcium hydroxide (Ca (OH) ₂), aloe vera, revascularization, regeneration pulp triantibiótica paste (TAP), double pasta (DAB) and stem cells.

INTRODUCCIÓN

El hidróxido de calcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) desde su introducción en Odontología ([Hermann 1928](#)) ha sido ampliamente utilizado como un agente mineralizador, así como un medicamento antimicrobiano eficaz. El ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) todavía se considera como el estándar de oro para la comparación y evaluación de los medicamentos intraconductos ([Goldberg et al., 2008](#)).

Históricamente, el tratamiento de elección en los dientes inmaduros necróticos (apicoformación) para inducir la formación de una barrera de tejido duro apical, es la colocación de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ en múltiples visitas ([Rafter M, 2005](#)).

El uso del $\text{Ca}(\text{OH})_2$ para la formación de la barrera apical ([Rafter M. 2005](#)) tiene una tasa de éxito de un 74-100% de los casos independientemente de la marca patentada utilizada. La duración media del tiempo de formación de la barrera apical es aproximadamente de 5 a 20 meses. Mientras que la tasa de éxito en la formación de la barrera apical utilizando $\text{Ca}(\text{OH})_2$ es alta, el seguimiento a largo plazo de estos dientes es necesario, lo cual puede generar problemas como la falta de control de la infección, la recurrencia de la infección y la fractura radicular cervical ([Sheehy EC et al., 1997](#)).

Los procedimientos de la endodoncia regenerativa se basan en los principios de la ingeniería de tejidos que tienen como objetivo el desarrollo de nuevos tejidos para reemplazar la pérdida o mal funcionamiento de los órganos mediante el uso de una fuente de células madre, un andamio tridimensional para el crecimiento de

estas células y moléculas de señalización ([Nakashima M, et al., 2005](#); [Sun HH, et al., 2011](#); [Hargreaves KM, et al., 2008](#)). Los procedimientos alternativos de regeneración más comunes inducen la formación de coágulos de sangre y trasplante de células. Las células madre mesenquimales de la médula ósea (MSC) han sido utilizadas como una fuente alternativa para la regeneración pulpar en dientes de perro ([Ishizaka R, et al., 2012](#)).

El objetivo ideal del tratamiento de las enfermedades establecidas como pulpitis irreversible y periodontitis apical, es lograr la cicatrización de heridas. La cicatrización puede resultar en la reparación o regeneración. El objetivo final de la curación de la herida es restablecer la arquitectura original y la función del órgano lesionado. La cicatrización de la pulpitis irreversible y la periodontitis apical requiere del reclutamiento y diferenciación de células progenitoras/madre de las células somáticas del tejido comprometido.

La infección induce a una destrucción inmuno-inflamatoria del tejido, que dificulta el potencial de la regeneración de los tejidos. Independientemente de los biomateriales y las técnicas utilizadas en la terapia endodóntica, el control de la infección juega un papel importante en la regeneración y reparación de la cicatrización de las heridas pulpares y periapicales.

Los procedimientos regenerativos en endodoncia son de origen biológico, cuyo objetivo es sustituir fisiológicamente estructuras dañadas del diente, incluyendo a la dentina y a las estructuras de la raíz, así como las células del complejo dentino-pulpar ([AAE 2012](#)).

Los procedimientos regenerativos generalmente abogan por la colocación de una pasta triantibiótica para eliminar la infección intraradicular que se considera como un requisito obligatorio para el éxito (Steiner *et al.*, 1971; Torneck *et al.*, 1973; Baldassari-Cruz *et al.*, 1998; Andreasen *et al.*, 1994). La pasta triantibiótica consta de una combinación de ciprofoxacilina, metronidazol y minociclina que ha demostrado eliminar de forma fiable las bacterias en la dentina de la raíz infectada mientras que los respectivos fármacos utilizados sólo han reducido sustancialmente a las bacterias (Hoshino E, *et al.*, 1996). Esta combinación de fármacos también ha demostrado ser eficaz en la eliminación de bacterias en las profundas capas de la dentina en el conducto radicular (Sato T, *et al.*, 1993). Sin embargo, una desventaja de esta técnica es la decoloración de la corona del diente, presumiblemente debido a la minociclina (Reynolds K, *et al.*, 2009). Sato y cols., 1993, estudiaron la eficacia antibacteriana de una variedad de combinaciones de antibióticos y se encontró que la amoxicilina, que se utiliza como un tercer antibiótico, también fue tan eficaz como la minociclina cuando se utiliza en combinación con ciprofloxacina y metronidazol en la eliminación de las bacterias (Sato T, *et al.*, 1993).

La revascularización es un nuevo procedimiento de tratamiento que puede reemplazar a los procedimientos de la apicoformación (Iwaya *et al.*, 2001; Banchs *et al.*, 2004; Chueh *et al.*, 2006; Jung *et al.*, 2008; Ding *et al.*, 2009; Chueh *et al.*, 2009; Reynolds K, *et al.*, 2009), en un diente permanente inmaduro con pulpa necrótica, periodontitis apical y/o absceso.

Recientemente, una serie de informes y de casos han descrito el desarrollo continuo de las raíces e incluso las respuestas a las pruebas de sensibilidad pulpar en dientes inmaduros necróticos con sistemas de conductos radiculares infectados, incluyendo aquellos con tracto fistuloso ([Iwaya SI, et al., 2001](#); [Banchs F; et al., 2004](#); [Jung IY, et al., 2008](#); [Thibodeau B, et al., 2007](#); [Chueh LH, et al., 2006](#); [Ding RY, et al. 2009](#); [Reynolds K, et al., 2009](#)). El procedimiento requiere de la mínima instrumentación o sin ésta, pero con abundante irrigación antiséptica de los conductos junto con la desinfección mediante el uso de la pasta triantibiótica que consta de ciprofloxacina, metronidazol y minociclina o con hidróxido de calcio. Estos procedimientos de revascularización han demostrado radiográficamente que inducen mayor engrosamiento de las paredes del conducto por la deposición de tejido duro y el desarrollo radicular continuo en los dientes permanentes inmaduros con pulpa necrótica, periodontitis apical y absceso ([Iwaya et al., 2001](#); [Banchs Trope 2004](#); [Chueh et al., 2006](#); [Jung et al., 2008](#); [Ding et al., 2009](#)). Se induce el sangrado intraconducto para la revascularización ([Chueh et al., 2006](#)). La naturaleza precisa de los tejidos duros formados dentro del espacio del conducto y el desarrollo radicular continuo de los dientes permanentes inmaduros con periodontitis apical / absceso siguiendo los procedimientos de revascularización en los seres humanos no se conoce, porque no hay estudios histológicos disponibles.

Si los tejidos presentes dentro del espacio del conducto en dientes permanentes inmaduros de humanos con periodontitis apical o absceso después de los procedimientos de revascularización son diferentes a los tejidos de origen, entonces la revascularización será un proceso reparativo con la pérdida de la función biológica de la pulpa.

La ingeniería de los tejidos de órganos, es la ciencia basada en los principios fundamentales que implica la identificación de las células apropiadas, el desarrollo favorable de andamios y la comprensión de la morfogenética de las señales necesarias para inducir a las células a generar tejido de un órganos ([Luciano Casagrande et al., 2011](#)). En regeneración tisular o ingeniería de tejidos, es necesario que las células madre sean entregadas al sitio de destino preciso para que puedan instruir a diferenciarse en células del tejido comprometido ([Nakashima et al., 2005](#)).

Las células troncales o células madre constituyen la fuente diferenciada de células para la generación de los tejidos que están enfermos o lesionados después del nacimiento ([Luciano Casagrande 2011](#)). Son células no especializadas que tienen la capacidad de auto-renovación y son capaces de generar tejidos complejos y órganos ([van der Kooy D, Weiss S, 2000](#)). Para la regeneración del tejido pulpar, las células madre mesenquimales de los tejidos periapicales deben ser capaces de diferenciarse en odontoblastos ([Shi et al., 2005](#)). Las células madre mesenquimales tienen el potencial de diferenciarse en células de tejidos

específicos ([Wagers et al., 2004](#); [Bianco et al., 2008](#)). Estas células tendrán que ser capaces de transdiferenciarse en células del tejido para promover el desarrollo continuo de la raíz.

Aunado a lo anterior, y por el grado de citotoxicidad desencadenado por este tipo de materiales obturantes, elementos irrigantes, que obstaculizan la preservación de las células del ligamento periodontal como parte promotora en procedimientos de apicoformación, la literatura en los últimos años ha retomado el empleo de plantas medicinales como alternativas de tratamientos y así mejorar la calidad de vida, de los pacientes. Esto surge por las propiedades terapéuticas de las plantas, que son útiles en la curación de diversas enfermedades, con la ventaja de ser 100% naturales. Por tanto, en este trabajo nosotros estudiaremos como una alternativa de tratamiento para favorecer la apicoformación, el aloe vera.

El Aloe vera, es una planta tropical perteneciente a la familia Liliaceae, que se utiliza como un acelerador de curación en pequeñas heridas y quemaduras por su efecto antimicrobiano y la acción de epitelización en piel dañada ([Prakash P Athiban, et al., 2012](#)). Acemanano es el nombre dado a la fracción principal de hidratos de carbono, un polisacárido o una mezcla de polisacáridos, obtenidos a partir del gel de la hoja de Aloe vera. El Acemanano se sabe que tienen diversas actividades biológicas, incluyendo atributos inmunomoduladores y antitumorales. Estudios han demostrado que el AV tiene actividad antiinflamatoria y que aumenta

el contenido de colágeno dentro de las heridas. El Aloe vera, también tiene potencial antibacteriano, antimicótico y antiviral ([Prakash P. Athiban, et al., 2012](#)).

De acuerdo a lo anteriormente citado, se pretende evaluar a las células troncales del ligamento peridodotal para favorecer la apicoformación, al emplear el hidróxido de calcio químicamente puro al mezclarlo con Aloe Vera 100% puro, mediante la propuesta de un protocolo que permita dicho objetivo y generado a través de una búsqueda en la literatura.

ANTECEDENTES GENERALES

El conjunto de tejidos dentarios está constituido por esmalte, dentina, cemento, pulpa, ligamento periodontal y hueso alveolar (Fig.1) ([Julio Barrancos Mooney et al., 2006](#)).

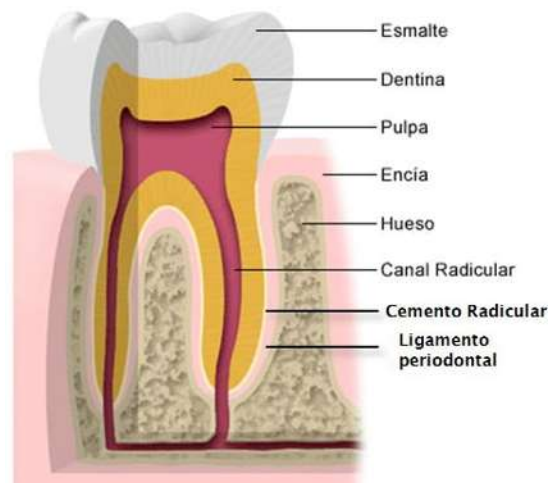


Figura 1. Imagen donde se observa la estructura dental y sus tejidos ([Google imágenes, Tejidos dentarios](#)).

ESMALTE

El esmalte es un material extracelular libre de células. Las células secretoras del tejido adamantino son los ameloblastos (que se diferencian a partir del epitelio interno del órgano del esmalte), tras completar la formación del esmalte, involucionan y desaparecen durante la erupción dentaria por un mecanismo de apoptosis. Esto implica que no hay crecimiento ni nueva aposición de esmalte después de la erupción. El esmalte está mineralizado y su dureza es mayor que la de los tejidos calcificados. Su elemento básico es el prisma adamantino, constituido por cristales de hidroxiapatita. La sustancia orgánica del esmalte solo

representa el 1.8% del peso del esmalte. Está constituida principalmente por proteínas y lípidos. El esmalte superficial en un espesor de 0.1 a 0.2% es más duro y posee más materia orgánica que el resto del esmalte. Contiene una dureza de 5 según la escala de Mohs. La composición química del esmalte contiene 95% de sustancia inorgánica, 1.8% de sustancia orgánica y un 3.2 % de agua. El esmalte joven es más permeable que el esmalte adulto. A lo largo de la vida del diente las vías orgánicas se van cerrando por calcificación progresiva y disminuye su permeabilidad (Fig. 2) ([Julio barrancos Mooney, et al., 2006](#)).

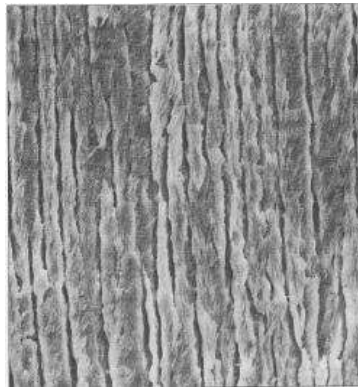


Figura 2. Se observan los prismas dispuestos del esmalte paralelamente en un corte longitudinal M.E. ([M. E. Gómez de Ferraris, et al., 2010](#)).

DENTINA

Es el eje estructural del diente y constituye el tejido mineralizado que conforma el mayor volumen de la pieza dentaria (Fig. 3). En la porción coronaria se encuentra recubierta a manera de casquete por el esmalte, mientras que en la región radicular está tapizada por el cemento. Interiormente, la dentina delimita una cavidad, denominada cámara pulpar, que contiene a la pulpa dental. Las células

formadoras de la dentina son células especializadas llamadas odontoblastos. La dentina madura se compone un 70% de material inorgánico, un 20% de material orgánico y un 10% de agua según el peso. El principal componente inorgánico consiste en hidroxiapatita. La matriz orgánica consta de proteínas, de las cuales la más común es el colágeno tipo 1. La elasticidad de la dentina aporta flexibilidad al frágil esmalte suprayacente y permite que se produzca el impacto de la masticación sin fracturarlo. La unión amelo-dentinaria (UED) es un borde festoneado irregular que aumenta el contacto y la adherencia entre dentina y esmalte, manteniendo juntos los dos tejidos duros durante la masticación ([Keijo Luukko, et al., 2011](#)).

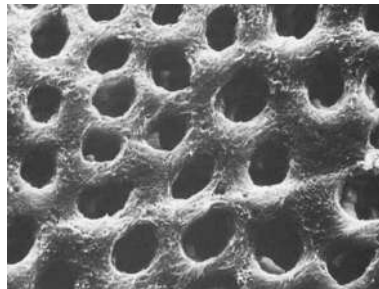


Figura 3. Túbulo dentinario cortado transversalmente. MEB, x 3.000 ([M. E. Gómez de Ferraris, et al., 2010](#)).

PULPA

Es un tejido blando de origen mesenquimatoso, con células especializadas que son los odontoblastos, dispuestos periféricamente en contacto directo con la matriz de la dentina. La pulpa tiene una función primaria formativa; de ella derivan los odontoblastos, que forman la dentina e interactúan con el epitelio dental en las fases iniciales del desarrollo dental para poner en marcha la formación del

esmalte. Tras la formación de los dientes, la pulpa cumple diversas funciones secundarias relacionadas como la sensibilidad, hidratación y defensa de los dientes. Después del desarrollo dental, la pulpa conserva su capacidad para formar dentina a lo largo de toda la vida y tiene potencial de regeneración y reparación ([Henry Trowbridge, et al., 2004](#)).

El tamaño y forma pulpar dependen del tipo de diente, del grado de desarrollo dental en relación con la edad del paciente y de los tratamientos restauradores que pueda haber recibido el diente ([Graham Rex Holland, et al., 2010](#)).

La pulpa alberga elementos tisulares como nervios, tejido vascular, fibras del tejido conectivo, sustancia fundamental, fluido intersticial, odontoblastos, fibroblastos, células inmunocompetentes y otros elementos celulares. La pulpa es un sistema microcirculatorio y sus mayores componentes vasculares son la arteriolas y las vénulas. La pulpa es un órgano sensorial único. A pesar de la conductividad térmica baja de la dentina, la pulpa es sensible a los estímulos térmicos ([Henry Trowbridge, et. al., 2004](#)).

***ZONAS MORFOLÓGICAS DE LA PULPA** ([Keijo Luukko et al., 2011](#)).

- **Capa odontoblástica**

Es el estrato celular más externo de la pulpa sana. Se localiza bajo la predentina; las proyecciones odontoblásticas, pasan a través de la predentina para llegar a la dentina. Esta capa se compone de los cuerpos celulares de los odontoblastos y se pueden encontrar entre estos capilares, fibras nerviosas y células dendríticas.

- **Zona pobre en células**

Se encuentra bajo la capa odontoblástica. Es una zona estrecha, relativamente libre de células. Esta zona está conformada por capilares sanguíneos, fibras nerviosas amielínicas y las finas prolongaciones citoplasmáticas de los fibroblastos. La presencia o ausencia de la zona pobre en células depende del estado funcional de la pulpa.

- **Zona rica en células**

Se encuentra en el área subodontoblástica. Contiene una proporción elevada de fibroblastos, en comparación con la región más central de la pulpa. Es más prominente en la pulpa coronal que en la radicular. Además puede contener un número variable de macrófagos, células dendríticas y linfocitos. Los odontoblastos con lesiones irreversibles se sustituyen por células que emigran desde la zona rica en células hasta la superficie interna de la dentina.

- **Pulpa propiamente dicha**

Es la masa central de la pulpa. Contiene los vasos sanguíneos y los nervios mayores. Las células del tejido conectivo de esta zona constan de fibroblastos o células pulpares.

***LAS CÉLULAS DE LA PULPA** (Keijo Luukko *et al.*, 2011).

1. Odontoblastos

Son los causantes de la dentinogénesis durante el desarrollo dental y en el diente maduro, se le considera la célula más característica del complejo dentino-pulpar. Durante la dentinogénesis, los odontoblastos forman los túbulos dentinarios, y la presencia dentro de estos, convierte a la dentina en un tejido vivo. Producen una matriz compuesta de fibras colágenas y proteoglucanos, capaz de mineralizarse. Los odontoblastos sintetizan sobre todo colágeno tipo I, aunque se han encontrado pequeñas cantidades de colágeno tipo V.

2. Fibroblastos

Son las células más numerosas en la pulpa. Estas células sintetizan colágeno tipos I y III. Son los encargados de renovar el colágeno en la pulpa. Están distribuidos por toda la pulpa pero abundan sobre todo en la zona rica en células. Al aumentar el número de vasos sanguíneos, nervios y fibras, se produce una disminución relativa del número de fibroblastos presentes en la pulpa.

3. Macrófagos

Son monocitos que han abandonado el torrente sanguíneo, entrando en los tejidos y se han diferenciado en varias subpoblaciones. Desempeñan funciones activas de endocitosis y fagocitosis. Estos eliminan hematíes extravasados, células muertas y sustancias presentes en los tejidos. Otro subgrupo de macrófagos participan en reacciones inmunes mediante el procesamiento del antígeno.

4. Células dendríticas

Son elementos accesorios del sistema inmune. Se denominan “células presentadoras de antígeno”, y se caracterizan por prolongaciones citoplasmáticas dendríticas y presencia de antígenos clase II en la superficie celular. Desempeñan una función central en la inducción de la inmunidad dependiente de las células T.

5. Linfocitos

Presentes en las pulpas de dientes humanos sanos, pero los linfocitos B a diferencia, son escasos en la pulpa sana.

6. Mastocitos

Se sitúan ocasionalmente en el tejido pulpar normal, y se encuentran de forma sistemática en las pulpas con inflamación crónica.

***FIBRAS DEL TEJIDO CONECTIVO DE LA PULPA** ([Keijo Luukko et al., 2011](#)).

La presencia de las fibras colágenas que pasan desde la matriz de dentina, entre los odontoblastos, hasta la pulpa dental, se ha descrito en dientes totalmente erupcionados.

***INERVACIÓN PULPAR** ([Keijo Luukko et al., 2011](#)).

La inervación de la pulpa incluye “neuronas aferentes”, que conducen los impulsos sensoriales, y “neuronas autónimas o aferentes”, que permiten la modulación neurogénica de la microcirculación.

La inervación simpática de los dientes procede del ganglio cervical superior. Los nervios simpáticos posganglionares viajan con el nervio carotideo interno, se unen al nervio trigémino en el ganglio e inervan dientes y estructuras de sostén por la rama maxilar y mandibular del nervio trigémino. En la pulpa dental adulta, las fibras simpáticas forman plexos alrededor de las arteriolas pulpares. La estimulación de estas fibras produce la constricción de las arteriolas y una disminución del flujo sanguíneo. Las terminaciones nerviosas simpáticas contienen el neurotransmisor clásico, noradrenalina (NA) y neuropéptido Y (NPY). En comparación de los nervios sensitivos, estas fibras se localizan en partes más profundas de la pulpa central, pero también se han encontrado fibras en estrecha relación con los odontoblastos. En la pulpa existen dos tipos de fibras nerviosas sensoriales: Mielínicas (fibras A) y amielínicas (fibras C).

Las fibras mielínicas tienen vaina de mielina que esta compuesta por grasas o lípidos, mientras que las fibras amielínicas, están rodeadas por una sola capa de membrana plasmática y carecen de mielina ([Syngcuk Kim, et al. 1981](#)).

Los dos tipos de células pueden ser nociceptoras. Las fibras A mielínicas, pueden ser beta y delta. Las fibras A beta son ligeramente más sensibles a la estimulación que las A delta. Aproximadamente el 90% de las fibras A son A delta. Ambos tipos

se agrupan en la pulpa dental puesto que ambas inervan los túbulos dentinarios y ambas se estimulan por movimiento del fluido dentario. Con independencia de la naturaleza del estímulo sensorial (térmico, mecánico, químico, eléctrico) casi todos los impulsos aferentes desde la pulpa producen una sensación de dolor. El número de fibras nerviosas aumenta de forma gradual y se produce alguna ramificación conforme las fibras se acercan a la dentina (Tabla 1 y 2).

- * **Fibras A:** Transmiten impulsos táctiles, de presión y propiocepción a una velocidad aproximada a 80 m/seg (Syngcuk Kim, *et al.*, 1981).
- * **Fibras C:** Transmiten sensaciones de dolor a una velocidad menor de aproximadamente 0.6-1.0 m/seg (Syngcuk Kim, *et al.*, 1981).

Tipo de fibra	Función	Diámetro (μm)	Velocidad de conducción (m/s)
A _α	Motora, propiocepción	12-20	70-120
A _β	Presión, tacto	5-12	30-70
A _γ	Motora en los husos musculares	3-6	15-30
A _δ	Dolor, temperatura, tacto	1-5	6-30
B	Autónoma preganglionar	<3	3-15
C raiz dorsal	Dolor	0,4-1,0	0,5-2,0
Simpática	Simpática posganglionar	0,3-1,3	0,7-2,3

Tabla 1. Clasificación de las fibras nerviosas (Keijo Luukko, *et al.*, 2011).

Fibra	Mielinización	Localización de los terminales	Características del dolor	Umbral de estimulación
Aδ	Si	Principalmente en la región pulpodentinaria	Agudo, punzante	Relativamente bajo
C	No	Probablemente distribuidos a través de la pulpa	Ardiente, menos soportable que las sensaciones de las fibras Aδ	Relativamente alto, usualmente asociado a lesión tisular

Tabla 2. Características de las fibras sensoriales (Keijo Luukko, *et al.*, 2011).

Los nervios sensoriales de la pulpa proceden del trigémino y entran en la pulpa radicular, a través del agujero apical, están en asociación íntima con las arteriolas y las vénulas. Cada uno de los nervios entra en la pulpa y las fibras A adquieren su vaina de mielina desde esas células. Cuando se completa el desarrollo radicular, las fibras mielínicas aparecen agrupadas en fascículos en la región central de la pulpa. La mayoría de las fibras C amielínicas que entran en la pulpa se localizan en esos fascículos; las restantes están situadas en la periferia de la pulpa. Los fascículos nerviosos cursan hacia arriba a través de la pulpa radicular, junto con los vasos sanguíneos. Cuando llegan a la pulpa coronal se abren en abanico bajo la zona rica en células, se dividen para formar fascículos pequeños y, finalmente, se ramifican en un plexo de axones nerviosos únicos conocido como “Plexo de Raschkow”. Cada fibra que entra en la pulpa envía al menos ocho ramas hasta el plexo de Raschkow (Henry Trowbridge, *et al.*, 2004). En dicho plexo, las fibras A emergen de sus vainas de mielina y, aunque permanecen dentro de las células de Schwann, se ramifican repetidamente para formar el plexo subodontoblastico. Por último los axones terminales salen de su revestimiento de células de Schwann y cursan entre los odontoblastos como terminaciones nerviosas. Otras fibras se extienden hasta la predentina y siguen un curso recto o

en espiral a través de un túbulo dentinario en asociación íntima con una prolongación odontoblástica. Las terminaciones nerviosas intratubulares son más numerosas en el área de los cuernos pulpaes, donde hasta el 40% de los túbulos contiene fibras ([Keijo Luukko et al., 2011](#)).

COMPLEJO DENTINO PULPAR

La relación que se establece entre los odontoblastos y la dentina denominada complejo pulpa-dentina, es una de las razones por las que la pulpa y la dentina se consideran una unidad funcional ([Henry Trowbridge, et al., 2004](#)).

LIGAMENTO PERIODONTAL

Las células formadoras son: fibroblastos, osteoblastos y cementoblastos. Es un tejido conjuntivo laxo especializado que conecta el cemento con el hueso alveolar. Es un tejido blando altamente vascularizado y celular que rodea a las raíces de los dientes y conecta el cemento radicular con la pared del alvéolo (figura 4). En sentido coronal, el ligamento periodontal se continúa con la lámina propia de la encía y está delimitado respecto de ella por los haces de fibras colágenas que conectan la cresta ósea alveolar con la raíz (las fibras de la cresta alveolar). El ligamento periodontal se ubica en el espacio situado entre las raíces dentales y la lámina dura o hueso alveolar fasciculado. El hueso alveolar rodea al diente hasta un nivel situado aproximadamente a 1 mm hacia apical de la conexión

cementoadamantina. El borde coronal del hueso se denomina cresta alveolar. El espesor del ligamento periodontal es de 0.25mm aproximadamente. El ligamento periodontal permite que las fuerzas generadas durante la función masticatoria y otros contactos dentinarios sean distribuidas en la apófisis alveolar y absorbidas por ésta, mediante el hueso alveolar fasciculado. Este ligamento también es esencial para la movilidad de los dientes, porque ésta movilidad está determinada por el espesor, la altura y la calidad del ligamento periodontal ([Louis M. Lin, et al., 2011](#)).

El ligamento periodontal contiene varias poblaciones celulares heterogéneas y matriz extracelular (MEC). Las células presentes en el ligamento periodontal son: osteoblastos, osteoclastos, fibroblastos, restos de células epiteliales de Malassez (REM), macrófagos, cementoblastos y células mesenquimatosas indiferenciadas (células madre).

Las células madre pluripotenciales del ligamento periodontal son capaces de diferenciarse en células tipo cementoblastos, células del ligamento periodontal y en osteoblastos. La MEC del ligamento periodontal está formada por fibras de colágeno, fibronectina, elastina, otras proteínas no colágenas y proteoglucanos ([Louis M. Lin, et al., 2011](#)).

Las fibras de colágeno (fibras de Sharpey) del ligamento periodontal conectan el diente con el hueso alveolar. El ligamento periodontal está abundantemente vascularizado e innervado. Los restos de la vaina epitelial de Hertwig se desintegran después del desarrollo del diente, localizándose en el ligamento

periodontal cerca de la superficie radicular en todos los dientes después de la formación radicular (Louis M. Lin, *et al.*, 2011).

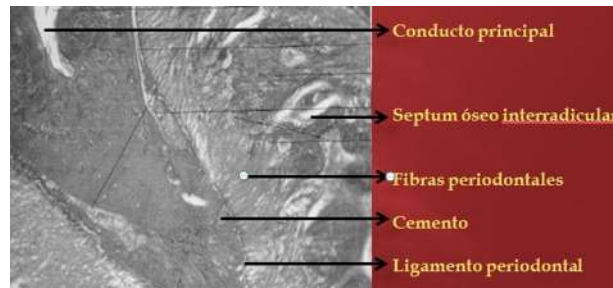


Figura 4. Se observa el sector de la región interradicular. Se muestra el conducto principal, septum óseo interradicular o hueso alveolar, las fibras periodontales, el cemento y el LP, x100 (M. E. Gómez de Ferraris, *et al.*, 2010).

CEMENTO RADICULAR

Sus células formadoras son los cementoblastos. El cemento es un tejido mineralizado especializado que recubre las superficies radiculares de los dientes (figura 4). El cemento no contiene vasos sanguíneos ni linfáticos, carece de inervación, no se remodela ni tiene resorción fisiológica. Se deposita durante toda la vida del diente. Contiene fibras colágenas e hidroxiapatita. En el cemento se insertan fibras del ligamento periodontal y contribuye en el proceso de reparación cuando la superficie radicular ha sido dañada (Jan Lindhe, *et al.*, 2011).

HUESO ALVEOLAR

Las células formadoras del hueso alveolar son los osteoblastos que son las células encargadas de la síntesis, secreción y mineralización de la matriz orgánica. Otras células que se encuentran en el hueso alveolar son los osteocitos que a medida que los osteoblastos van secretando la sustancia osteoide, la cual luego se calcifica, algunos quedan encerrados dentro de la misma y se transforman en osteocitos. Los osteoclastos son las células encargadas de degradar la matriz ósea (resorción ósea). El “proceso alveolar” es la parte del hueso de los maxilares en la que se alojan los alvéolos para los dientes. Está formado por una placa cortical exterior, una zona central de hueso esponjoso y hueso que recubre los alvéolos (fig. 4) ([Louis M. Lin, et al., 2011](#)).

La apófisis alveolar está compuesta de hueso que se forma tanto por células del saco dentario; el hueso alveolar fasciculado se forma por células que son independientes del desarrollo dentario. Junto con el cemento radicular y el ligamento periodontal, el hueso alveolar constituye el aparato de inserción del diente, cuya función principal es distribuir y absorber las fuerzas generadas por la masticación y otros contactos dentarios ([Jan Lindhe, et al., 2011](#)).

Una vez revisados los tejidos que conforman el diente y periodonto, a continuación será expuesto el concepto de “Endodoncia” como especialidad.

ENDODONCIA

La Endodoncia es la rama de la odontología que se ocupa de la morfología, la fisiología y la patología de la pulpa dental humana y los tejidos periapicales. Su estudio y su práctica abarcan las ciencias clínicas básicas incluyendo la biología de la pulpa normal y la etiología, diagnóstico, prevención y el tratamiento de enfermedades y lesiones de la pulpa y las condiciones perirradiculares asociadas. (AAE, 2012).

El diagnóstico en endodoncia es básico, como lo es en cualquier otra rama de la odontología y de la medicina para poder instituir una terapéutica racional (Lasala 1988). El propósito de un diagnóstico es determinar cuál es el problema del paciente y la razón de que lo padezca. Finalmente, el diagnóstico guardará una relación directa con el tratamiento necesario (Louis H. Berman, *et al.*, 2011). El objetivo principal de la terapia endodóntica es mantener una cadena aséptica desde la abertura de acceso a la restauración coronaria permanente del diente. La eliminación o disminución del número de microorganismos es de considerable importancia para el éxito de endodoncia (Prakash P Athiban, *et al.*, 2012).

- Procedimiento de la Endodoncia:

1. PREPARACIÓN PARA EL ACCESO

Aislamiento del diente:

El uso del dique de goma es imprescindible en el tratamiento del conducto radicular (fig. 5). Éste facilita el tratamiento al aislar el diente de obstáculos (saliva

o lengua) que puedan interferir con el procedimiento (Gerald N. Glickman, *et al.*, 2011).



Figura 5. En esta imagen se observa el aislamiento absoluto con dique de hule (Gerald N. Glickman, *et al.*, 2011).

2. ACCESO CORONAL

El acceso es la primera y posiblemente más importante fase del tratamiento de conductos radiculares. Una preparación del acceso bien diseñada resulta esencial para conseguir un buen resultado endodóntico. Sin el acceso no es adecuado se obstaculiza el adecuado manejo de instrumentos y materiales dentro del sistema de conductos radiculares, el cual es altamente complejo y variable. La preparación de la cavidad de acceso tiene tres objetivos:

- a) Eliminar toda la caries
- b) Conservar la estructura dental sana
- c) Abrir totalmente la cámara pulpar
- d) Eliminar todo el tejido pulpar coronal (vital o necrótico)
- e) Localizar todos los orificios de los conductos radiculares

- f) Lograr el acceso en línea directa o recta al foramen apical o a la curvatura inicial del conducto
- g) Establecer los márgenes de la restauración para minimizar la filtración marginal del diente restaurado

Un acceso correctamente preparado proporciona un camino recto y liso al sistema de conductos hasta el ápice (fig. 6).



Figura 6. En esta imagen se observa un premolar ya con la preparación del acceso coronal. ([Google imágenes](#), [Acceso coronal](#)).

El acceso en línea recta es lo mejor para desbridar todo el espacio del conducto y reduce el riesgo de fractura de la lima. Un correcto acceso coronario nos permite la irrigación, conformación y limpieza completas, y obturación de calidad.

Los pasos para lograr un correcto acceso son:

- 1) Eliminación de caries y restauraciones permanentes
- 2) Forma del contorno externo inicial: Se crea una forma de contorno con geometría similar a la forma de acceso ideal para el diente
- 3) Penetración del techo de la cámara pulpar
- 4) Eliminación completa del techo

- 5) Identificación de todos los orificios de los conductos
- 6) Ensanchamiento del orificio y la parte coronal: Eliminación de los rebordes de dentina
- 7) Determinación del acceso en línea recta: verificar si se ha conseguido el acceso en línea recta
- 8) Inspección visual del suelo de la cámara pulpar
- 9) Perfeccionamiento y suavización de los márgenes de la restauración ([Frank J. Vertucci, et al., 2011](#)).

3. LIMPIEZA Y CONFORMACIÓN ([Ove A. Peters, et al., 2011](#))

- Objetivos básicos de la limpieza y conformación.

Los objetivos principales de la limpieza y conformación del sistema de conductos radiculares son:

- 1) Eliminar los tejidos blandos y duros infectados
- 2) Proporcionar acceso a las soluciones de irrigación y desinfección hasta la zona apical
- 3) Crear espacio para la colocación de medicamentos y la subsiguiente obturación
- 4) Conservar la integridad de las estructuras radiculares

La forma de la preparación y la eficacia antimicrobiana están íntimamente relacionadas entre sí a través de la remoción de dentina infectada y el uso de irrigantes. Un objetivo mecánico importante en la conformación del conducto

radicular es conservar la mayor cantidad posible de dentina radicular para no debilitar la estructura de la raíz y prevenir así las fracturas verticales (fig. 7) (Ove A. Peters, *et al.*, 2011).



Figura 7. En esta imagen se ilustra la técnica manual para la limpieza y conformación dental (Gerald N. Glickman, *et al.*, 2011).

La doctrina tradicional ha mantenido que la preparación del conducto y la obturación subsiguiente deben terminar en la constricción apical, o diámetro más pequeño del conducto. Se cree que ese aspecto coincide con la unión cemento-dentinaria (UCD). Sin embargo, la posición anatómica de la UCD varía considerablemente en los distintos dientes, en las distintas raíces y en las distintas paredes de cada conducto. Por esa razón, se ha propuesto terminar la preparación a 0,5-1 mm del ápice radiográfico en los casos con necrosis y a 1-2 mm en los casos con pulpitis irreversible. La preparación debe limitarse al interior del conducto radicular. El ensanchamiento de la mitad o los dos tercios coronales para permitir el acceso sin interferencias, proporciona al clínico un mejor control táctil de las limas para dirigir limas pequeñas, adecuadamente precurvadas, hasta

el delicado tercio apical. Una vez ensanchada la porción coronal de un conducto, el tercio apical se puede preparar con más eficacia ([Ove A. Peters, et al., 2011](#)).

4. DESINFECCIÓN QUÍMICA

Los irrigantes y otros medicamentos intraconducto son necesarios para mejorar el efecto antimicrobiano de la limpieza mecánica, porque en áreas grandes de las paredes de los conductos, especialmente en el tercio apical, en conductos ovales y de forma acintada, no pueden ser limpiados con métodos mecánicos, lo que significa que los microorganismos presentes en esas áreas no alcanzadas pueden sobrevivir. La desinfección química es una piedra angular importante para el éxito del tratamiento, puesto que alcanza las bacterias y los hongos presentes en los túbulos dentinarios y en las ramificaciones del sistema de conductos radiculares (fig. 8). Las sustancias usadas para irrigar y limpiar químicamente los conductos radiculares tienen como objetivos la disolución de los tejidos blandos y duros, el efecto antimicrobiano contra las bacterias y otros gérmenes presentes en el conducto radicular, y la inactivación de los lipopolisacáridos bacterianos. Estas sustancias deben ser lo menos tóxicas posibles, para proteger los tejidos perirradiculares. Las soluciones son tóxicas para las células bacterianas y también para las células humanas; por tanto, se debe tener cuidado para evitar la extrusión de los irrigantes a los espacios periapicales. La limpieza y conformación son pasos importantes e interrelacionados del tratamiento de los conductos radiculares, porque proporcionan la base para el éxito biológico en los casos clínicos.

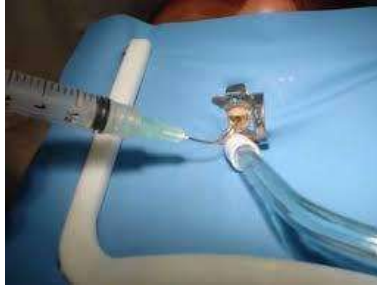


Figura 8. Se observa la técnica de irrigación endodóntica ([Google imágenes, Irrigación endodoncia](#)).

5. OBTURACIÓN DEL SISTEMA DE CONDUCTOS RADICULARES ([William T. Johnson, et al., 2011](#)).

La obturación previene la filtración coronal y la contaminación bacteriana, sella el ápice impidiendo el paso de los fluidos tisulares periapicales y respecto a los irritantes que permanecen en el conducto. El mantenimiento de un sellado coronal eficaz y una restauración adecuada, son una parte esencial del éxito del tratamiento endodóntico. Los dientes mal obturados suelen estar mal preparados.

Los factores que deciden el momento más apropiado para obturar un diente son los signos y síntomas del paciente, el estado de la pulpa y las estructuras perirradiculares, el grado de dificultad del caso y el cuidado general del paciente.

En presencia de tejido pulpar vital se acepta que los tratamientos se concluyan en una sola cita. La eliminación del tejido pulpar normal o inflamado y la realización del procedimiento bajo condiciones asépticas deben conducir al éxito de la terapia debido a la ausencia de contaminación bacteriana. La obturación en la visita inicial también evita la contaminación por filtraciones durante el tiempo transcurrido entre visitas. Cuando los pacientes se presentan con síntomas agudos causados por

necrosis pulpar y absceso perirradicular agudo, la obturación se retrasa en general hasta que desaparecen los síntomas.

La obturación se puede realizar después de los procedimientos de limpieza y conformación, siempre y cuando el conducto se pueda mantener seco y el paciente no presenta inflamación o dolor (fig. 9). Una excepción es la aparición o persistencia de exudado en el conducto. La obturación está contraindicada si no se puede secar el conducto.

Los casos difíciles pueden requerir más tiempo para la preparación, y la probabilidad de complicaciones disminuye si el tratamiento se hace en múltiples visitas. Algunos pacientes pueden requerir múltiples y breves visitas a causa de su situación médica, estado psicológico y cansancio.



Figura 9. Radiografía postoperatoria de un primer molar superior derecho, con longitud, densidad y conicidad adecuadas ([Gerald N. Glickman, et al., 2011](#)).

- **Longitud de la obturación**

Los primeros estudios identificaron la unión cementodentinaria como límite apical de la obturación. Sin embargo, ese límite histológico no se puede determinar en la clínica, y se ha demostrado que ocupa una posición variable dentro del conducto. Además, la unión cementodentinaria no coincide con la porción más estrecha del conducto ni con la constricción apical. Tradicionalmente, el punto de terminación apical se ha establecido a 1 mm del ápice radiográfico. De acuerdo con principios biológicos y clínicos, la instrumentación y la obturación no se deben extender más allá del foramen apical.

La gutapercha es el material central más popular usado para la obturación. Sus principales ventajas son plasticidad, fácil manipulación, mínima toxicidad, radioopacidad y fácil eliminación con calor o disolventes. La gutapercha es un extracto coagulado de las plantas secas del *Palauquium* del género blanco de la familia Sapotaceae y fue introducida a la odontología en 1847 por Edwin Truman ([Prakash P Athiban, et al., 2012](#)).

Las desventajas de la gutapercha incluyen la falta de adhesión a la dentina por lo que se debe utilizar con un cemento sellador y cuando se calienta sufre retracción al enfriarse.

- **Propiedades del material ideal para obturación** ([William T. Johnson, et al., 2011](#)).

- 1) Fácil de manipular con tiempo de trabajo amplio
- 2) Dimensionalmente estable, sin tendencia a contraerse después de ser insertado
- 3) Sellador del conducto en sentidos lateral y apical, adaptándose a su compleja anatomía interna
- 4) No causar irritación de los tejidos periapicales
- 5) Impermeable a la humedad y no poroso
- 6) No verse afectado por los fluidos tisulares; sin corrosión ni oxidación
- 7) Inhibir el crecimiento bacteriano
- 8) Ser radiopaco y fácil de observar en las radiografías
- 9) No teñir la estructura dental
- 10) Ser estéril
- 11) Ser fácil de extraer del interior del conducto, si es necesario

Los cementos selladores del conducto radicular se usan en conjunción con un material de obturación biológicamente aceptable (gutapercha), semisólido o sólido, para conseguir un sellado adecuado del sistema de conductos radiculares ([William T. Johnson, et al., 2011](#)).

Los cementos selladores del conducto radicular son necesarios para sellar el espacio entre la pared dentinaria y el material obturador. Los cementos selladores también llenan los huecos y las irregularidades del conducto radicular, los conductos laterales y accesorios, y los espacios que quedan entre las puntas de

gutapercha usadas en la compactación lateral. Además sirven como lubricantes durante el proceso de obturación. Los cementos selladores deben ser biocompatibles y bien tolerados por los tejidos perirradiculares (William T. Johnson, *et al.*, 2011).

- **Propiedades del cemento sellador ideal** (William T. Johnson, *et al.*, 2011).
 - 1) Pegajoso durante la mezcla, para proporcionar buena adherencia con la pared del conducto una vez fraguado
 - 2) Proporcionar un sellado hermético
 - 3) Ser radioopaco, para poder verlo en las radiografías
 - 4) Ser polvo muy fino, para poder mezclarlo fácilmente con el líquido
 - 5) No contraerse al fraguar
 - 6) No teñir la estructura dental
 - 7) Ser bacteriostático, o por lo menos no favorecer la proliferación bacteriana
 - 8) Fraguarse lentamente
 - 9) Ser insoluble en los fluidos tisulares
 - 10) Ser tolerado por los tejidos; es decir, no producir irritación del tejido perirradicular
 - 11) Ser soluble en un solvente común, si se precisa eliminar el relleno del conducto radicular

INFECCIONES ENDODÓNTICAS

Aunque los factores químicos y físicos pueden inducir a inflamación perirradicular, la abrumadora evidencia indica que los agentes microbianos son esenciales para la progresión de la enfermedad y perpetuación de la inflamación perirradicular ([Takehashi S, et al., 1965](#); [Møller AJR., 1966](#); [Sundqvist G., 1976](#); [Møller AJR, et al., 1981](#)). El conducto radicular infectado constituye la principal fuente de irritación persistente microbiana a los tejidos perirradiculares. Los microorganismos se encuentran en posiciones privilegiadas y estratégicas dentro del conducto radicular necrótico que contiene tejido pulpar. En tales lugares, están protegidos por la acción de las células de defensa del huésped (fagocitos) y las moléculas (anticuerpos, complemento). Por otro lado, la microbiota situada en la parte apical del sistema del conducto radicular está generalmente delineada perirradicularmente a los tejidos inflamados, ya sea por una densa acumulación de neutrófilos polimorfonucleares o por un tapón epitelial en él o cerca del foramen apical ([Nair PNR., 1987](#)). En raras ocasiones algunas especies bacterianas pueden llegar y establecerse en los tejidos perirradiculares. Por lo tanto, aunque la original fuente de infección no se elimina por los mecanismos de defensa del huésped, éste se monta como una respuesta de defensa adyacente para el foramen apical, impidiendo la propagación de la infección. El equilibrio entre la agresión y la defensa se obtiene generalmente, de lo que resulta del desarrollo de una enfermedad inflamatoria crónica en el tejido alrededor de los portales de salida de las bacterias. Si la infección endodóntica se erradicó efectivamente

durante el tratamiento de endodoncia, el huésped se ve favorecido y el tejido de reparación sobreviene (José F. Siqueira *et al.*, 2002).

1.- EL ESTABLECIMIENTO CAUSAL O RELACIÓN CAUSAL (José F. Siqueira *et al.*, 2002)

Durante más de un siglo, los postulados de Koch han sido ampliamente utilizados para establecer la relación causal entre una especie microbiana determinada y una cierta enfermedad infecciosa. La gran contribución de los postulados de Koch era que sirvieran de directrices en un intento de establecer un estándar para la evidencia de la enfermedad infecciosa causal. El estándar fue pensado para convencer a escépticos de que los microorganismos pueden causar enfermedades y para crear criterios rigurosos para establecer el agente etiológico de una enfermedad dada. Los postulados de Koch se pueden resumir de la siguiente manera de su presentación ante el 10 ° Congreso Internacional de Medicina en Berlín en 1890 (Fredricks DN, *et al.*, 1996):

1. El microorganismo se produce en todos los casos de la enfermedad en cuestión y en circunstancias que se puede dar cuenta de los cambios patológicos y curso clínico de la enfermedad.
2. El microorganismo no se produce en ninguna otra enfermedad como parásito patógeno fortuito y patógeno.
3. Después de que se aísla del huésped enfermo y crece en cultivo puro, el microorganismo puede inducir a la enfermedad de nuevo.

Un cuarto postulado se añadió y consiste en un requisito de reaislar al microorganismo del huésped inoculado experimentalmente. Esta cuarta condición no fue propuesta por Koch ([Fredricks DN, et al., 1996](#)).

Koch era consciente de las deficiencias de sus criterios y no creía que cada postulado debía ser cumplido para demostrar la causa de la enfermedad ([Fredricks DN, et al., 1996](#)). Koch tuvo algunos problemas con sus propios criterios en sus estudios sobre el cólera. Las limitaciones de los postulados de Koch eran ya evidentes en el siglo XIX.

Las principales limitaciones de los postulados son los siguientes:

1. Los postulados de Koch ponen un énfasis considerable en la patogenicidad, que reside particularmente en el microorganismo. Sin embargo, la dependencia de la susceptibilidad del huésped es un tema incuestionable.
2. Los postulados de Koch hacen hincapié en la capacidad de cultivar al microorganismo causal en cultivo puro. Hay algunas enfermedades, como la sífilis y la lepra, en que la bacteria causal aún no ha sido cultivada en laboratorios de medios artificiales. Actualmente se supone que la mayoría de las bacterias que viven en la tierra son imposibles de cultivar ([Relman DA. 1999; Relman DA., 1993](#)). La cavidad oral no es una excepción. Recientemente, los enfoques independientes de la cultura molecular han permitido la identificación y detección de patógenos microbianos, tales como *Tropheryma whippelii* no cultivables ([Relman DA, et al., 1992](#)).

3. Los postulados de Koch implican que todas las cepas de las especies microbianas son igualmente virulentas. Hoy en día, se sabe que las diferentes cepas de una misma especie varían en su virulencia ([Salyers AA, et al., 1994](#); [van Steenberg TJM, et al., 1987](#); [Griffen AL, et al., 1999](#)).
4. Los postulados de Koch sugieren que una sola especie causa cada enfermedad. Hay algunas enfermedades, tales como las enfermedades perirradiculares, que son mezclas inducidas de diferentes especies microbianas.
5. Los postulados de Koch requieren que el microorganismo sospechoso, después de la reinoculación en un animal, produzca los signos y síntomas de la enfermedad. Varios patógenos humanos o no humanos causan la enfermedad en animales o causan una enfermedad con características diferentes a la forma humana ([Salyers AA, et al., 1994](#); [Mims C, et al., 2001](#)).

El pensamiento científico actual reconoce que no es totalmente posible y tal vez no esté obligado a cumplir cada criterio de Koch para la evidencia de la causalidad a considerar de un microorganismo patógeno en un trastorno infeccioso dado. Socransky y Haffajee en 1979 y 1997, han propuesto algunos criterios para establecer la relación causal entre los microorganismos y las enfermedades periodontales. La mayor parte de sus criterios podría ser aplicables a infecciones endodónticas ([José F. Siqueira et al., 2002](#)).

- **Asociación**

El patógeno sospechoso debe ser más frecuente y en mayor número en los casos de infección que en individuos sin enfermedad manifiesta o con diferentes formas de enfermedad. Mientras que en las enfermedades periodontales los investigadores deben distinguir los patógenos dentro de una microbiota normal, en infecciones endodónticas; este problema no existe debido a que el sistema de conductos radiculares no posee una microbiota normal. Mientras la pulpa sea vital, es un tejido estéril como cualquier tejido conectivo en otras partes del cuerpo. La infección se produce sólo después de la necrosis pulpar. Teóricamente, cualquier especie microbiana puede colonizar la pulpa necrótica y participar en la patogénesis de las enfermedades perirradiculares. Sin embargo, parece que no todas las especies presentes en infecciones endodónticas son capaces de causar la enfermedad (Dahle'n G, *et al.*, 1982; Fabricius L, *et al.*, 1982; Sundqvist GK, *et al.*, 1979). La evidencia actual sugiere que un conjunto restringido de especies microbianas es más prevalente en diferentes formas de enfermedades perirradiculares (Sundqvist G., 1976; Baumgartner JC, *et al.*, 1991; van Winkelhoff AJ, *et al.*, 1985). Esta asociación sugiere un papel patogénico (José F. Siqueira, *et al.*, 2002).

- **Eliminación**

La eliminación de una especie debe ir acompañada por una remisión de la enfermedad en paralelo. Uno debe tratar de eliminar al patógeno sospechoso, incluso cuando se está produciendo en infecciones mixtas de conductos

radiculares asociados con lesiones perirradiculares y determinar si la enfermedad se resuelve. Este criterio tiene ciertos problemas en que la terapia endodóntica nunca elimina sólo una especie a la vez. En algunos casos, las especies no eliminadas por el tratamiento endodóntico, puede conducir al fracaso del tratamiento. Sin embargo, aunque varios casos de fracaso endodóntico se han asociado con un grupo restringido de especies, como el *Enterococcus faecalis* que es el más frecuente (Molander A, *et al.*, 1998; Peciuliene V, *et al.*, 2000; Siqueira JF Jr, *et al.*, 2001), hay otros varios casos de fracaso en que estas especies no estaban presentes o permanecieron sin ser detectadas (José F. Siqueira, *et al.*, 2002).

- **Respuesta del huésped**

Si una especie microbiana obtiene acceso a tejidos conectivos y causa daños, parece probable que el huésped montará una respuesta inmunológica específica, produciendo anticuerpos o una respuesta inmune celular que se dirige específicamente a esa especie. Esto indica que el huésped monta una respuesta inmune humoral contra microorganismos específicos que colonizan el sistema de conductos radiculares (Baumgartner JC, *et al.*, 1992; Kettering JD, *et al.*, 1991; Stashenko P., 1990).

- **Virulencia**

Los factores de virulencia también pueden proporcionar pistas valiosas de la patogenicidad. Los productos potencialmente dañinos liberados o las propiedades

que poseen ciertas especies pueden ser sugerentes a las especies que podrían desempeñar un papel en el proceso de la enfermedad.

Los patógenos endodónticos putativos tienen una variedad potencial de factores de virulencia, pero si se producen estos factores *in vivo*, sigue siendo desconocido. Los estudios han reportado la detección de factores de virulencia dentro de endodoncias infectadas, incluyendo lipopolisacárido, enzimas y metabolitos, y los han asociado con signos y síntomas de la enfermedad (Horiba N, Maekawa Y, *et al.*, 1991; Hashioka K, *et al.*, 1994; Maita E, *et al.*, 1990). Sin embargo, lo que los factores de las especies dentro del conducto radicular producen específicamente no se ha dilucidado (Jose´ F. Siqueira, *et al*, 2002).

2.- CAUSALIDAD MICROBIANA DE LAS ENFERMEDADES PERIRRADICULAR

Hace más de un siglo, Miller en 1894 escribió: "Asumimos, de manera general, que las bacterias deben estar conectadas de alguna manera con estos procesos (Enfermedades pulpares). Los grandes números de espiroquetas en algunas pulpas y que especialmente se repiten ocurrentemente, justifica la suposición de que, en determinadas circunstancias, pueden desempeñar un papel importante en los procesos supurativos" (Jose´ F. Siqueira, *et al*, 2002).

Miller WD en 1894, planteó la hipótesis de que las bacterias son los factores causantes de las enfermedades de origen endodóntico. En su tiempo, reconoció que algunas muestras de bacterias del conducto radicular que había visto bajo el microscopio de luz no fueron capaces de ser cultivadas mediante el uso de la

tecnología disponible en ese momento. La mayoría de esas bacterias probablemente sean bacterias anaerobias. Sin embargo, a pesar de los considerables avances tecnológicos durante el último siglo con respecto a la cultivación de las bacterias, se supone que la gran mayoría de las especies de microbios que viven en tierra quedan incultivables ([Relman DA. 1999; Relman DA., 1993](#)). Esto también podría ser cierto para los microorganismos intraconducto.

Miller WD en 1894, también sugirió que las espiroquetas pueden ser importantes patógenos endodónticos. Recientes estudios epidemiológicos con métodos moleculares han encontrado una prevalencia relativamente alta de espiroquetas en conductos radiculares infectados, especialmente *Treponema denticola*, que también es un patógeno periodontal putativo ([Roças IN, et al., 2001; Siqueira JF Jr, et al., 2001; Siqueira JF Jr, et al., 2000](#)). Aunque Miller reportó en 1894 la aparición de bacterias en los conductos radiculares con condiciones patológicas asociadas, la relación causal entre los microorganismos y las enfermedades perirradiculares se demostró en los años 1960s ([Takehashi S, et al., 1965](#)). A través de los estudios realizados en monos y seres humanos otros investigadores confirmaron la causa microbiana ([Sundqvist G. 1976; Möller AJR, et al., 1981](#)).

Independientemente del método de diagnóstico utilizado, los estudios epidemiológicos han demostrado que más de 200 especies de microbios diferentes pueden ser encontradas en los conductos radiculares infectados, generalmente en combinaciones de 4 a 7 especies por conducto ([Baumgartner JC, et al., 1991; van Winkelhoff AJ, et al., 1985; Siqueira JF Jr. 1997](#)). Teóricamente,

cualquiera de estas especies tendría el potencial para ser un patógeno endodóntico ([José F. Siqueira, et al, 2002](#)).

Por lo tanto, la evidencia indica que los microorganismos desempeñan un papel primordial en la etiología de las enfermedades perirradicular. La evidencia sugiere que los microorganismos en conjunto poseen los requisitos fisiológicos necesarios para causar daño a los tejidos perirradiculares. Además, se hace evidente que las diferentes composiciones de la microbiota del conducto radicular pueden poseer igual capacidad de provocar lesión tisular. Aunque la carga microbiana es importante para la patogenicidad, los últimos datos de los diferentes laboratorios han sugerido que las diferentes formas de enfermedades perirradiculares pueden tener etiologías microbianas específicas. De la colonización de más de 500 especies microbianas de la cavidad oral, tal vez un conjunto restringido de 15 a 30 especies han sido detectadas con frecuencia en los conductos radiculares infectados y pueden ser responsables de la mayoría de las enfermedades perirradiculares en los seres humanos. Otras especies adicionales pueden estar implicadas en las enfermedades en un porcentaje pequeño de los casos. Particularmente en los casos fallidos, el número de especies microbianas involucradas pueden ser aún menor. Esto indica que la hipótesis de la microbiota semiespecífica es el más coherente para explicar la patogénesis de las enfermedades perirradiculares. Por lo tanto, algunos grupos de bacterias son probablemente involucrados más en la etiología de algunas formas de enfermedades perirradiculares, que generalmente componen un grupo ([José F. Siqueira, et al, 2002](#)).

Las especies oportunistas pueden crecer en el sistema de conductos, como resultado de la necrosis de la pulpa en lugar de ser la causa de las lesiones perirradiculares. Las condiciones ambientales pueden permitir el aumento de especies oportunista. Además, la mayoría de las infecciones endodónticas son infecciones mixtas. Es extremadamente difícil de evaluar el papel de una sola especie en la etiología de las enfermedades perirradiculares (José F. Siqueira, *et al*, 2002).

La alta prevalencia de una determinada especie microbiana no garantiza necesariamente una relación causal entre las especies y la etiología de la enfermedad perirradicular. Esto indica principalmente que las especies microbianas tienen éxito en la colonización del sistema de conductos radiculares. Si las especies altamente prevalentes produce un conjunto demostrable de factores de virulencia, al menos idealmente *in vitro* e *in vivo*, si es patógena en modelos animales, y si está implicado en la etiología de otras enfermedades humanas, se puede considerar una sospecha de patógenos endodónticos. Hasta la fecha, nuestro conocimiento se limita a patógenos endodónticos putativos (José F. Siqueira, *et al*, 2002).

3.- REQUISITOS ENDODONTICOS PARA LOS PATÓGENOS

Se requieren los siguientes requisitos para que un determinado microorganismo se establezca en el sistema de conductos radiculares y participe más en la patogénesis de una enfermedad perirradicular:

1. El microorganismo debe estar presente en suficientes números para iniciar y mantener la enfermedad perirradicular.
2. El microorganismo debe poseer un arsenal de factores de virulencia, que deben ser expresados en la infección del conducto radicular.
3. El microorganismo debe ser espacialmente situado en el sistema de conductos radiculares de tal manera que sus factores de virulencia puedan obtener acceso a los tejidos perirradiculares.
4. El entorno del conducto radicular debe permitir la supervivencia y el crecimiento del microorganismo y proporcionar señales que estimulen la expresión de la virulencia de los genes.
5. Los microorganismos inhibidores deben estar ausentes o presentes en números bajos en el entorno del conducto radicular.
6. El huésped debe montar una estrategia de defensa en los tejidos perirradiculares, inhibiendo la propagación de la infección. Este proceso dará lugar a daño tisular.

El estudio de estos requisitos puede proporcionar evidencia sobre la relación causal entre el presunto microorganismo y la enfermedad perirradicular ([José F. Siqueira et al., 2002](#)).

4.- TIPOS DE INFECCIÓN ENDODONTICA

Hay diferentes tipos de infecciones endodónticas, que por lo general están asociadas con diferentes condiciones clínicas. La infección del conducto radicular

es la principal causa de las enfermedades perirradiculares agudas o crónicas. Las infecciones secundarias o persistentes son la causa de las lesiones secundarias o perirradiculares crónicas, que pueden dar lugar a síntomas persistentes como exudación o el fracaso del tratamiento endodóntico (Siqueira JF Jr. 1997). La composición de la microbiota varía dependiendo del tipo de infección y de lesiones perirradiculares (José F. Siqueira *et al.*, 2002).

a) Infección primaria del conducto radicular

La infección primaria del conducto radicular es causada por la colonización de microorganismos en el tejido pulpar necrótico. La microbiota implicada generalmente cambia dependiendo del momento de la infección (Baumgartner JC, *et al.*. 1991; Happonen R-P. 1986; Gomes BPFA, *et al.*, 1996; Griffie MB, *et al.*, 1980; Haapasalo M, *et al.*, 1986; Le Goff A, *et al.*, 1997; Machado de Oliveira JC, *et al.*, 2000; Roças IN, *et al.*, 2001; Siqueira JF Jr, *et al.*, 2000; Siqueira JF Jr, *et al.*, 2001; Siqueira JF Jr, Roças IN, Oliveira JCM, *et al.*, 2001; Siqueira JF Jr, Roças IN, Favieri A, *et al.*, 2000; Sundqvist G, Johansson E, *et al.*, 1989; Sundqvist G. 1992; Sundqvist G. 1994; Waltimo TMT, *et al.*, 1997; van Winkelhoff AJ, *et al.*, 1985). Las infecciones primarias se mezclan y predominan las bacterias anaerobias. Las especies predominantes por lo general pertenecen a los géneros Bacteroides, Porphyromonas, Prevotella, Fusobacterium, Treponema, Peptostreptococcus, Eubacterium y Campylobacter. El Estreptococos facultativos o microaerófilos también se encuentran comúnmente en las infecciones primarias (Sundqvist G. 1976; Gomes BPFA, *et al.*, 1996; Griffie MB, *et al.*, 1980; Haapasalo M, *et al.*, 1986; Machado de Oliveira JC, *et al.*, 2000; Siqueira JF Jr, *et*

al., 2001; Sundqvist G, *et al.*, 1989; van Winkelhoff AJ, *et al.*, 1985). No obstante, las mismas especies comúnmente encontradas asociadas también se han observado con casos sintomáticos y asintomáticos (Gomes BPFA, *et al.*, 1996; Haapasalo M, *et al.*, 1986; Le Goff A, *et al.*, 1997; Siqueira JF Jr, *et al.*, 2000; Siqueira JF Jr, *et al.*, 2001; Baumgartner JC, *et al.*, 1999).

Las cepas de patógenos putativos pueden diferir en la virulencia. Tales diferencias pueden ser una de las explicaciones del por qué algunas especies se encuentran tanto en casos sintomáticos y asintomáticos. La presencia de otras especies en una comunidad mixta que actúan en sinergia y con diferencias en el número de células bacterianas son otras posibles explicaciones (José F. Siqueira *et al.*, 2002).

La evidencia reciente indica que las bacterias pueden cambiar su comportamiento y por lo tanto convertir su virulencia debido a las tensiones ambientales generadas por condiciones tales como el hambre, la densidad de población, el pH, la temperatura y la disponibilidad de hierro (Finlay BB, *et al.*, 1989; Finlay BB, *et al.*, 1997; Brogden KA, *et al.*, 2000; Kolenbrander PE. 1998).

b) La Infección Secundaria del conducto radicular

Las infecciones intrarradiculares secundarias son causadas por microorganismos que no estaban presentes en las infecciones primarias y que han penetrado en el sistema de conductos radiculares durante el tratamiento, entre las citas, o después de la conclusión del tratamiento endodóntico (Siqueira JF Jr. 1997). Si los microorganismos penetrantes tienen éxito en sobrevivir y colonizar al sistema de

conductos radiculares, se establece una infección secundaria (José F. Siqueira *et al.*, 2002).

c) Infección del conducto radicular persistente

Los microorganismos que de alguna manera se resistían a los procedimientos de desinfección intraconducto causan infecciones intrarradiculares persistentes. Los microorganismos causales fueron miembros tanto de la infección primaria como de una infección secundaria (José F. Siqueira *et al.*, 2002).

Las influencias ambientales operan en el sistema de conductos radiculares durante y después del tratamiento, que influirían en la supervivencia de ciertos microorganismos (Siqueira JF Jr., 2001).

La microbiota asociada con la persistencia de infecciones secundarias se compone generalmente de una sola especie o por un menor número de especies, en comparación con las infecciones primarias. Las bacterias gram-positivas son las predominantes (Molander A, *et al.*, 1998; Peciuliene V, *et al.*, 2000; Sundqvist G, *et al.*, 1998; Waltimo TMT, *et al.*, 1997). Los hongos también se pueden encontrar en una tasa significativamente más alta en infecciones primarias que en infección extrarradiculares (Sundqvist G, *et al.*, 1998; Waltimo TMT, *et al.*, 1997; Nair PNR, *et al.*, 1990).

d) Infecciones extrarradiculares

Las infecciones extrarradiculares también pueden ser primarias, secundarias o persistentes. La forma más común de una infección extrarradicular es el absceso

perirradicular agudo. La fuente de infecciones extrarradiculares es generalmente la infección intrarradicular. Los estudios de cultivos, moleculares y microscópicos han informado de la aparición de microorganismos extrarradiculares ya sea en casos de endodoncias tratadas o no tratadas, porque los microorganismos establecidos en los tejidos perirradiculares son inaccesibles para los procedimientos de desinfección endodóntica, la infección extrarradicular puede causar el fracaso del tratamiento endodóntico (Happonen R-P. 1986; Sjögren U, *et al.*, 1988; Nair PNR, *et al.*, 1990; Tronstad L, *et al.*, 1990; Iwu C, *et al.*, 1990; Wayman BE, *et al.*, 1992; Sunde PT, *et al.*, 2000; Gatti JJ, 1984; Nair PNR, *et al.*, 1984).

Pocos microorganismos orales tienen la capacidad de superar a los mecanismos de defensa y por lo tanto inducir a una infección extrarradicular. En la actualidad se reconoce que algunos microorganismos orales, tales como especies de *Actinomyces* y *Propionibacterium propionicus*, puede estar implicados en infecciones extrarradiculares (Happonen R-P. 1986; Sjögren U, *et al.*, 1988; Iwu C, *et al.*, 1990; Nair PNR, *et al.*, 1984).

No está claro si una infección mixta compuesta por varias especies puede establecerse con regularidad en la lesión perirradicular (José F. Siqueira *et al.*, 2002).

5.- MECANISMOS DE PATOGENICIDAD MICROBIANA

El establecimiento dentro de un sitio adecuado es esencial para la supervivencia del microorganismo y la actividad biológica óptima en el medio ambiente. La

fijación a las superficies no podrá ser un requisito esencial para la colonización (José F. Siqueira *et al.*, 2002).

La invasión de la pulpa se produce sólo después de la necrosis del tejido. Por lo tanto, la necesidad de que las bacterias posean factores de virulencia es mínima. Esto se demuestra por el hecho de que la mayoría de los microorganismos orales que invaden la pulpa necrótica son patógenos oportunistas. La supervivencia en el tejido pulpar necrótico no es inicialmente difícil para los microorganismos invasores porque hay nutrientes disponibles. Sólo las especies microbianas que son capaces de adaptarse a las condiciones ambientales de los sistemas de conductos radiculares se seleccionarán y establecerán por sí mismos (José F. Siqueira *et al.*, 2002).

Otras interacciones positivas o negativas microbianas influirán en la composición final de la microbiota del conducto radicular. La enfermedad perirradicular se producirá después de que los microorganismos y sus productos metabólicos afecten a los tejidos perirradiculares. La magnitud de la respuesta del huésped será directamente proporcional a la virulencia y al número de células microbianas presentes. El daño tisular causado por una bacteria está mediado por mecanismos directos o indirectos. Los efectos directos perjudiciales causados por las bacterias involucran a sus productos, tales como enzimas (colagenasa, hialuronidasa, condroitinase, fosfatasa ácida), exotoxinas y metabolitos (butirato, propionato, amonio, poliaminas, indol, sulfurados compuestos) (Salyers AA, *et al.*, 1994). Además, los componentes bacterianos, tales como peptidoglicano, ácido teicoico, fimbrias, proteínas, membrana externa, cápsula y lipopolisacárido, estimulan al

desarrollo de reacciones inmunitarias del huésped capaz de causar graves destrucciones al tejido (Salyers AA, *et al.*, 1994; Henderson B, *et al.*, 1996; Nair SP, *et al.*, 1996).

Los mecanismos de defensa del huésped contra las bacterias del conducto radicular parecen ser el factor más importante implicado en la formación de material purulento asociada con el absceso perirradicular agudo. La formación de los radicales libres de oxígeno derivados, tales como el superóxido y el peróxido de hidrógeno, junto con la liberación lisosomal de enzimas por los neutrófilos polimorfonucleares, tales como elastasa, colagenasa y gelatinasa, inducen a la destrucción de la matriz extracelular, conduciendo a la formación de material purulento (Siqueira JF Jr. 1997). Por lo tanto, las bacterias pueden ejercer efectos destructivos indirectos (José F. Siqueira *et al.*, 2002).

En la mayoría de los casos, la infección se limita al tratamiento de conducto. La mayoría de las especies microbianas que infectan al conducto radicular son patógenos oportunistas y por lo tanto no tienen la capacidad para sobrevivir en los tejidos perirradiculares, donde reciben a los mecanismos de defensa óptimos. Raras excepciones son aquellas especies microbianas o incluso cepas internas que poseen estrategias para sobrevivir y por lo tanto afectan a los tejidos vitales. Tales microorganismos deben poseer la capacidad de invadir tejidos, recoger nutrientes y evadir los mecanismos de defensa del huésped y si tienen éxito, una infección extrarradicular puede desarrollarse (José F. Siqueira *et al.*, 2002).

6.- INVESTIGACIÓN TECNOLÓGICA DE LA MICROBIOTA ENDODÓNTICA MOLECULAR

Encuestas de muchos ecosistemas terrestres y acuáticos indicaron que más del 99% de los microorganismos vivos cultivados en la Tierra resisten bajo condiciones de laboratorio y sólo puede ser identificados o caracterizados con el uso métodos genéticos moleculares ([Relman DA 1999](#); [Relman DA.1993](#); [Amann RI, et al., 1995](#)). Se cree que aproximadamente el 50% de las bacterias orales aún no se han cultivado ([Paster BJ, et al., 2001](#)).

Muchas de las especies en los conductos radiculares infectados son difíciles o imposibles de cultivar, y otros, tales como cepas fenotípicamente divergentes, son difíciles de identificar ([José F. Siqueira et al., 2002](#)).

Recientes estudios moleculares han sugerido que algunas bacterias anaerobias en cultivo son más prevalentes en infecciones endodónticas ([Machado de Oliveira JC, et al., 2000](#); [Siqueira JF, et al., 2001](#); [Hashimura T, et al., 2001](#)). Además, algunas otras especies bacterianas que nunca habían estado aisladas de los conductos radiculares infectados fueron detectadas por técnicas moleculares. Este es el caso de *Bacteroides forsythus* ([Roças IN, et al., 2001](#); [Siqueira JF Jr, et al., 2000](#); [Siqueira JF Jr, et al., 2001](#); [Gonçalves RB, et al., 1999](#)) y *Treponema denticola* ([Roças IN, et al., 2001](#); [Siqueira JF Jr, et al., 2001](#); [Siqueira JF Jr, Roças IN, et al., 2000](#)), patógenos periodontales ([Socransky SS, et al., 1997](#)). Otras especies como *Prevotella tanneri* ([Xia T, et al., 2000](#)) y *Maltophilum Treponema* ([Jung I-Y, et al., 2001](#)) también se detectaron en endodoncias

infectadas, por primera vez después una investigación molecular. Por lo tanto, los enfoques genéticos moleculares han contribuido significativamente al conocimiento de la microbiota del conducto radicular al permitir el reconocimiento de nuevos patógenos endodónticos putativos y el fortalecimiento de la asociación de algunas bacterias anaerobias cultivables ([José F. Siqueira et al., 2002](#)).

7.- LA SUSCEPTIBILIDAD DEL HUÉSPED A LA INFECCIÓN Y A LAS FALLAS ENDODÓNTICAS

La susceptibilidad del huésped a la infección no necesariamente implica la susceptibilidad a la enfermedad. Una infección puede ser totalmente inofensiva y asintomática en algunos huéspedes pero puede causar daños graves en otros. Va a depender de los resultados del encuentro entre el microorganismo y el huésped. Por lo tanto, algunos huéspedes y factores microbianos influyen decisivamente en la susceptibilidad a la enfermedad ([José F. Siqueira et al., 2002](#)).

La susceptibilidad genética del huésped a la infección puede operar a nivel del sistema inmune y hay creciente evidencia de que este es un fenómeno importante ([Mims C, et al., 2001](#)). El huésped con rasgos genéticos que confieren una pobre respuesta inmune a ciertos microorganismos es probable que tenga dificultad para controlar la infección causada por los microorganismos. Por otro lado, las personas con una pobre respuesta inmune son menos propensas a sufrir consecuencias inmunopatológicas de la infección. Entre las causas del aumento a la susceptibilidad a la infección, las deficiencias en la respuesta inmune pueden

ser consideradas como unas de las más significativas. La susceptibilidad es generalmente mayor en personas muy jóvenes y en personas mayores, que por lo general exhiben respuestas inmunológicas más débiles. Los factores hormonales, el estrés, la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana, el uso de drogas inmunosupresoras y enfermedades debilitantes (tales como la diabetes y tumores malignos) también pueden influir en la respuesta del huésped a la infección ([Mims C, et al., 2001](#)).

También es posible que algunas lesiones se toman más tiempo en curar en estos pacientes ([José F. Siqueira et al., 2002](#)).

8.- LOS MARCADORES BIOLÓGICOS PARA PREDECIR EL ÉXITO ENDODONTICO

Los avances en el conocimiento sobre la patogenicidad de las lesiones perirradiculares también pueden contribuir al desarrollo de un marcador biológico fiable que permitirá al clínico conocer el momento de concluir el tratamiento y para predecir el resultado del mismo. La prueba bacteriológica (cultivo) fue un marcador utilizado por muchos años en endodoncia para indicar el punto final del tratamiento ([Rolph HJ, et al., 2001](#)). Debido a varias deficiencias del método, ya no se utiliza para este propósito. El aumento de los conocimientos sobre los principales patógenos endodónticos, junto con los avances en las pruebas microbiológicas de diagnóstico puede acelerar el desarrollo de marcadores microbiológicos fiables. Un tipo alternativo de marcador de punto final podría ser basado en la respuesta

del huésped. El principal reto es desarrollar un procedimiento fiable para tomar muestras del conducto radicular y de la lesión perirradicular ([Torabinejad M. 1994](#)) y establecer que los mediadores son importantes para la curación del proceso patológico ([José F. Siqueira et al., 2002](#)).

9.- TERAPIA ANTIBIÓTICA SISTÉMICA

Las respuestas evolutivas microbianas a la presión selectiva ejercida por los antibióticos han dado lugar a especies microbianas resistentes a casi todos los antibióticos conocidos ([Hayward CMM, et al., 1994](#)). Si un miembro determinado de una comunidad microbiana posee genes de resistencia contra un determinado antibiótico y la comunidad está expuesta persistentemente al fármaco, se selecciona el microorganismo resistente a surgir y multiplicarse. La aparición de múltiples fármacos de cepas resistentes de *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae*, *Mycobacterium tuberculosis*, y muchas otras especies capaces de causar infecciones que amenazan la vida han sido reportadas ([Hayward CMM, et al., 1994](#); [Madigan MT, et al., 2000](#); [Whitney CG, et al., 2000](#); [Hecht DW, et al., 1999](#)). Además, la resistencia a los antibióticos entre las bacterias anaeróbicas, incluyendo las especies comúnmente encontradas en las infecciones orales, es cada vez mayor, con una importante resistencia a la clindamicina, cefalosporinas ([Hecht DW, et al., 1999](#)).

El uso excesivo y mal uso de los antibióticos se han considerado como las principales causas responsables de la aparición de cepas resistentes a múltiples fármacos. El uso inadecuado de antibióticos incluyendo los casos en los que no hay infección. Actualmente, la elección errónea del agente, la dosis o la duración de la terapia, y el uso excesivo de profilaxis ([Pallasch TJ. 1994](#)). En casi el 50% de los casos, el agente, la dosis o la duración recomendada de la terapia es incorrecta ([Madigan MT, et al., 2000](#)).

El propósito de la terapia con antibióticos es ayudar a las defensas del huésped en el control y la eliminación de los microorganismos que temporalmente han abrumado los mecanismos de defensa del huésped ([Pallasch TJ. 1996](#)).

La inmensa mayoría de las infecciones de origen endodóntico se tratan sin la necesidad de antibióticos. Debido a la falta de circulación de la sangre dentro de una pulpa necrótica e infección, los antibióticos no pueden alcanzar y eliminar los microorganismos presentes en el sistema de conductos radiculares. Por lo tanto, la fuente de infección se ve afectada por la terapia antibiótica sistémica. Por otro lado, los antibióticos pueden ayudar a impedir la propagación de la infección y del desarrollo de infecciones secundarias en pacientes comprometidos. Por lo tanto, los antibióticos pueden ser un complemento valioso para la gestión de algunos pocos casos de infección endodóntica ([José F. Siqueira et al., 2002](#)).

Por otro lado, existen tratamientos endodónticos específicos para dientes no maduros y no infectados que permiten su desarrollo morfológico completo, tal es el caso de la “apicogénesis”, que será descrita a continuación.

APICOGÉNESIS

La apicogénesis es un procedimiento de la terapia pulpar para fomentar el desarrollo fisiológico continuo y la formación final de la raíz ([AAE 2003](#)). Está indicada en los dientes permanentes inmaduros con pulpa vital ([Ørstavik et al., 2007](#); [Ingle et al., 2008](#); [Hargreaves et al., 2010](#)). El biomaterial utilizado generalmente para una apicogénesis es el procedimiento de hidróxido de calcio ([Saad 1988](#)). Un puente de dentina se forma comúnmente en los restos de la pulpa vital no infectada. La formación del puente de dentina siguiente a la apicogénesis es un proceso reparativo del complejo dentino-pulpar y el desarrollo continuo de la raíz es un proceso fisiológico normal (fig. 13).

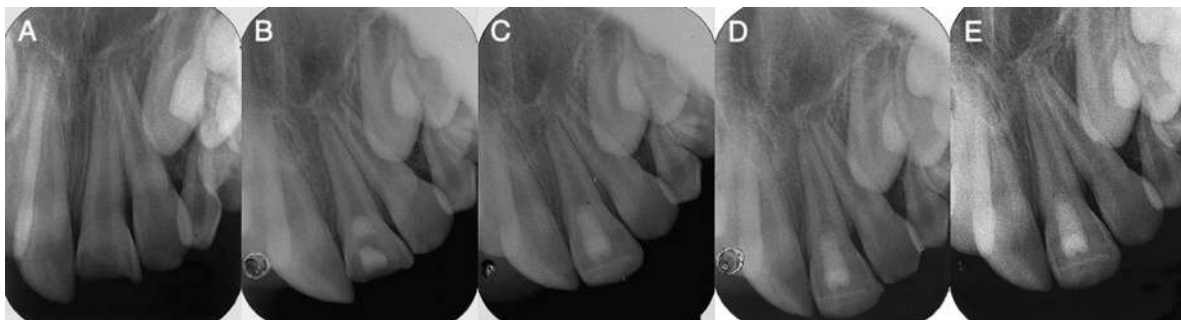


Figura 12. Estudio radiográfico de un tratamiento de apicogénesis. (A) Radiografía preoperatoria; (B) después del recubrimiento pulpar del cemento CEM; (C) después de restaurar el diente con el segmento separado; (D) 6 meses después del tratamiento de apicoformación; (E) 12 meses después del tratamiento ([PubMed, Apicogénesis](#)).

APICOFORMACIÓN

La apicoformación es un método para inducir una barrera calcificada en raíces con ápice abierto o el continuo desarrollo apical de una raíz incompletamente formada en los dientes con pulpas necróticas (AAE 2003). Tradicionalmente se denominó apicoformación al protocolo clínico para los dientes inmaduros con sistemas de conductos radiculares infectados que consistía en colocar hidróxido de calcio como medicamento intraconducto para eliminar en primer lugar la infección intraradicular y luego inducir una barrera apical con el tiempo (Cvek M., 1972). Un requisito eran las múltiples visitas y un periodo de tiempo largo (un promedio de 12 meses) antes de que la raíz pudiera ser obturada (Cvek M., 2005). El hidróxido de calcio ha sido el biomaterial más comúnmente utilizado, aunque el MTA está ganando más aceptación para los procedimientos de apicoformación (Rafter 2005) que es un protocolo alternativo que consiste en la colocación del agregado de trióxido mineral (MTA) actuando como una barrera artificial en forma de tejido duro (fig. 14) (Shabahang S, et al., 2000). Una ventaja de esta técnica es que se completa generalmente en una o dos citas (Witherspoon DE, et al., 2001). La barrera calcificada formada en el ápice abierto ha sido descrita como cemento u osteodentina (Steiner et al., 1971; Torneck et al., 1973; Baldassari-Cruz et al., 1998; Andreasen et al., 1994). La formación de una barrera de tejido duro apical es un proceso reparativo del complejo dentino-pulpar. Sin embargo, las técnicas de apicoformación, ya sea con la colocación de hidróxido de calcio o MTA no tienen permitido continuar la maduración general de la raíz (fig. 14) Por lo tanto,

hay un mayor riesgo de fractura como consecuencia de las paredes dentinales delgadas y la pérdida prematura de los dientes (Cvek M., 1992).



Figura 13. Cemento MTA.

En este contexto, existen además líneas de investigación que contemplan procesos que permitirán una revascularización de los tejidos dentarios, una vez que han cursado con la patología propia endodóntica. Por ello, a continuación se describe dicho proceso.

REVASCULARIZACIÓN

El tratamiento de los dientes necróticos inmaduros es un reto en endodoncia (fig. 10). El desarrollo de las raíces tras una necrosis pulpar puede conducir a una débil estructura de la raíz con paredes dentinales delgadas, lo que hace que el diente sea susceptible a las fracturas y reduce su tasa de supervivencia (Cvek M, 1992).



Figura 14. La radiografía muestra un premolar inferior inmaduro necrótico con ápice abierto (A Thomson, *et al.*, 2010).

La revascularización es un nuevo procedimiento de tratamiento que puede reemplazar a los procedimientos de la apicoformación (Iwaya *et al.*, 2001, Banchs *et al.*, 2004; Chueh *et al.*, 2006; Jung *et al.*, 2008; Ding *et al.*, 2009; Chueh *et al.*, 2009; Reynolds K, *et al.*, 2009). Está diseñado para promover la revascularización de un diente permanente inmaduro con pulpa necrótica, periodontitis apical y absceso.

La caries de la dentina que progresa rápidamente o las lesiones traumáticas en los dientes permanentes de pacientes jóvenes, conducen a la inflamación de la pulpa y / o a la necrosis y periodontitis apical, que posteriormente interrumpen el desarrollo de las raíces incompletamente formadas. La presencia de un ápice abierto y paredes dentinales delgadas y frágiles presenta un problema que complica el manejo clínico de la pulpa y la enfermedad periapical (Thibodeau B, *et al.*, 2007).

Numerosas modalidades de tratamiento han sido recomendadas para inducir la continuación de la formación de la raíz (apicogénesis) o el cierre apical

(apicoformación). En general, los numerosos informes de la apicoformación experimental han utilizado, entre otros, el hidróxido de calcio ([Iwaya SI, et al., 2001](#)), el MTA ([Hachmeister DR, et al., 2002](#); [Felippe WT, et al., 2006](#)), polvo de dentina ([Yoshida T, et al., 1998](#)) y moléculas biológicamente activas o matrices ([Thibodeau B, et al., 2007](#); [Laureys W, et al., 2001](#)) que forman puentes de tejido calcificado apical en el ápice abierto.

La revascularización de una pulpa necrótica después de un incidente traumático como avulsión en un diente inmaduro con un ápice abierto, permite un mayor desarrollo de la raíz y un resultado deseable ([Andreasen JO, et al., 1995](#)). En este escenario clínico, la pulpa es necrótica, pero no infectada y puede actuar como una matriz para permitir la revascularización del diente. Las técnicas óptimas de reimplantación, la reimplantación inmediata para minimizar el riesgo de infección y una apertura apical superior a 1,1 mm aumenta las posibilidades de revascularización ([Kling M, et al., 1986](#)).

Recientemente, una serie de informes y de casos han descrito el desarrollo continuo de las raíces, incluso las respuestas a las pruebas de sensibilidad pulpar en dientes inmaduros necróticos con sistemas de conductos radiculares infectados, incluyendo aquellos con tracto fistuloso ([Iwaya SI, et al., 2001](#); [Banchs F, et al., 2004](#); [Jung IY, et al., 2008](#); [Thibodeau B, et al., 2007](#); [Chueh LH, et al., 2006](#); [Ding RY, et al. 2009](#); [Reynolds K, et al., 2009](#)). El procedimiento requiere de la mínima instrumentación o sin ésta, pero con abundante irrigación antiséptica de los conductos junto con la desinfección mediante el uso de la pasta triantibiótica

que consta de ciprofloxacina, metronidazol y minociclina con hidróxido de calcio. Estos procedimientos de revascularización han demostrado radiográficamente que inducen mayor engrosamiento de las paredes del conducto por la deposición de tejido duro y el desarrollo radicular continuo en los dientes permanentes inmaduros con pulpa necrótica, periodontitis apical y absceso ([Iwaya et al., 2001](#), [Banchs Trope 2004](#), [Chueh et al., 2006](#); [Jung et al., 2008](#); [Ding et al., 2009](#)). Se induce el sangrado intraconducto para la revascularización ([Chueh et al., 2006](#)). La naturaleza de los tejidos duros formados dentro del espacio del conducto y el desarrollo radicular continuo de los dientes permanentes inmaduros con periodontitis apical / absceso siguiendo los procedimientos de revascularización en los seres humanos no se conoce, porque no hay estudios histológicos disponibles. Se cree que en los dientes permanentes inmaduros con periodontitis apical, las pulpas están completamente necróticas. Sin embargo, la periodontitis apical es una extensión de la pulpitis apical ([Kovacevic et al., 2008](#)). Por consecuencia, la periodontitis apical puede desarrollarse en presencia de una porción apical inflamada con pulpa vital en el conducto de dientes maduros. Lin y cols., en 1984, y Cvek y cols., en 1990, demostraron histológicamente la presencia de tejido pulpar vital en la porción apical del espacio del conducto de incisivos inmaduros, a pesar de la presencia de abscesos periapicales. Por lo tanto existe la posibilidad de revascularización de los tejidos en algunas pulpas de dientes permanentes inmaduros humanos con periodontitis apical. Respecto a esto se ha especulado que la regeneración del tejido de la pulpa puede ocurrir después de la revascularización ([Chueh et al., 2006](#); [Cotti 2008](#)), pero es necesario la evidencia

histológica para validar esa posibilidad. La regeneración completa del tejido pulpar es poco probable que ocurra después de los procedimientos de revascularización en dientes permanentes inmaduros con pulpas necróticas infectadas. (Colwell *et al.*, 2003; Bullard *et al.*, 2003). El desarrollo de la raíz está regulada por las células (Nanci 2007; Zeichner-David *et al.*, 2003). Las células de HERS tienen que sobrevivir en orden para guiar el desarrollo continuo de la raíz en dientes inmaduros permanentes con periodontitis apical o abscesos siguiendo los procedimientos de revascularización. Para la regeneración del tejido pulpar, las células madre mesenquimales de los tejidos periapicales deben ser capaces de diferenciarse en odontoblastos (Shi *et al.*, 2005). Las células mesenquimales tienen el potencial de diferenciarse en células de tejidos específicos (Wagers *et al.*, 2004; Bianco *et al.*, 2008). Si el tejido es destruido por un gran absceso periapical o periodontitis, las células madre mesenquimales tendrán que ser capaces de transdiferenciarse en células del tejido para promover el desarrollo continuo de la raíz. En regeneración tisular o ingeniería de tejidos, es necesario que las células madre sean entregadas al sitio de destino preciso para que puedan instruir a diferenciarse en células del tejido comprometido (Nakashima *et al.*, 2005). Si los tejidos presentes dentro del espacio del conducto en dientes permanentes inmaduros de humanos con periodontitis apical o absceso después de los procedimientos de revascularización son diferentes a los tejidos de origen, entonces la revascularización será un proceso reparativo con la pérdida de la función biológica de la pulpa.

Los procedimientos regenerativos en endodoncia son de origen biológico, cuyo objetivo es sustituir fisiológicamente estructuras dañadas del diente, incluyendo a la dentina y a las estructuras de la raíz, así como las células del complejo dentino-pulpar ([AAE 2012](#)).

Los procedimientos regenerativos generalmente abogan por la colocación de una pasta triantibiótica para eliminar la infección intrarradicular que se considera como un requisito obligatorio para el éxito ([Steiner et al., 1971](#); [Torneck et al., 1973](#); [Baldassari-Cruz et al., 1998](#); [Andreasen et al., 1994](#)). La pasta triantibiótica consta de una combinación de ciprofloxacilina, metronidazol y minociclina que ha demostrado eliminar de forma fiable a las bacterias en la dentina del conducto radicular infectado mientras que los respectivos fármacos utilizados solos, han reducido sustancialmente las bacterias (fig. 12) ([Hoshino E, et al., 1996](#)). Esta combinación de fármacos también ha demostrado ser eficaz en la eliminación de bacterias en las profundas capas de la dentina en el conducto radicular ([Sato T, et al., 1993](#)). Sin embargo, una desventaja de esta técnica es la decoloración de la corona del diente, presumiblemente debido a la minociclina ([Reynolds K, et al., 2009](#)). Sato y cols., en 1993, estudiaron la eficacia antibacteriana de una variedad de combinaciones de antibióticos y se encontró que la amoxicilina, que se utiliza como el tercer antibiótico, también fue tan eficaz como la minociclina cuando se utiliza en combinación con ciprofloxacina y metronidazol en la eliminación de las bacterias ([Sato T, et al., 1993](#)).



Figura 11. Pasta triantibiótica ([Carol Abdulmesih T., 2010](#)).

- **Formación de coágulos sanguíneos en el espacio del conducto**

La inducción del sangrado para facilitar la curación es un procedimiento quirúrgico común. Fue propuesto por Ostby en 1961 para inducir la hemorragia y formar un coágulo de sangre en el espacio del conducto de dientes maduros con la esperanza de guiar la reparación del tejido del conducto. Aunque el potencial curativo y el mecanismo de defensa de la pulpa han estado mucho tiempo reconocidos, la intensidad y la naturaleza de la virulencia de la infección siguen siendo los factores determinantes para el resultado de la recuperación de la pulpa. En los dientes inmaduros, por tener una tejido pulpar grande, joven y un ápice abierto que permite el buen suministro sanguíneo, se ha observado el potencial curativo notablemente en condiciones que no habrían sido posibles para los dientes maduros ([George T.-J. Huang 2008](#)).

En este contexto, en un protocolo publicado en el 2013, por la Asociación Americana de Endodoncia (AAE), el procedimiento para los tratamientos de

endodoncia regenerativos en dientes inmaduros con pulpas necróticas se basa principalmente en dos etapas:

-1a etapa: Es la desinfección del conducto radicular con hipoclorito de sodio; la concentración recomendada por la AAE es de 1,5%, sin embargo, existen varios informes clínicos de éxito de concentraciones hasta del 6% NaOCl ([Reynolds K, et al., 2009](#); [Shin S, et al., 2009](#)), NaOCl 5,25% ([Banchs F, et al., 2004](#); [Nosrat A, et al., 2011](#)) y NaOCl 2,5% ([Chueh L, et al., 2006](#); [Chueh L, et al., 2009](#)). El siguiente nivel de la desinfección consiste en colocar un antibiótico en el conducto radicular ([Banchs F, et al., 2004](#); [Nostrat A, et al., 2011](#)) o pasta de hidróxido de calcio ([Chueh L, et al., 2006](#); [Cehreli ZC, et al., 2011](#)). Los objetivos de este paso son controlar los síntomas agudos del paciente (si está presente) y alcanzar el más alto nivel posible de desinfección para que el espacio del conducto radicular, de un entorno adecuado para la regeneración del complejo dentino-pulpar. El antibiótico más prevalente usado para este propósito es una mezcla igual de metronidazol, minociclina, y ciprofloxacina, llamada Pasta Antibiótica Triple (TAP). Estudios sobre la TAP han demostrado su eficacia en la desinfección del espacio del conducto radicular ([Windley W, et al., 2005](#)) y de las capas profundas de la dentina ([Hoshino E, et al., 1996](#)). Aunque el antibiótico más eficaz empleado en endodoncia, contra las bacterias es una mezcla de minociclina ([Adl A, et al., 2012](#)), hay informes clínicos de la desinfección con éxito de los conductos radiculares mediante el uso de la pasta doble antibiótica (metronidazol y ciprofloxacino) ([Hargreaves K, et al., 2013](#); [Iwaya S, et al., 2001](#)) y la TAP

modificada (metronidazol, ciprofloxacina y cefaclor) ([Thibodeau B, et al., 2007](#)). Una revisión reciente sobre los casos tratados desde 2004 hasta 2012 mostró que el protocolo de desinfección antes mencionado, es una estrategia exitosa que ha sido documentado con la curación radiográfica de la enfermedad periapical en todos los casos reportados ([Nosrat A, et al., 2012](#)).

-2ª etapa: El segundo paso se preforma durante la segunda cita que consiste en extraer el apósito del conducto, empleando ácido etilendiaminotetracético al 17% (EDTA) y la inducción de sangrado para que se forme un coágulo en el interior del espacio del conducto radicular. El uso de EDTA a este paso provoca la liberación de factores de crecimiento, que promueve la proliferación y diferenciación de SCAP (células madre de la papila apical) ([Graham L, et al., 2006](#)). Otra fuente potencial de factores de crecimiento en este protocolo de tratamiento es la liberación de factores de crecimiento tras la desintegración de las plaquetas del coagulo de sangre ([Hargreaves K, et al., 2008](#)). El coágulo de sangre también actúa como un andamio rico en proteínas y también ofrece SCAP en el espacio del conducto radicular. Un estudio mostró que el nivel de marcadores de células madre humanas en el coágulo de sangre formado en el interior del espacio del conducto radicular es hasta 600 veces más altos que los mismos marcadores en sangre periférica ([Lovelace TW, et al., 2011](#)). Informes recientes han demostrado que el plasma rico en plaquetas (PRP) también se puede utilizar como un andamio en este paso ([Torabinejad M, et al., 2011](#); [Jadhav G, et al., 2012](#)).

-3ª etapa: El coágulo de sangre tiene que ser sellado por un material biocompatible seguido de la restauración de la cavidad de acceso. El biomaterial más recomendado para sellar el espacio pulpar es el agregado de trióxido mineral (MTA) (Wigler R, *et al.*, 2013). Un estudio documentó el uso exitoso de una mezcla de calcio enriquecida de cemento (CEM) como material de sellado en el coágulo de sangre (Nosrat A, *et al.*, 2011).

Estudios de resultados retrospectivos muestran que este nuevo protocolo de tratamiento para los dientes inmaduros con causas de necrosis pulpar aumentan la longitud de la raíz y el espesor de la pared de la raíz (Bose R, *et al.*, 2009; Jeeruphan T, *et al.*, 2012). El uso de TAP como un medicamento intraconducto se asocia con un aumento significativamente mayor en el espesor de pared de la raíz en comparación con el hidróxido de calcio (Bose R, *et al.*, 2009). Un estudio reciente realizado por Jeeruphan y cols., 2012, mostró radiográficamente, que los dientes tratados mediante endodoncia regenerativa tienen significativamente más tasas altas de supervivencia y curación (de lesiones periapicales), en comparación con los dientes tratados por apicoformación con hidróxido de calcio. Aunque el éxito y la tasa de supervivencia de los casos tratados con procedimientos de endodoncia regenerativos fueron más altos que los casos tratados con un tapón apical de MTA, las diferencias no fueron significativas (Jeeruphan T, *et al.*, 2012). Sobre la base de los resultados de este estudio, este nuevo protocolo podría ser una mejor opción para el tratamiento de dientes inmaduros con pulpa necrótica independientemente del tipo de los tejidos

formados en el interior del conducto después del tratamiento. Sin embargo, los ensayos clínicos aleatorios, aún necesitan demostrar un nivel de éxito mayor.

Aunque hay varios informes de los resultados favorables de este tratamiento en la literatura, este nuevo enfoque puede potencialmente causar efectos desfavorables, los cuales deben ser abordados:

a) Decoloración: La decoloración de los dientes después del tratamiento endodóntico regenerativo es un problema grave. Según lo demostrado por Kim y cols., 2010, la causa principal de la decoloración de los dientes es la minociclina en TAP. Otros estudios han demostrado que la TAP tiene el potencial de decoloración más alta entre cualquier otro material endodóntico (Lenherr P, *et al.*, 2012). El uso de pasta de doble antibiótico (Hargreaves KM, *et al.*, 2013) o TAP modificado (Thibodeau B *et al.*, 2007) podría ser la solución a la prevención de la decoloración causada por la minociclina. Además, la presencia de MTA podría ser otra fuente de decoloración (Petrino J, *et al.*, 2010; Norat A, *et al.*, 2012) que se puede prevenir mediante el uso de materiales bioactivos del color del diente alternativos como el cemento CEM sobre el coágulo de sangre (Nosrat A, *et al.*, 2011; Nosrat A, *et al.*, 2010) que ha demostrado ser biocompatible y con una capacidad aceptable de sellado (Asgary S, *et al.*, 2013; Yavari HR, *et al.*, 2012).

b) Desfavorable o ningún desarrollo de las raíces: El desarrollo radicular en dientes inmaduros incluye aumento de la longitud de la raíz, el aumento de espesor de la pared y el cierre del ápice (maduración de la raíz). La falta de los criterios antes mencionados en desarrollo de la raíz se ha informado anteriormente ya que se puede considerar como un resultado desfavorable ([Petrino J, et al., 2010](#); [Nosrat A, et al., 2012](#); [Chen MY, et al., 2012](#)). Una revisión de la historia dental de los casos tratados con los tratamientos de endodoncia regenerativos reveló una relación entre necrosis pulpar a largo plazo antes del tratamiento (> 6 meses) y los malos resultados en términos de desarrollo de las raíces ([Nosrat A, et al., 2012](#)). Esto podría ser debido a la presencia de biopelículas bacterianas bien establecidas en las paredes dentinales que serían difíciles de eliminar con mínima o ninguna instrumentación. Además, el daño a las SCAP o a la vaina radicular epitelial de Hertwig debido a la infección periapical a largo plazo o los traumatismos dentales se han sugerido como otras razones ([Hargreaves KM, et al., 2013](#); [Nosrat A, et al., 2012](#)). Curiosamente, todos los casos reportados con desfavorable o ningún desarrollo de las raíces han demostrado la curación radiográfica completa de las lesiones periapicales ([Nosrat A, et al., 2012](#)). El tratamiento tradicional de endodoncia, reduce la carga bacteriana y evita el acceso de las bacterias a los tejidos periapicales, conduciendo a la curación. Sin embargo, se requiere un mayor nivel de desinfección para la regeneración de la pulpa ([Fouad AF, 2011](#)). Además, es importante mencionar que en los dientes más jóvenes, las bacterias pueden penetrar en más túbulos

de la dentina y avanzar más profundo en comparación con los dientes seniles (de mayor edad) (Kakoli P, *et al.*, 2009). Por lo tanto, la desinfección de los espacios de los conductos radiculares de los dientes inmaduros es todo un reto, y hay una necesidad de desarrollar regímenes antimicrobianos más eficaces para crear un entorno propicio para la regeneración predecible del complejo dentino-pulpar y el desarrollo de las raíces.

- c) Espacios del conducto radicular vacío (sin regeneración de tejidos):** La probabilidad de que el espacio del conducto radicular este “vacío” después de un tratamiento de endodoncia regenerativa o nulo desarrollo de las raíces, fue descubierto por primera vez por Lenzi y Trope en el 2012. En este estudio, trataron a dos incisivos centrales superiores inmaduros con necrosis pulpar y lesiones periapicales. Los dientes estaban en diferentes etapas de desarrollo. El que presentaba la raíz más corta y un ápice más ancho tenía lesión periapical grande y no mostró desarrollo de las raíces 21 meses después del tratamiento. Su hipótesis es que la inducción del coágulo de sangre era físicamente débil y se podría haber desintegrado después del tratamiento, dejando el espacio del conducto radicular vacío. Sin embargo, documentaron la curación completa de la lesión periapical en las radiografías periapicales y las imágenes en 3D. Nosrat y cols., 2012, documento espacios del conducto radicular vacíos clínicamente en dos incisivos centrales superiores 6 años después del tratamiento regenerativo. Ambos dientes mostraron la curación completa de las lesiones periapicales y signos

radiográficos de cierre apical (maduración de la raíz), sin aumento de la longitud de la raíz o el espesor de la pared de dentina. Dado que los criterios exactos para el éxito del tratamiento no se ha determinado, sin embargo, estos resultados no pueden ser considerados como "fracasos clínicos", pero muestran que los resultados del actual protocolo para la regeneración de la pulpa pueden ser impredecibles.

- **Resultados histológicos de estudios en animales**

Los estudios en animales sobre el protocolo para la regeneración de la pulpa los han documentado histológica y radiográficamente, la formación de nuevos tejidos duros en las paredes de la dentina radicular y cierre apical. También mostraron nuevos tejidos en crecimiento en el espacio del conducto radicular ([Thibodeau B, et al., 2007](#); [Wang X, et al., 2010](#); [Da Silva et al., 2010](#)). Todos estos estudios se han realizado en modelos caninos. Thibodeau y cols., 2007, evaluaron el efecto del coágulo de sangre y un andamio de colágeno soluble. Ellos mostraron que la cantidad de tejidos vitales dentro de los conductos radiculares y la cantidad de tejido duro depositado en las paredes de la dentina no eran diferentes en presencia o ausencia del coágulo de sangre dentro del espacio del conducto radicular. Además, la presencia de un andamio de colágeno soluble no mejoró los resultados. La evaluación histológica detallada, de las mismas muestras de Wang y cols., 2010, reveló que había tres tipos de tejidos formados en el interior de los conductos radiculares tras el tratamiento: tejido semejante al cemento, el cual fue el responsable de los incrementos en largo y grosor, tejido similar al

hueso y tejido similar al ligamento periodontal en el espacio del conducto radicular, pero sin pulpa ni dentina.

da Silva y cols., 2010, mostraron que el tejido vital formado dentro del espacio del conducto radicular después del tratamiento es generalmente un crecimiento del tejido conectivo periodontal hacia el espacio del conducto radicular. Un hallazgo interesante en este estudio fue la presencia de inflamación en casi todos los especímenes en los grupos experimentales. También mostraron que el uso de EndoVac con NaOCl para la irrigación del conducto radicular sería una mejor opción que la irrigación con NaOCl más TAP. Yamauchi y cols., 2011, intentaron llevar a cabo la regeneración de la pulpa en un modelo de perro mediante la adición de una estructura de colágeno insoluble al coágulo de sangre y el uso del EDTA al 17%. El EDTA se utiliza como un agente de desmineralización para liberar factores de crecimiento incorporados en las paredes dentinales y exponer la matriz de dentina y, por lo tanto, promover la diferenciación de las células mesenquimales. El análisis inmunohistoquímico de los tejidos formados después del tratamiento mostró que el tejido duro formado en las paredes de la dentina presentó un tejido semejante al cemento con diferente organización y maduración de las fibras de colágeno.

Todos estos estudios en animales mostraron que el reciente protocolo de regeneración de la pulpa no es predecible en términos de formación de algún tipo de tejido, en el interior del conducto radicular y en las paredes de la dentina. Sin embargo, ninguno de estos estudios en animales investigó la presencia de células

madre en la papila apical después de la inducción de la infección periapical, o en el coágulo de sangre (Nosrat Ali, *et al.*, 2014).

- **Informes histológicos de dientes humanos**

El primer informe histológico del resultado de la regeneración pulpar en dientes humanos fue realizado por Torabinejad y Faras en el 2012. En este estudio se llevó a cabo un tratamiento de conductos en un premolar superior que había recibido tratamiento de endodoncia regenerativa (14 meses antes) mediante el uso del plasma rico en plaquetas (PRP) como andamio. Debido al método de muestreo de tejidos, los investigadores no lograron proporcionar información sobre el complejo dentino-pulpar y el tejido duro depositado sobre las paredes del conducto de la raíz. Ellos mostraron la presencia de un tejido conectivo pulpar en el interior del conducto.

Shimizu y cols., en el 2012, realizaron evaluaciones histológicas en un incisivo central superior tres semanas y media después del tratamiento. El diente fue extraído debido a una fractura oblicua a nivel de la unión amelo-dentinaria, debido a un impacto traumático. Ellos demostraron que el tejido dentro del conducto radicular era un tejido conectivo laxo similar a los de una pulpa inmadura que contenían fibroblastos fusiformes y células mesenquimales. Otro informe sobre el resultado histológico del tratamiento en dientes humanos hecho por Martin G y cols., en el 2013, los cuales realizaron un tratamiento de endodoncia regenerativa en un molar mandibular mediante PRP (plasma rico en plaquetas) en un conducto distal y un coágulo de sangre en los conductos mesiales. El diente fue extraído a

los 25 meses del tratamiento debido a una fractura oblicua de las cúspides linguales. El tejido mineralizado formado en las paredes del conducto radicular era tejido cementoide / osteoide y los espacios de los conductos radiculares se llenaron de tejido conectivo y vasos sanguíneos vitales. Independientemente del tipo de andamio, demostraron que no había tejido pulpar dentro de los conductos.

En conjunto, los datos antes mencionados muestran que, aunque el reciente protocolo para la revascularización de la pulpa tiene una mayor tasa de éxito y de supervivencia en comparación con otros métodos de tratamiento para los dientes inmaduros con necrosis pulpar, el resultado biológico del tratamiento todavía no es predecible y no es del todo claro si realmente se trata de una regeneración pulpar. Parte del problema podría estar relacionado con las estrategias de desinfección. Un estudio realizado por Treviño y cols., 2001, demostró que el efecto del NaOCl sobre las SCAP es altamente tóxico e impide la repoblación de SCAP en las paredes de la dentina.

En este contexto, la investigación de la capacidad de las células madre de la pulpa dental (DPSC) a adherirse a la dentina después de haber sido expuestos a diferentes irrigantes, reveló que la irrigación con NaOCl fue relacionado con un menor grado de adherencia de las células ([Ring K, et al., 2008](#)). Además, la desnaturalización de las proteínas de la dentina por NaOCl interfiere con la diferenciación de células madre en contacto con la dentina ([Casagrande L, et al., 2010](#)). Además, las pastas antibióticas podrían ser otra amenaza para la

regeneración de la pulpa. Un estudio reciente realizado por Ruparel y cols., en el 2012, mostró que TAP en consistencia cremosa (1,000 mg / ml) sería extremadamente tóxica para las SCAP. El estudio reveló que una concentración de 0,01 a 0,1 mg / ml sería favorable para la supervivencia de las SCAP. Una baja concentración de antibiótico es una solución acuosa no sería estable en el interior del espacio del conducto radicular y por lo tanto, un portador biocompatible tiene que ser usado para mantener el apósito durante unas pocas semanas. Además, la eficacia antibacteriana de los antibióticos en esta baja concentración es otra preocupación que merece ser estudiada.

Se ha propuesto que el camino a seguir es el desarrollo de terapias basadas en los principios de ingeniería de tejidos es mediante una tríada de células madre, factores de crecimiento y andamios bioactivos ([Hargreaves L, et al., 2008](#)), las ventajas en estas alternativas para dirigir el proceso de regeneración, incluyen posibilidades a futuro, tales como ser capaz de personalizar el diseño de una pulpa con la respuesta inmunitaria apropiada, la vitalidad y la sensibilidad. Poder controlar la regeneración evitando resultados desfavorables, y así sus aplicaciones para tratamientos de los dientes inmaduros podrían llegar a desarrollarse. El tejido potencialmente regenerado de la pulpa podría ser dirigido para producir una superposición de dentina precisamente donde sea necesario para restaurar la estructura del diente dañado, o para aumentar la longitud y grosor de las raíces.

- **El potencial calcificante de las células progenitoras en la pulpa dental y en la papila apical**

En todos los casos, el tejido duro mostró una estructura de cemento similar al hueso. La nueva formación de dentina y la diferenciación de las células en odontoblastos en el puente apical, nunca se ha reportado a lo largo de las paredes dentinales en el espacio del conducto radicular. En unos estudios en los que la dentina tubular se deposita junto con osteodentina o cemento en el tercio apical de la raíz, se asoció con los restos de pulpa vital (eliminación parcial pulpar o necrosis parcial de la pulpa) ([Torneck CD, et al., 1973](#); [Yoshida T, et al., 1998](#); [Torneck CD, et al., 1973](#); [Wang X, et al., 2010](#)). El tejido vital intrapulpar contiene muchos vasos sanguíneos y cuando los haces de colágeno son infiltrados por las células inflamatorias, están directamente relacionados con la deposición de tejido ([Dimitrios Tziafas, et al., 2010](#)).

Recientemente, Huang y cols., en el 2010, demostraron la síntesis de nuevo tejido pulpar humano vascularizado mediante la implantación de conductos radiculares humanos vaciados que contienen esqueletos de polímero sembrados con células de la pulpa dental o células madre de la papila apical en el tejido subcutáneo de ratones inmunodeficientes. Se observó una capa continua de tejido como dentina que recubre las paredes de dentina del conducto. Los autores sugirieron que las características del tejido de dentina regenerada diferían de las de la dentina natural (ausencia de túbulos de dentina, la morfología celular) ([Dimitrios Tziafas, et al., 2010](#)).

Tres estudios que informan de casos clínicos de dientes inmaduros con periodontitis apical, mostraron que el control de la infección del conducto radicular sin instrumentación del conducto radicular y sin obturación puede dar lugar a la maduración de las paredes dentinales de la raíz y del ápice (Iwaya SI, *et al.*, 2001; Banchs F, *et al.*, 2004; Chueh LH, *et al.*, 2006). Sonoyama y cols., en el 2008, plantearon la hipótesis de que las células progenitoras de la papila apical sobrevivieron a la infección como consecuencia de la proximidad a la fuente de sangre y del periodonto, dando lugar a odontoblastos bajo la influencia de la vaina epitelial de la raíz, completando la formación de las raíces (Dimitrios Tziafas, *et al.*, 2010).

- **Enfoques Experimentales *in situ***

En un estudio previo de un grupo de investigadores, evaluaron los efectos de la dentina desmineralizada y la matriz ósea en las células de la pulpa dental ectomesenquimal y los sitios de la papila apical de los dientes en erupción de perros (Tziafas D, *et al.*, 1990). Otro enfoque experimental *in-situ* e *in-vivo* para evaluar las reacciones de la papila apical con influencias exógenas en el desarrollo de los dientes no se ha intentado. Es bien reconocido que las matrices óseas desmineralizadas y la dentina tienen propiedades osteoinductoras cuando son implantadas en el músculo, médula ósea y los sitios de ligamento periodontal. Además, los efectos dentinoinductivos de la matriz de dentina desmineralizada o la matriz de dentina sobre los sitios de la pulpa dental han sido informados (Dimitrios Tziafas, *et al.*, 2010).

En el estudio mencionado anteriormente, la dentina desmineralizada autógena y el hueso de la matriz se implanta en sitios centrales de la pulpa completamente desarrollada, en la erupción de los dientes y en los sitios del ápice en desarrollo de los dientes en erupción, frente al tejido más mesenquimal (papila del lado de la pulpa) y a continuación al nivel de la membrana epitelial (papila del lado apical). En los sitios de la pulpa, la formación de dentina reparativa se asocia con la diferenciación celular odontoblastica o la formación de osteodentina que se encuentran alrededor de la dentina implantada o matriz ósea, respectivamente. Sin embargo, en el sitio del ápice en desarrollo, se notó una diferencia característica entre las respuestas del tejido con las matrices implantadas. Alrededor de los implantes de dentina desmineralizada y sobre todo en relación con la papila del lado de la pulpa, se demostró la deposición de la matriz ósea. En algunos de los sitios más coroneles de la matriz depositada correspondiente a los sitios pulpares, se observó dentina tubular con una disposición odontoblástica. Los implantes de hueso desmineralizado, al contrario, estaban rodeados por un tejido conectivo fibroso sin ninguna formación de la matriz calcificada. Estas observaciones indican claramente que el potencial de calcificación de los tejidos de la pulpa y de la papila apical es diferente. Las células de la papila apical nunca fueron capaces de formar una matriz calcificada, incluso en contacto con una influencia específico dentinoinductiva. Debido a la posibilidad de las diferencias en el oxígeno derivado de la sangre (que es importante en los eventos regenerativos) entre los sitios de la pulpa y de la papila no pueden ser excluidos, los investigadores sugieren que las diferentes respuestas a las mismas señales

epigenéticas podrían ser atribuidas al potencial de la célula y / o la composición de la matriz extracelular circundante ([Dimitrios Tziafas, et al., 2010](#)).

MEDICACIÓN INTRACONDUCTO

La medicación intraconducto se utiliza cuando el tratamiento no puede completarse en una cita, porque las bacterias intraconducto sobrevivientes proliferan a menudo entre cita y cita. Para reducir el recrecimiento bacteriano e incluso mejorar la supresión bacteriana, puede ser útil aplicar medicación intraconducto. La medicación antimicrobiana inhibe la proliferación y elimina las bacterias sobrevivientes, además de minimizar el acceso de éstas a través de una restauración filtrante ([Zvi Metzger, et al., 2011](#)).

HIDRÓXIDO DE CALCIO

El hidróxido de calcio $\text{Ca}(\text{OH})_2$ desde su introducción en Odontología, ([Hermann 1928](#)) ha sido ampliamente utilizado como un agente mineralizador, así como un medicamento antimicrobiano eficaz (fig. 11). El $\text{Ca}(\text{OH})_2$ se considera como el estándar de oro para la comparación y evaluación de los nuevos productos ([Goldberg et al., 2008](#)).



Figura 10. Hidróxido de calcio.

Los mecanismos de acción antibacteriana del Ca (OH)_2 se han discutido ampliamente en los últimas décadas, pero su mecanismo dentinogénico ha recibido poca atención ([Estrela et al., 2007](#), [Siqueira & Lopes 1999](#), [Athanasiadis et al.2007](#)).

Se puede afirmar que algunas de las acciones no específicas del Ca (OH)_2 pueden ayudar en la reparación, proporcionando un entorno óptimo para la capacidad de curación de la pulpa. Amplia evidencia tanto *in-vitro* como *in-vivo* en modelos no humanos, está disponible para indicar que el material provoca dentinogénesis terciaria a través de la activación de ciertas vías específicas en la pulpa ([P. Sangwan et al., 2012](#)).

El uso del Ca (OH)_2 para la formación de la barrera apical ([Rafter M. 2005](#)) tiene una tasa de éxito de un 74-100% de los casos independientemente de la marca patentada utilizada. La duración media de tiempo de la formación de una barrera apical es aproximadamente de 5 a 20 meses. El control de la infección y la limpieza adecuada del conducto radicular es muy importante para la curación apical. Mientras que la tasa de éxito en la formación de la barrera apical utilizando

Ca (OH)₂ es alta, el seguimiento a largo plazo de estos dientes es necesario, lo cual puede generar problemas.

Históricamente, como ya se mencionó anteriormente el tratamiento de elección en los dientes inmaduros necróticos (apicoformación) para inducir la formación de una barrera de tejido duro apical, es la colocación de Ca (OH)₂ en múltiples visitas ([Rafter M, 2005](#)). Este tratamiento podría considerarse como exitoso, sin embargo, se sabe que el uso a largo plazo del Ca (OH)₂ tiene varias desventajas, que incluyen diversas citas de tratamiento, siendo muy probable que ocurra una nueva contaminación del sistema de conductos radiculares, además aumenta la fragilidad de la raíz y por tanto es más susceptible a las fracturas radiculares ([Sheehy E, et al., 1997](#); [Andreasen J, et al., 2002](#)). La obturación del conducto radicular utilizando cementos bioactivos, que ayuden a crear una barrera apical, se introdujo como una técnica alternativa de tratamientos de dientes inmaduros con necrosis pulpar ([Torabinejad M, et al., 1999](#); [Nosrat A, et al., 2011](#)); aunque estas técnicas tienen una tasa de éxito razonables en cuanto a la curación de la enfermedad periapical ([Wetherpoon D, et al., 2008](#); [Mente J, et al., 2009](#); [Holden D, et al., 2008](#)), hasta ahora, este tipo de tratamientos no han logrado un adecuado desarrollo y fortalecimiento de la raíz ([Nosrat Ali, et al., 2014](#)).

Reacciones histológicas

El resultado final es la deposición de la matriz de dentina y biológicamente dos distintas secuencias de eventos se producen dependiendo de si los odontoblastos existentes sobreviven al trauma. Para diferenciar y reconocer los acontecimientos,

se han empleado dos diferentes términos: “dentinogénesis reaccionaria” y “dentinogénesis reparadora”. La dentinogénesis reaccionaria generalmente sigue un trauma de naturaleza suave en que la zona de la matriz de dentina terciaria es secretada focalmente por odontoblastos preexistentes. Por otro lado, la dentinogénesis reparadora consiste en la secreción de la matriz de dentina terciaria por un acto de nueva generación de células secretoras después de la muerte de los odontoblastos primarios en respuesta a una exposición pulpar directa o una mayor intensidad del trauma ([Lesot et al.1993](#), [Smith et al., 1994](#)).

La aplicación de $Ca(OH)_2$ en la proximidad cercana a la pulpa precipita un conjunto de eventos. De estos, la formación de dentina terciaria parece aportar la protección más importante que puede, no sólo reducir la permeabilidad de la dentina, sino también aumentar la distancia entre la fuente de irritación y de la pulpa, reduciendo la cantidad de daños incurridos. Esta dentina terciaria se ha subdividido en dos tipos dependiendo de si la dentina ha sido secretada recientemente por odontoblastos primarios preexistentes o por las células secretoras, que han migrado a la región tras la muerte de odontoblastos primarios. Como los odontoblastos en la región ya se han perdido, nuevas células capaces de la secreción de biomatriz son necesarias. Esto implica la proliferación de las células capaces de formar las células secretoras, su migración, la adherencia al sustrato y finalmente la citodiferenciación en de las células como odontoblastos ([P. Sangwan et al., 2012](#)).

El $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ha demostrado recientemente que aumenta el reclutamiento, la migración, la proliferación y mineralización de las células madre de la pulpa dental (Ji *et al.*, 2010), facilitando así el proceso de reparación de la dentinogénesis. El $\text{Ca}(\text{OH})_2$ se coloca contra la pulpa, el pH alto del material causa irritación y produce un área superficialmente quemada en el lugar de la exposición. Esta zona de coagulación de necrosis es vital para la formación de dentina terciaria. Estudios ultraestructurales (Yoshida *et al.*, 1996) han demostrado que la calcificación inicial después de la aplicación de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ se asocia con detritos celulares, el colágeno y las fibrillas inflamadas en la interfase de la capa necrótica superficial y el tejido de la pulpa vital subyacente. Sea la formulación de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ utilizado para procedimientos de recubrimiento, la irritación causada por el material y el daño causado inicialmente es abordada por el mismo proceso de curación de la pulpa (P. Sangwan *et al.*, 2012).

Lu y cols., en el 2008, evaluaron la respuesta del tejido de la pulpa humana al recubrimiento pulpar. Observaron la aparición de una capa necrótica en el sitio alrededor de 7 días después de la aplicación de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ asociado con una leve a moderada reacción inflamatoria caracterizada por la infiltración de neutrófilos y células mononucleares. El tejido de la pulpa fue desorganizado con vasos sanguíneos dilatados. La matriz de dentina apareció alrededor de 30 días más tarde una vez que los eventos inflamatorios celulares y vasculares comenzaron a desaparecer y nuevas células secretoras potenciales llegaron a la región a la reparación del efecto. Otras investigaciones sugieren que el engrosamiento de la

barrera y el aspecto de la dentina con estructura tubular limitada se observa en aproximadamente 4 semanas después del procedimiento del recubrimiento (Yoshida *et al.*, 1996).

Elevada expresión de biomoléculas

La deposición de dentina como una respuesta protectora de las lesiones pulpares es un evento bien regulado guiado por un conjunto de moléculas biológicamente activas. Recientes trabajos dirigidos a establecer el papel de biomoléculas han señalado a la transformación de factores de crecimiento (Dobie *et al.*, 2002, Huojia *et al.*, 2005), osteoproteínas morfogenéticas (Nakashima 2005), similar a la insulina, factor de crecimiento (Onishi *et al.*, 1999), factor de crecimiento de fibroblastos (Kettunen *et al.*, 2000, Kim *et al.*, 2010) y fibronectina (Mizuno y Banzai 2008) como los más capaces de inducir cambios funcionales en las células secretoras de la dentinogénesis terciaria resultante. La fibronectina se considera una molécula clave, ya que interviene en la adherencia de las células secretoras de matriz al sustrato (Wang *et al.*, 2000), que puede ser predentina, dentina, tejido necrótico o cemento. La fibronectina también posee capacidad de enlazar TGFb (Mooradian *et al.*, 1989), que a su vez estimula la citodiferenciación de los odontoblastos y más tarde, a la secreción de la matriz de dentina. Las osteoproteínas Morfogenéticas (BMPs), un grupo de las citoquinas, son miembros de la familia TGFb y juegan un papel esencial en promover la diferenciación de odontoblastos (Thesleff *et al.*, 1995) y la inducción de la formación de dentina (Nakashima 1994). Los más importantes involucrados en el proceso de reparación

son BMP-2, BMP-4 y BMP-7 (Nakashima 1994, Lin *et al.*, 2007). El factor de crecimiento transformador b (TGFb), se sabe que juega un papel importante en la reparación de varios tejidos, además de que aumenta la actividad de proliferación, diferenciación y mineralización de las células de la pulpa dental (Melin *et al.*, 2000, Nie *et al.*, 2006).

Se ha demostrado que CA (OH)₂ tiene la capacidad para inducir la mineralización y formación de la matriz durante la dentinogénesis a través de la liberación de estas biomoléculas. Sin embargo, debido a sus evidentes limitaciones, debe ejercerse con precaución (P. Sangwan *et al.*, 2012).

Papel del pH

La opinión tradicional siempre ha atribuido a la acción mineralizante del CA (OH)₂ para la liberación de los iones del oxhidrilo y el pH alcalino resultante (Glass y Zander 1949, Schroöder y Granath 1971, Stanley y Lundy 1972). Se ha confirmado que un aumento en el pH dentro de los límites fisiológicos, mejora la capacidad de mineralización de las células de la pulpa humana (Okabe *et al.*, 2006). La formación de la matriz de dentina por odontoblastos está regulada por la presencia de moléculas inhibitoras. Estas biomoléculas pueden conseguir desnaturalizarse en un medio ambiente alcalino proporcionado por CA (OH)₂ (P. Sangwan *et al.*, 2012).

Estudios *in vitro* informaron que el pH óptimo alcalino para la actividad de la fosfatasa es de alrededor de 10 (Heithersay 1975). Este favorable ambiente

alcalino *in vivo* puede ser proporcionado por el CA (OH)₂. El PH alcalino también puede neutralizar directamente los ácidos producidos por las células de reabsorción y prevenir la progresión de la resorción. Del mismo modo, puede contrarrestar la acidez del medio ambiente producido por la reacción inflamatoria, que es perjudicial para el proceso de curación propiamente ([Heithersay 1975](#)). Un estudio reciente también ha demostrado que el pH alcalino puede desnaturalizar los mediadores proinflamatorios para ayudar en la resolución de la inflamación perjudicial ([Khan et al., 2008](#)). Del mismo modo, el pH alto, también puede causar desnaturalización de los lipopolisacáridos derivados de las bacterias y ayudar a reducir la severidad de la inflamación ([P. Sangwan et al., 2012](#)).

El papel de los iones de calcio

Los iones calcio intervienen en la regulación de las funciones celulares del cuerpo; la respuesta biológica del CA (OH)₂ también se atribuye a los iones calcio liberados de la aplicación del material de CA (OH)₂. El CA (OH)₂ aplicado a la pulpa se disocia en CA⁺⁺ y OH⁻. La disolución continua del material produce un microambiente local con alta concentración de Ca⁺⁺. Esta concentración es mayor en el sitio de aplicación y va en disminución a distancia, formando así un gradiente. Un gradiente Ca⁺⁺ es capaz de activar a las células madre, ([Adams et al., 2006](#)), osteoblastos ([Yamaguchi et al., 1998](#)) y fibroblastos ([Lansdown 2002](#)). Se ha reportado que Ca⁺⁺ es un potente regulador de otros eventos celulares como la proliferación, diferenciación y mineralización ([Torneck et al., 1983](#), [Kulesz-Martin et al., 1984](#), [Zayzafoon 2006](#)). Hay evidencia de que Ca⁺⁺ estimula la

síntesis de fibronectina en las células de la pulpa dental ([Mizuno y Banzai, 2008](#)). También ha sido demostrado en un estudio que el Ca^{++} extracelular regula el gen de expresión de proteínas relacionadas con el hueso como BMP-2 y osteopontina en las células de la pulpa humana ([Rashid et al., 2003](#)). Los autores concluyeron que Ca^{++} extracelular, desempeña un importante papel en la mineralización dental inducida por el $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ([P. Sangwan et al., 2012](#)).

Presentación de una superficie biológicamente activa

Aunque el mecanismo exacto sigue siendo confuso, la presencia de un soporte mecánico parece ser un requisito previo esencial para la iniciación de la formación de dentina reparadora ([Tziafas, 2010](#)). La membrana basal durante la fase de desarrollo o fibrodentina, superficie de la zona necrótica, matriz colagenosa, cementos o cristales que se depositan durante la fase reparadora podrán prever tal apoyo. El sustrato también proporciona una superficie dinámica de los componentes para fijar, orientar y depositar las células reparatoras de la matriz ([P. Sangwan et al., 2012](#)).

Se ha encontrado a la fibronectina fuertemente relacionada con los microcristales formados en la superficie con $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ([Tziafas et al., 1995b](#)). Esto, por lo tanto, ayuda directa o indirectamente en la diferenciación del Odontoblasto ([P. Sangwan et al., 2012](#)).

Por lo tanto, se puede afirmar que el CA (OH)₂ proporciona una superficie rica en moléculas biológicamente activas, que ayuda a atraer y orientar a los odontoblastos para el comienzo de la dentinogénesis (P. Sangwan *et al.*, 2012).

Acción antimicrobiana

Durante mucho tiempo se ha mencionado que la curación puede ocurrir espontáneamente en dientes de animales libres de gérmenes (Kakehashi *et al.*, 1965). Esto implica que la curación del complejo dentino-pulpar es obstaculizado principalmente por la contaminación bacteriana. Así, en casos debidamente indicados, la eliminación de bacterias debería al menos ayudar parcial o totalmente en el proceso reparativo (P. Sangwan *et al.*, 2012).

Las propiedades antimicrobianas del CA (OH)₂ son bien conocidas y principalmente atribuidas a su pH altamente alcalino de cerca de 12.5 a la cual muy pocas bacterias pueden sobrevivir (Bystrom *et al.*, 1985). En un pH tan alto, puede provocar la desnaturalización de las proteínas estructurales así como enzimáticas, con la resultante pérdida de la actividad biológica de las enzimas y la muerte eventual de la célula. También daña a la membrana citoplasmática y al material genético inhibiendo actividades celulares. Como el CA (OH)₂ limita su solubilidad y difusibilidad, su actividad antimicrobiana se limita a las capas más superficiales de la pulpa. Por lo tanto, se puede decir que el uso del CA (OH)₂ puede tener éxito solamente en casos de mínima invasión bacteriana. Esto es evidente clínicamente cuando el recubrimiento pulpar tiene éxito sólo cuando la

contaminación bacteriana se limita a los tejidos blandos superficiales y cuando la reacción inflamatoria es suave y de corta duración relativamente. Si las bacterias han penetrado a gran profundidad en la pulpa conducen a la inflamación severa y los procedimientos generalmente fallan ([Goldberg et al., 2008](#)).

Todas las observaciones anteriores indican que el CA (OH)₂ puede ayudar en el proceso de reparación mediante la eliminación de la contaminación de bacterias para proporcionar un ambiente libre de gérmenes con inflamación mínima ([P. Sangwan et al., 2012](#)).

Acción antiinflamatoria

Aunque la naturaleza de la inflamación en el tejido pulpar es la protección, también puede tener ciertos efectos colaterales. Encerrado en una estructura rígida, provoca un aumento significativo en la presión que puede llevar a la compresión de los vasos y quebrantar el flujo sanguíneo. Además, las células causan resorción por la secreción de los iones de hidrógeno y la generación de un pH bajo. Este indeseable pH puede contrarrestar al medio ambiente alcalino creado por el CA (OH)₂ evitando la destrucción de los tejidos ([P. Sangwan et al., 2012](#)).

Los mediadores inflamatorios endógenos, juegan un papel decisivo en la regulación de la inflamación y la consecuente destrucción tisular ([Cochran 2008](#); [Gabay et al., 2010](#)). Se ha observado que la deposición de la matriz y su consecuente mineralización puede suprimirse cuando los odontoblastos se

enfrentan con productos bacterianos derivados como los lipopolisacáridos y el ácido lipoteicoico (Durand *et al.*, 2006; Nomiya *et al.*, 2007). Estos subproductos pueden causar más daños al tejido pulpar aumentando la reacción inflamatoria (Saluk-Juszczak y Wachowicz, 2005). Las propiedades biológicas de dichos componentes se ven alterados por él, quitando así el efecto inhibitorio de las células con reducción de la inflamación y la facilidad de la dentinogénesis (Safavi y Nichols 1993; Barthel *et al.*, 1997; Baik *et al.*, 2011).

La evidencia de su acción antiinflamatoria adicional es proporcionado por un estudio *in vitro* llevado a cabo para evaluar la acción directa del CA (OH)₂ en las células inflamatorias (Segura *et al.*, 1997). Se informó que el CA (OH)₂ inhibe significativamente la capacidad de adherencia del sustrato de los macrófagos inflamatorios. Los autores sugieren que este efecto podría explicar, al menos en parte, la propiedad de mineralización del material: la acción de los osteoclastos y dentinoclastos, las células derivadas de los macrófagos disminuirían y la balanza se inclinaría a favor de los mecanismos osteogénicos / odontogénicos (P. Sangwan *et al.*, 2012).

Puede decirse que mientras que algunas de las acciones inespecíficas del Ca(OH)₂ pueden ayudar en la reparación, proporcionando un ambiente óptimo para la pulpa mejorando su inherente capacidad de curación, amplia evidencia está disponible para indicar que el material causa dentinogénesis terciaria a través de la activación de ciertas vías específicas en el pulpa (P. Sangwan *et al.*, 2012).

La investigación continua es necesaria para lograr una visión global de la respuesta del tejido pulpar a estos biomateriales para entender mejor la concentración óptima, la formulación y el mecanismo de liberación del material para lograr la regeneración y reparación óptima ([P. Sangwan et al., 2012](#)).

ALOE VERA

En los últimos años la inclusión de plantas medicinales es una alternativa a la medicina y ha ido en aumento en nuestra sociedad como una forma de mejorar la calidad de vida. Esto surge por las propiedades terapéuticas de las plantas, que son útiles en la curación de diversas enfermedades, con la ventaja de ser 100% naturales. El Aloe Vera (AV) es una planta tropical perteneciente a la familia Liliaceae, que se utiliza como un acelerador de curación en pequeñas heridas y quemaduras por su efecto antimicrobiano y la acción de epitelización en piel dañada ([Prakash P Athiban, et al., 2012](#)).

Muchos estudios de los efectos inmunológicos de los extractos de las plantas de Aloe Vera, se han centrado en el gel claro mesófilo de la hoja y en su principal carbohidrato de almacenamiento, el manano acetilado. “Acemanano” es el nombre dado a la fracción principal de hidratos de carbono, un polisacárido o una mezcla de polisacáridos, obtenidos a partir del gel de la hoja de Aloe vera. El Acemanano se sabe que tienen diversas actividades biológicas, incluyendo atributos inmunomoduladores y antitumorales. En informes anteriores el polisacárido de Aloe inhibe la proliferación de células tumorales y su crecimiento; lo utilizan para

la preparación de medicamentos antitumorales para el tratamiento de cáncer de hígado. Este polisacárido de Aloe, combinado con agentes quimioterapéuticos, tales como cisplatino (DDP) y 5 - fluorouracilo (5-FU), mejora el efecto terapéutico y reduce los efectos secundarios adversos (Fig. 15) (Eli Harlev, *et. al.*, 2012).



Figura 15. Gel extraído de la hoja de Aloe Vera

Los beneficios para la salud asociados con el Aloe Vera se han atribuido a su composición heterogénea, que contiene enzimas, vitaminas, aminoácidos, polisacáridos y otras sustancias de bajo peso molecular. Un análisis de los efectos del Aloe Vera con respecto a los requisitos para la cicatrización, como el mantenimiento de nutrientes, humedad, oxigenación, control de la inflamación, inmunomodulador, proliferación de fibroblastos y epitelización, indicó que los productos del Aloe Vera cumplen casi todas estas necesidades. Estudios han demostrado que el Aloe Vera tiene actividad antiinflamatoria y que aumenta el contenido de colágeno dentro de las heridas. El Aloe Vera, también tiene potencial antibacteriano, antimicótico y antiviral. Los efectos antimicrobianos del Aloe vera se han atribuido a las antraquinonas naturales de la planta, que han demostrado la inhibición *in vitro* de *Mycobacterium tuberculosis* y *Bacillus subtilis*. El gel de Aloe Vera se ha encontrado que es bacteriostático frente a *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* y también *Salmonella paratyphi*. El Aloe Vera también es

conocido por ser virucida, especialmente contra virus del herpes ([Prakash P Athiban, et al., 2012](#)).

En la actualidad, se han estudiado diversos biomateriales: tales como el hidróxido de calcio, el acemanano de aloe vera, la proteína morfogénica ósea y el factor de crecimiento transformante - β y su efecto sobre la regeneración de la dentina ([Iohara, et al., 2004](#); [Melin, et al., 2000](#); [Schroder y Granath, 1971](#); [Sloan, et al., 2000](#)). El acemanano es un polisacárido complejo que se encuentra en la parte interior de la hoja de aloe vera, presenta importantes efectos tales como: estimulación de la proliferación celular y la síntesis de colágeno ([Wongwerawinit, 2004](#)). Diversos autores sugieren que, el acemanano podría estimular sialofosfoproteínas de dentina (DSPP), proteínas de la matriz de dentina (DMP- 1) la expresión de ARNm, la proliferación de fibroblastos gingivales, al factor de crecimiento de queratinocitos (KGF - 1), al factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), al colágeno tipo 1 y a la proteína morfogenética del hueso (BMP - 2) ([Jettanacheawchankit, et al., 2009](#); [Jittapiromsak, et al, 2007](#); [Lardungdee, et al., 2008](#)). En estudios en animales, el acemanano redujo significativamente la inflamación mejorando la formación de dentina ([Jittapiromsak, et al., 2010](#)).

Debido a lo expuesto anteriormente, es necesario retomar que la caries dental es un problema importante en el cuidado de la salud dental. Esta enfermedad puede invadir y destruir el esmalte, dentina y la pulpa dental. Para proteger la pulpa, las células formadoras de dentina (odontoblastos) sintetizarán la matriz extracelular e inducirán el proceso de mineralización para formar dentina reparadora ([Ruch,](#)

1985). En lesiones severas del tejido pulpar, los odontoblastos se pueden necrosar y sustituir por una nueva generación de células parecidas a odontoblastos, que se diferencian en fibroblastos de la pulpa dental, para regular o mantener el complejo dentino-pulpar (Smith, 2002).

La sialofosfoproteína de la dentina (DSPP) es la principal proteína de la matriz de dentina no colágena y ha sido considerada como proteína específica de la dentina (Prasad *et al.*, 2010). La DSPP es secretada por odontoblastos y mantienen los procesos celulares que se extienden en el tejido mineralizado. La DSPP se divide en sialoproteína (DSP) y fosfoproteína (DPP), que son considerablemente marcadores específicos de odontoblastos de la dentina (Hu, *et al.*, 1998; Prasad, *et al.*, 2010; Yamakoshi, 2008, 2009). La DSPP es necesaria para la formación de dentina e importante para controlar la biomineralización (Yamakoshi, 2008). Aunque en el estudio antes mencionado, el acemanano, estimuló la DSPP y la formación de dentina reparativa, el mecanismo subyacente del acemanano en la expresión de genes regulados DSPP no es del todo claro actualmente (Wisakarn *et al.*, 2012).

INGENIERÍA DE LOS TEJIDOS

La ingeniería de los tejidos de órganos, es la ciencia basada en los principios fundamentales que implica la identificación de las células apropiadas, el desarrollo favorable de andamios y la comprensión de la morfogenética de las señales necesarias para inducir a las células a generar tejidos de órganos (Luciano

Casagrande, *et al.*, 2011). La ingeniería de los tejidos es multidisciplinaria, ya que reúne la biología, la ingeniería y las ciencias clínicas con el objetivo de la generación de nuevos tejidos.

Recientemente, el órgano del diente en desarrollo con ápice inmaduro ha sido un importante foco de atención (Hargreaves KM, *et al.*, 2008). Numerosos estudios han abordado estrategias de ingeniería de tejidos dentino-pulpaes destinados a la reconstitución de un órgano funcional en el ápice de la raíz para la continuación del desarrollo de las raíces. Estos estudios se basan en el posible papel de las células madre / progenitoras, que podrían participar en la regeneración dental (Goldberg M, *et al.*, 2004). Su capacidad de diferenciarse en osteogénicas, adipogénicas, miogénicas y en linajes de células condrogénicas se ha demostrado en condiciones *ex vivo* (d'Aquino R, *et al.*, 2008; Laino G, *et al.*, 2006; Zhang W, *et al.*, 2006), mientras que su competencia específica para formar estructuras de dentina (Yang X, *et al.*, 2009; Okamoto Y, *et al.*, 2009) se ha demostrado en ambas condiciones tanto *ex vivo* como *in vivo* (Gronthos S, *et al.*, 2000; Batouli S, *et al.*, 2003). Muchos autores han abordado terapias regenerativas, en relación con la conservación de las células madre / progenitoras a partir de la parte más apical de la raíz. Sin embargo, la capacidad de las células progenitoras de la papila apical para regenerar pulpa en los dientes inmaduros necróticos y reconstituir la función dentinogénica perdida, no se ha evaluado adecuadamente (Dimitrios Tziafas, *et al.*, 2010).

- **Dinámica de las células de la pulpa dental** (Dimitrios Tziafas *et al.*, 2010).

Informes en la literatura ya desde la década de 1960 han demostrado que la pulpa constituye un entorno apropiado en el cual las células progenitoras pueden diferenciarse en células capaces de formar nueva dentina en la ausencia de condiciones normales de desarrollo (Zussman WV, 1966; Hoffman RL, 1967). La capacidad del complejo dentino-pulpar para responder a los estímulos externos con la formación de dentina terciaria se ha reconocido (Smith AJ, 2002; Tziafas D, 1997). El término “formación de dentina terciaria” se subdivide en dentinogénesis reaccionaria (sobre regulación de la actividad biosintética de los odontoblastos primarios estimulados) y la dentinogénesis reparadora, que representa una secuencia más compleja de los procesos biológicos que incluyen la proliferación, la migración y la diferenciación de las células progenitoras de la pulpa en una nueva generación de células formadoras de dentina (odontoblastos). Los mecanismos moleculares dan lugar a la formación de dentina terciaria, esto se ha investigado tanto *ex vivo* como *in vivo* (Tziafas D, *et al.*, 1988; Magloire H, *et al.*, 1981; Magloire H, *et al.*, 1986; Tziafas D. 1995).

El cultivo de células de bovino y células de la pulpa dental humana en virtud de diversas condiciones ha demostrado la formación de componentes que normalmente se expresa durante la dentinogénesis, tales como el colágeno tipo I (Veron MH, 1990), osteonectina (Reichert T., *et al.*, 1992), osteocalcina (Bronckers AL, *et al.*, 1989), DSP (Ritchie HH, *et al.*, 1994), fosfatasa alcalina (Nakashima M,

1991), factores de crecimiento (Takeda K, *et al.*, 1994; Nakashima M, 1992) y material mineralizado (Bouvier M, 1990).

La diferenciación de células odontoblasticas y la formación de dentina reparativa se han observado después de la amputación pulpar clínica y experimental, con la aplicación de una serie de materiales dentales o pulpotomías (Tziafas D, *et al.*, 2007; Lu Y, *et al.*, 2006; Iohara K, *et al.*, 2004; Nair PN, *et al.*, 2008; Horsted P, *et al.*, 1985; Pitt Ford TR, 1985; Stanley HR, 1989). El hidróxido de calcio y el mineral trióxido agregado (MTA) se han estudiado ampliamente en términos de su capacidad de proporcionar un entorno favorable en el que las heridas de la pulpa se curan y se forma dentina reparativa (Nair PN, *et al.*, 2008; Pitt Ford TR, 1985). Sin embargo, en la mayoría de estos informes, la diferenciación de células odontoblasticas y la formación de la dentina reparativa procedieron indirectamente a través de la formación de una cicatriz como matriz atípica calcificada nombrada fibrodentina. La formación de una matriz tubular reparativa en la dentinogénesis implica la expresión completa del fenotipo odontoblástico (Dimitrios Tziafas *et al.*, 2010).

La diferenciación directa de las células odontoblasticas, que implica la formación de una matriz tubular como predentina, sólo se ha visto *in situ* en respuesta a la desmineralización o a las matrices de dentina (Tziafas D, *et al.*, 2001). Por otro lado, la diferenciación de las células que elaboran la matriz tubular como predentina también se encontró después del trasplante del tejido pulpar dentro de su entorno (estructura de la dentina) (Hoffman RL, 1967; Lyaruu DM, *et al.*, 1999; Inoue T, *et al.*, 1992; Heritier M, *et al.*, 1989).

Sin embargo, las células progenitoras de la pulpa dental se han aislado, y su potencial *ex-vivo* de auto-renovación y diferenciación les permite diferenciarse en condroblastos, osteoblastos, neuronas, odontoblastos y adipocitos (Iohara K, *et al.*, 2006; Zhang W, *et al.*, 2008; Gronthos S, *et al.*, 2002).

- **Dinámica de las Células de la papila Dental**

En algunos experimentos, se observó el mantenimiento del estado citológico de la diferenciación de los odontoblastos en los cultivos de células de la papila dental en la presencia de una biomatriz de la pulpa dental, de algunas fracciones no colágenas de la dentina (Lesot H, *et al.*, 1986) o de glicosaminoglicanos (Tziafas D, *et al.*, 1988). La diferenciación de los odontoblastos funcionales se encontraron como componentes en cultivos de células de la papila dental en agar semisólido en presencia de EDTA en la dentina, factor de crecimiento transformante-b1, BMP-2 combinados con heparina o fibronectina, o la proteína de unión activina-folistatina (Begue-Kirn C, *et al.*, 1992; Begue-Kirn C, *et al.*, 1994). Finalmente, una línea celular clonal de odontoblastos fue establecida por la inmortalización de un sistema de cultivo celular (monocapa de murino) y la papila dental expresa la matriz extracelular específica de la dentina (MacDougall M, *et al.*, 1995).

Desafortunadamente, los datos de la literatura son muy raros en relación con el destino exacto de las células de la papila apical. Sin embargo, se ha documentado que estas células madre mesenquimatosas multipotentes que expresan marcadores de células madre, son capaces de diferenciarse hacia múltiples linajes

(Abe S, *et al.*, 2008; Huang GT, *et al.*, 2008; Ikeda E, *et al.*, 2006; Sonoyama W, *et al.*, 2006).

ENDODONCIA REGENERATIVA

Estos procedimientos se basan en los principios de la ingeniería de tejidos que tienen como objetivo el desarrollo de nuevos tejidos para reemplazar la pérdida o mal funcionamiento de los órganos mediante el uso de una fuente de células madre, un andamio tridimensional para el crecimiento de estas células y moléculas de señalización (Nakashima M, *et al.*, 2005; Sun HH, *et al.*, 2011; Hargreaves KM, *et al.*, 2008). Los procedimientos alternativos de regeneración más comunes utilizan coágulos de sangre y trasplante de células. El uso de la aspiración de la médula ósea (BMA) puede ser un método directo, rápido y de bajo costo, con un bajo riesgo de contaminación (Soltan M, *et al.*, 2007; Silva MO, *et al.*, 2012).

El objetivo ideal del tratamiento de las enfermedades establecidas como pulpitis irreversible y periodontitis apical, es lograr la cicatrización de heridas. La cicatrización puede resultar en la reparación o regeneración. El objetivo final de la curación de la herida es restablecer la arquitectura original y la función del órgano lesionado. La cicatrización de la pulpitis irreversible y la periodontitis apical requiere del reclutamiento y diferenciación de las células madre / progenitoras de las células somáticas del tejido comprometido. La infección induce a una destrucción inmuno-inflamatoria del tejido, que dificulta el potencial de la

regeneración de los tejidos. Independientemente de los biomateriales y las técnicas utilizadas en la terapia endodóntica, el control de la infección juega un papel importante en la regeneración y reparación de la cicatrización de las heridas pulpares y periapicales como se mencionó anteriormente. La severidad de la infección está relacionada con el grado de inflamación y destrucción de los tejidos. En consecuencia, la prevención, detección temprana y el tratamiento de la infección pulpar y periapical, puede mejorar la regeneración y minimizar la reparación de la pulpa, tejido periapical y la cicatrización de heridas después de la terapia endodóntica ([L. M. Lin., et al., 2011](#)).

MECANISMOS DE REGENERACIÓN ([Carol Abdulmesih T., 2010](#)).

Existen 5 mecanismos por los cuales puede ocurrir la regeneración del tejido pulpar:

1. En primer lugar, puede estar dada por las células pulpares vitales que permanecen en la región apical y que por influencia de las células de la vaina epitelial de Hertwig puede proliferar y diferenciarse en odontoblastos.
2. El segundo mecanismo, es por células madre de la pulpa dental que están presentes en dientes permanentes y se diferencian igualmente en odontoblastos.
3. El tercer mecanismo, es por la presencia de células madre en el ligamento periodontal que proliferan de la región apical al conducto radicular y a las paredes dentinarias.

4. El cuarto mecanismo, se le atribuye a la presencia de células madre que se encuentran en la papila apical o en el hueso medular; la inducción del sangrado transporta células madre de origen mesenquimatoso del hueso al lumen del conducto.
5. El quinto mecanismo, es por la presencia en el coágulo sanguíneo de factores de crecimiento que son importantes en la regeneración; estos incluyen el factor de crecimiento derivado de plaquetas, factor de crecimiento del endotelio vascular y el factor de crecimiento tisular, que estimulan la diferenciación y maduración de fibroblastos, odontoblastos, cementoblastos, entre otros.

- **Reparación y regeneración**

La cicatrización es la respuesta programada de la lesión del tejido de un organismo vivo que implica complejos procesos biológicos celulares y moleculares (Clark 1996; Majno *et al.*, 2004; Kumar *et al.*, 2009). La reparación es la sustitución de los diversos tejidos dañados y generalmente causa la pérdida de la función biológica del tejido lesionado. En contraste, la regeneración es el reemplazo de los tejidos dañados por las mismas células con la restauración de la función biológica de los tejidos heridos (Slauson Cooper 2002; Majno *et al.*, 2004; Kumar *et al.*, 2009). El feto durante las primeras etapas de la gestación (dentro de las 24 semanas) tiene la habilidad de sanar los tejidos lesionados por la regeneración completa sin una cicatriz (Adzick *et al.*, 1992; Bullard *et al.*, 2003; Colwell *et al.*, 2003; Dang *et al.*, 2003). Cualquier tipo de lesiones incluyendo un

trauma que siempre va acompañado de por lo menos alguna formación de tejido cicatricial en la curación de una herida post-natal ([Adzick et al., 1992](#); [Bullard et al., 2003](#); [Colwell et al., 2003](#)). Por lo tanto, la curación de heridas de la pulpitis irreversible, de una pulpa necrótica y una periodontitis apical siguiente al tratamiento de endodoncia no implica necesariamente la regeneración completa de los tejidos de la pulpa o tejido periapical.

- **Potencial regenerativo de la pulpa y de los tejidos periapicales**

La pulpa dental se compone de células como odontoblastos, fibroblastos, macrófagos, células endoteliales, células dendríticas, linfocitos, células de Schwann y células progenitoras ([Nanci, 2007](#)). Los fibroblastos, macrófagos, linfocitos y las células de Schwann tienen una vida útil limitada y una capacidad limitada para la división celular llamado “límite Hayflick” ([Hayflick et al., 1961](#)). El límite Hayflick es el número de veces que una población celular normal puede dividirse antes de que se detenga ([Hayflick et al., 1961](#)). Los odontoblastos son células post mitóticas incapaces de división celular ([Nanci 2007](#); [Tziafas et al., 2010](#)). Cuando los odontoblastos primarios son destruidos por caries, trauma, citotoxicidad de la agresión química, las células progenitoras son capaces de diferenciar las células de la pulpa dental en odontoblastos por un estímulo apropiado por moléculas de señalización inductiva ([Gronthos et al., 2000, 2002](#)). Los fibroblastos, los macrófagos, células epiteliales, cementoblastos, osteoblastos las células endoteliales, células de Schwann y células mesenquimales indiferenciadas (células madre / progenitoras) son células residentes del ligamento

periodontal (Nanci, 2007). Excepto para las células madre / progenitoras, otro residente de células en el ligamento periodontal tienen una vida útil limitada y una capacidad limitada para la división celular. Cuando los cementoblastos primarios son destruidos por trauma o enfermedad periodontal, las células madre / progenitoras en el ligamento periodontal son capaces de diferenciarse en adipocitos y los cementoblastos en matrices de colágeno (Seo *et al.*, 2004). En el hueso alveolar las células madre mesenquimales son también capaces de diferenciarse en osteoblastos, condrocitos y adipocitos (Prockop, 1997; Pittenger *et al.*, 1999).

- **Las células madre y la cicatrización de heridas**

La cicatrización de los tejidos está estrechamente relacionada con el reclutamiento y diferenciación de las células madre / progenitoras (Clark 1996; Wu *et al.* a, b, 2007; Stappenbeck *et al.*, 2009). Las células madre son capaces de autorrenovación y diferenciación en múltiples linajes celulares (Morrison *et al.*, 1997). La interacción entre las células de madre y su nicho es fundamental para el mantenimiento de sus propiedades, que incluyen la capacidad de auto renovación y la capacidad de diferenciación en múltiples linajes celulares (Moore *et al.*, 2006; Arai *et al.*, 2007). El nicho consiste en células del estroma, moléculas de señalización, moléculas de adhesión celular y la matriz extracelular (Moore *et al.*, 2006; Arai *et al.*, 2007). La diferenciación de células madre está regulada por las propiedades intrínsecas y extrínsecas microambientales, tales como células del estroma, matriz extracelular (colágeno, fibrina, fibronectina, laminina, osteopontina

y proteoglicanos), factores de crecimiento / citocinas y las moléculas bioactivas así como moléculas de adhesión de la superficie celular (por ejemplo las integrinas y caderinas) (Morrison *et al.*, 1997; Watt *et al.*, 2000; Scadden 2006; Kolf *et al.*, 2009). La funcionalidad de la célula madre, muestra una disminución relacionada con la edad debido a un cambio en los factores reguladores intrínsecos de las células madre y disminución de las señales extrínsecas (Ho *et al.*, 2005; Rossi *et al.*, 2005, 2007; Carlson *et al.*, 2007; Silva *et al.*, 2008). Con la edad, las células madre adultas pierden la capacidad de diferenciarse en tejido específico funcional (Conboy *et al.*, 2005) por lo que el exitoso resultado de la terapia de la pulpa vital, no sólo depende del suministro de sangre sino también de la edad de los pacientes y la etapa de desarrollo de la raíz (Mjor 2002, Høsted- Bindslev *et al.*, 2003). Por lo tanto las células madre tienen un potencial curativo en los dientes inmaduros (George T.-J. Huang 2008).

- **La pulpa del Adulto y las Células Progenitoras apicales de la papila: o células Madre**

Una célula madre se define como una célula que puede dividirse de forma continua, producir células madre hijas con características similares y que pueden generar cualquier tejido para toda la vida (Nakamura S, *et al.*, 2009; Weissman IL, 2000). Todas estas propiedades podría atribuirse también a las células progenitoras de los tejidos. Una célula progenitora se caracteriza como una célula indiferenciada que puede dar lugar a células hijas durante un tiempo de vida

limitado o células comprometidas con el linaje celular específico (Bluteau G, *et al.*, 2008).

Las células madre de la pulpa dental (DPSCs), se han aislado de la pulpa dental de los adultos que se caracteriza por su alto potencial de autorrenovación y diferenciación en condroblastos, osteoblastos, neuronas, adipocitos y odontoblastos (Iohara K, *et al.*, 2006; Zhang W, *et al.*, 2008; Gronthos S, *et al.*, 2002). También se han caracterizado como células madre mesenquimales los antígenos de superficie en términos de la expresión de célula específica, como el CD-44, CD-90, STRO-1 y CD-146 (Iohara K, *et al.*, 2006; Agata H, *et al.*, 2008; Shi S, *et al.*, 2003). Los DPSCs humanos han sido aislados de los dientes deciduos exfoliados y los terceros molares en desarrollo, tanto en la raíz como en la etapa de formación y más recientemente en la etapa de la corona completa (Takeda T, *et al.*, 2008).

Nakamura y cols., en el 2009, informaron de una mayor capacidad de proliferación de células madre de los dientes deciduos que de las de la pulpa de dientes permanentes. Numerosos enfoques experimentales han demostrado que los DPSCs aislados pueden ser dirigidos en los trasplantes para diferenciarse en células formadoras de matriz extracelular en un patrón polar de predentina (Huang G, *et al.*, 2010; Prescott RS, *et al.*, 2008; Zhang W, *et al.*, 2009; Young CS, *et al.*, 2002). Del mismo modo, las células madre de la papila apical (APSCs) se han aislado de la papila apical del ápice del diente en desarrollo. Su potencial de autorrenovación y diferenciación en condroblastos, osteoblastos y adipocitos se ha confirmado (Abe S, *et al.*, 2008; Ikeda E, *et al.*, 2006). Después de la implantación

en ratones inmunocomprometidos, los APSCs generaron estructuras de dentina en la superficie de la hidroxiapatita portadora / fosfato tricálcico (Dimitrios Tziafas, *et al.*, 2010).

No está claro si la formación de células de dentina en trasplantes se puede caracterizar de forma segura como odontoblastos (es decir, células alargadas polarizadas capaces de formar el perfil bioquímico completo de la matriz de dentina en un patrón de predentina polar o células formadoras de amplio espectro de la reparación de la pulpa, como odontoblasto, fibroentinoblastos, osteodentinoblastos, etc).

Takeda y cols., en el 2008, mostraron que la tasa de crecimiento y el potencial de diferenciación de DPSCs cambian rápidamente durante el cultivo a largo plazo; células que han cambiado a una forma de huso y perdido su capacidad de generar estructuras de dentina similares. En cualquier caso, de acuerdo a las estrategias capaces de asegurar el aislamiento efectivo de células mesenquimales progenitoras dentales, su caracterización se basa en la especificidad tisular y la señalización de su diferenciación bien controlada (Nakamura S, *et al.*, 2009).

En conclusión, las células progenitoras de la pulpa dental pueden convertirse en odontoblastos para la formación de dentina reparadora terciaria a lo largo de la vida de un diente como una parte de la curación de la herida o de la pulpa dental por influencias moleculares exógenas específicas; el potencial de diferenciación de las células progenitoras de la papila apical no se ha establecido todavía (Dimitrios Tziafas, *et al.*, 2010).

- **El papel potencial de las células madre**

Durante la curación de heridas después de la exposición de la pulpa, las células mesenquimales indiferenciadas migran al sitio de la exposición de las regiones más profundas de la pulpa y sustituyen a odontoblastos degenerados ([Yamamura T, 1985](#)). Para que las células madre logren diferenciarse, es fundamental que exista la regeneración neural.

Las células madre existen como células indiferenciadas y mantienen este fenotipo hasta que están expuestos a las señales apropiadas. Tienen una amplia capacidad de autorreplicación y pueden mantenerse durante toda la vida de un organismo como se ha mencionado anteriormente. Las poblaciones de células madre se encuentran en la mayoría de los tejidos adultos. Las células madre adultas tienen potencial de diferenciación más restringida que las células madre embrionarias ([Barry FP, 2003](#)).

Diversos investigadores, han introducido un nuevo enfoque, dirigido a la regeneración del complejo dentino-pulpar y la inducción del desarrollo de dientes inmaduros con pulpas necróticas ([Hargreaves K. et al., 2008](#); [Hargreaves KM et al., 2013](#)). El tratamiento se basa en la presencia de células madre de la papila apical (SCAP), que son la fuente de los odontoblastos primarios en el proceso de desarrollo biológico de la raíz ([Huang G, et al., 2008](#)). En circunstancias ideales tales como ausencia de bacterias y de tejidos necróticos, la colocación de un andamio adecuado y un sellado coronal preciso, éstas células pueden ser capaces

de repoblar el espacio del conducto radicular y restablecer el complejo dentino-pulpar (Nosrat Ali, *et al.*, 2014).

Los protocolos clínicos actuales en endodoncia regenerativa emplean células madre. Estas células madre provienen de las siguientes fuentes:

a) Las células madre de la papila apical (SCAP): Estas son una población de células madre mesenquimales (MSC) que residen en la papila apical de los dientes de formación incompleta. Las SCAP parece ser la fuente de odontoblastos primarios que son responsables de la formación de la dentina de la raíz, mientras que las células madre de la pulpa dental (DPSC) son probablemente la fuente de odontoblastos (Huang G, *et al.*, 2008). Cuando se han trasplantado este tipo de células, subcutáneamente en ratones inmunodeficientes, se ha demostrado su capacidad de diferenciarse en odontoblastos y formar dentina (Sonoyama W, *et al.*, 2006). Debido a su localización, la papila apical tiene circulación colateral y esto le permite sobrevivir durante el proceso de necrosis pulpar. La provocación de sangrado realizado en protocolos clínicos actuales para la regeneración de pulpa provoca la acumulación significativa de células madre en el espacio del conducto (Lovelace TW, *et al.*, 2011). Estas células son propensas a ser células de SCAP y pueden contribuir a la regeneración de los tejidos de la pulpa.

b) Las células madre de la pulpa dental (DPSC): Las DPSCs tienen la capacidad de auto-renovación y multi-linaje potencial de diferenciación *in vitro* (Gronthos S, *et al.*, 2002; Gronthos S, *et al.*, 2000) incluyendo su potencial dentinogénico (Huang GT, *et al.*, 2006; Huang GT, *et al.*, 2006). Muchos casos

han sido tratados por endodoncia regenerativa en donde el tejido pulpar inflamado residual, contiene DPSCs, con potencial de regeneración de tejidos ([Alongi DJ, et al., 2010](#)).

c) Las células madre del ligamento periodontal (PDLSCs): Las PDL contiene poblaciones de células madre que pueden diferenciarse en osteoblastos o cementoblastos ([Isaka J, et al., 2001](#)). Los PDLSCs exhiben capacidades osteogénicas, adipogénicas y condrogénicas bajo condiciones de cultivo empleadas, pero no presentan capacidad dentinogénica ([Gay IC, et al., 2007](#); [Xu J, et al., 2009](#); [Lindroos B, et al., 2008](#)). La hemorragia provocada en los protocolos clínicos actuales también puede conducir a la acumulación PDLSCs en el conducto radicular y pueden ser responsables de los tejidos similares al hueso formados dentro del conducto en algunos estudios en animales ([Yamauchi N, et al., 2011](#)).

Varios estudios de casos clínicos han mostrado resultados positivos con tratamiento endodóntico regenerativo, en términos de resolución de las lesiones y el aumento de longitud de la raíz y / o su espesor ([Petrino J, et al., 2010](#); [Nosrat A, et al., 2011](#); [Lovekace TW, et al., 2011](#)). Los pacientes adultos no tienen células SCAP y el suministro de células madre en las zonas periapicales pueden variar con la edad del paciente y el tamaño de la lesión periapical como se mencionó anteriormente.

Hay dos enfoques principales para llevar a las células madre al tratamiento de conductos radiculares para su regeneración pulpar:

I. TRASPLANTE DE LA CÉLULA

Los estudios en animales han mostrado resultados prometedores con este enfoque para endodoncia regenerativa ([Nakashima M, et al., 2011](#); [Zheng Y, et al., 2012](#); [Zhu EW, et al., 2013](#)). Aún hacen falta estudios *in situ* de procedimientos regenerativos en humanos. Los principales obstáculos para la trasplantación clínica son el potencial inmune de rechazo (por células alogénicas), la aprobación regulatoria para el uso en los pacientes y el alto costo.

II.- IMPLANTACIÓN CELULAR

Esto involucra el uso de factores quimiotácticos como el factor derivado de células estromales (SDF) -1 que pueden inducir la migración de las células madre a partir de la zona periapical dentro del conducto radicular. El rechazo inmunológico por lo tanto, no es un problema. Esto ha sido investigado en modelos animales como un complemento de trasplante de células madre, pero no como una técnica independiente ([Nakashima M, et al., 2011](#); [Iohara K, et al., 2011](#)). El proceso de aprobación regulatoria para utilizar esta técnica en pacientes humanos sería mucho más fácil y de costo mucho más bajo. Sin embargo, los resultados pueden depender de la distancia que las células tienen que migrar. Así, entre más longitud de la raíz, menos favorable sería el pronóstico. También los pacientes adultos pueden no ser candidatos para dicho tratamiento, y se ha demostrado que estos pacientes constituyen a la mayoría de la población de pacientes en las prácticas de endodoncia ([Verma P, et al., 2012](#)). Las lesiones periapicales grandes pueden requerir tiempos de tratamiento muy largos, ya que se requiere de un alto

nivel de desinfección, siendo esto un requisito previo para el éxito de la regeneración ([Fouad AF, et al., 2009](#)).

Los tejidos pulpares inflamados, están actualmente descartados como desechos médicos, pero se ha demostrado que contienen células madre con potencial regenerativo y pueden ser considerados como una fuente alternativa de DPSCs ([Alongi DJ, et al., 2010](#)).

- **El papel potencial de los Andamios Bioactivos**

Un andamio ideal debe tener las siguientes características para el éxito en la regeneración de tejidos: capacidad para el cultivo de las células madre / progenitoras y la suplementación de factores de crecimiento, biodegradabilidad controlada para ser eventualmente reemplazado por tejido natural, propiedades biomecánicas adecuadas, bioactividad para facilitar la unión de los tejidos blandos y duros, biocompatibilidad con el tejido del huésped, osteoinducción y el potencial angiogénico.

El andamio que se utiliza con mayor frecuencia en la endodoncia regenerativa es un coágulo de sangre ([Wigler R, et al., 2013](#)). La función del coágulo de sangre en la zona apical del conducto radicular después del tratamiento de conducto radicular convencional fue estudiada por Nygaard Ostby a principios de 1960. El coágulo de sangre producido por la agregación de plaquetas se transforma gradualmente en el tejido conectivo fibroso a través del tiempo, incluso en los casos en que el diagnóstico inicial había sido necrosis de la pulpa con periodontitis

apical. En el protocolo actual de la AAE en el 2013, sugiere inducir el sangrado lacerando el tejido periapical, al formarse el coágulo sanguíneo, éste funcionará como un andamio, atrayendo al conducto radicular las SCAP ([Sonoyama W, et al., 2008](#)). Después del informe de Banchs y Trope, en el 2014, el coágulo de sangre se ha utilizado en la revascularización de los dientes permanentes inmaduros, independientemente de las diferencias con el protocolo de desinfección, tales como la concentración de hipoclorito de sodio y el tipo de antibióticos ([Nosrat A, et al., 2011](#); [Thibodeau B, et al., 2007](#)). Diversos investigadores, recomiendan el uso de anestésicos locales sin vasoconstrictores con el fin de inducir la cantidad suficiente de sangrado en el conducto radicular ([Petrino J, et al., 2010](#)). Sin embargo, otros investigadores han reportado la falta de sangrado o sangrado insuficiente, incluso después de usar anestésicos locales sin vasoconstrictor ([Nosrat A, et al., 2011](#); [Cehreli ZC, et al., 2011](#)) y esto lo asocian con un mal desarrollo de las raíces, en algunos casos ([Nosrat A, et al., 2011](#)). La ausencia del coágulo de sangre también se ha implicado en los resultados fallidos de endodoncia regenerativas en un estudio en animales ([Thibodeau B, et al., 2007](#)). El uso de PRP se sugirió cuando es difícil producir sangrado periapical ([Torabinejad M, et al., 2011](#)). En un estudio en animales comparando el coágulo de sangre con el PRP para la regeneración de pulpa, no hubo diferencias entre los grupos con respecto a la presencia de tejido vital y la nueva formación de tejido duro en el interior del conducto radicular ([Zhu X, et al., 2012](#)). Además, la preparación del PRP implica etapas adicionales, incluyendo la

elaboración de una muestra de sangre del paciente y la centrifugación de la sangre con un anticoagulante.

En 1976, el gel de fosfato de calcio de colágeno se investigó para cerrar el ápice como una alternativa al hidróxido de calcio para tratamientos de apicoformación (Nevins AJ, *et al.*, 1976). El resultado mostró que los dientes llenos de gel de fosfato de calcio de colágeno, parecía tener tejido conectivo en crecimiento y diversas formas de tejido duro que recubrían las paredes del conducto radicular. Lo interesante de este estudio fue que no añadieron ninguna célula madre / progenitora o factores de crecimiento a su andamio, que son los componentes de la tríada de la ingeniería de tejidos. El colágeno se ha usado como un andamio en varios experimentos *in vivo* empleando técnicas de ingeniería tisular (Prescott RS, *et al.*, 2008; Kim JY, *et al.*, 2010). Mediante técnicas de ingeniería celular las DPSCs, la estructura de colágeno y la matriz de dentina (DMP-1) se colocaron en los sitios de perforación simulados en la dentina (Prescott RS, *et al.*, 2008). Después de 6 semanas de la implantación subcutánea en las superficies dorsales de los ratones inmunodeficientes, observaron una organizada formación de la matriz similar a la del tejido pulpar, lo que podría conducir a la formación de tejido duro. En el grupo que utilizaron sólo andamios de colágeno, la degradación de colágeno se observó sin la presencia de ningún tejido calcificados (Prescott RS, *et al.*, 2008). La solución del gel de colágeno fue exitosamente utilizado al momento de la implantación celular a lo largo del proceso de la regeneración junto con múltiples factores de crecimiento combinados tales como factor de crecimiento-beta fibroblástico (bFGF), factor de

crecimiento vascular endotelial (VEGF), o factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factor de crecimiento nervioso (NGF) y la proteína morfogenética ósea-7 (BMP-7) ([Kim JY, et al., 2010](#)).

- **El papel potencial de los Factores De Crecimiento**

La proliferación, la diferenciación, la supervivencia y la motilidad de DPSCs, están regulados por una red compuesta de diferentes moléculas de señalización, receptores y sistemas de control de transcripción en el tejido de la pulpa. Múltiples factores de crecimiento, han sido implicados en la mediación de estos procesos biológicos. La comprensión de cada factor de crecimiento y su relación con las células madre de la pulpa dental es un paso indispensable en el desarrollo de un protocolo de regeneración pulpar ([Nosrat A, et al., 2014](#)).

- **Proteínas morfogenéticas óseas (BMPs)**

Las BMP, fueron descubiertas por Urist en 1965, mostrando que los segmentos de hueso desmineralizado liofilizado de conejo, inducen a la formación de un nuevo hueso en sitios intramusculares. Posteriormente, las BMPs se aislaron a partir de la matriz ósea adulta en mamíferos.

La capacidad de las BMPs para inducir la formación de hueso y cartílago es reconocida ([Wang EA, et al., 1990](#)). En respuesta al tratamiento con las BMP-2 humanas, las células mesenquimales derivadas de la pulpa se diferencian en pre-odontoblastos ([Nakashima M, et al., 1994](#)). Cuando se combina una proporción de EDTA soluble en la dentina, BMP2 humana junto con TGFβ1 también estimula la

diferenciación de odontoblastos en cultivos de órganos de células de la papila dental ([Begue-Kim, et al., 1992](#)).

En un modelo *in vivo*, cuando se utilizó BMP2 humano o BMP4 como un material de recubrimiento sobre la pulpa amputada de un canino, se comprobó que induce la formación de dentina ([Nakashima M, 1994](#)). En este estudio la BMP2 Y BMP4 fueron añadidas al polvo de la matriz dentinaria y la sal de sodio condritin 6 sulfato o la colágeno tipo 1 como vehículo. Después de dos meses, la pulpa amputada se llenó con dentina tubular en la parte inferior. Sin embargo, cuando el BMP fue administrado usando la matriz de colágeno reconstituída tipo 1, ninguna dentina tubular distintiva fue formada a diferencia de un experimento anterior en la que BMP2 o BMP4 se implantó con una matriz de la dentina inactivada ([Nakashima M, 1994](#)). Estos hallazgos sugieren que tanto BMP2 y BMP4 inducen la formación de osteodentina si se combina con la matriz de colágeno. Sin embargo, algunos otros componentes de la matriz adheridos en la matriz de la dentina inactivada, podrían ser esenciales para una mayor diferenciación de odontoblastos de forma posterior. Otros estudios sugieren el trasplante autólogo de células cultivadas o transfectadas con BMP11, éstas estimulan la formación de dentina reparativa en pulpas amputadas en un modelo de perro ([Nakashima M, 2004](#)).

- **Factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF)**

La tríada de la ingeniería de tejidos, que son los andamios, las células madre y los factores de crecimiento, pueden ser esenciales para el éxito en la regeneración pulpar. Sin embargo, si no existe la debida angiogénesis / vasculogénesis para

suministrar suficientes nutrientes y oxígeno a las células madre trasplantadas que migran al conducto radicular, la regeneración pulpar no sería exitosa.

El VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular) es un excelente regulador de la angiogénesis y se sabe que aumenta la permeabilidad vascular. El VEGF es un mitógeno de células endoteliales y potente factor angiogénico que se ha demostrado que desempeñan un papel central en las respuestas vasculares que acompañan a numerosos procesos fisiológicos y patológicos (Ferrara B, *et al.*, 1966). Éste es producido por diferentes tipos de células, incluyendo los queratinocitos, macrófagos, mastocitos, células del músculo liso (Ferrara B, *et al.*, 1966). Induce la quimiotaxis, proliferación y diferenciación de las células de la pulpa dental humana (Artese L, *et al.*, 2002; Matsushita K, *et al.*, 2000). Además, también está involucrado en la proliferación de células endoteliales, mejora su supervivencia en el medio ambiente deficiente de oxígeno y estimula la neovascularización en el área de la lesión (Nor JE, *et al.*, 1999). En un estudio *in vivo*, utilizando el modelo de ratones inmunodeficientes, al emplear dientes tratados con 50 ng / mL rh VEGF165 durante una hora, los investigadores demostraron aumento de la densidad de los microvasos de la pulpa, que es potencialmente beneficioso para que ocurra la regeneración (Mullane EM, *et al.*, 2008).

Según el estudio de Zhang R y cols., en el 2011, los componentes de la matriz de dentina mostraron una respuesta dependiente de la dosis en la expresión del factor de crecimiento VEGF proangiogénico y su receptor VEGFR2.

- **Factor de crecimiento transformante beta (TGFβ)**

La presencia de TGFβ ha sido identificada en el desarrollo de los dientes y la dentina humana. Con respecto a su papel en la reparación de la pulpa, el TGFβ1 tiene la capacidad para estimular la síntesis de colágeno tipo I, la actividad de la fosfatasa alcalina e interviene en la proliferación de cultivos celulares de la pulpa de mamíferos (Liang RF, *et al.*, 1992; Nakashima M, *et al.*, 1992). Los resultados de un estudio realizado por Melin y cols., en el 2000, también sugirieron que TGFβ1 podrían estar involucrados directamente en la regulación de la proliferación celular, la migración y la producción de matriz extracelular en la pulpa dental humana. Junto con FGF2, el TGFβ1 *in vitro*, estimula la diferenciación de odontoblastos (He H, *et al.*, 2008).

El TGFβ1 ha mostrado ser quimiotáctico para células derivadas de las células de la papila dental (Kwon SM, *et al.*, 2010). En la etapa de acumulación celular, ésta propiedad quimiotáctica del TGFβ1 podría atraer a las células madre / progenitoras al sitio de la lesión de los tejidos en el diente.

Los factores de crecimiento antes mencionados al colocarlos en andamios e incorporarlos al interior del conducto radicular, mediante técnicas de ingeniería tisular, promueven la regeneración. Sin embargo, también se ha demostrado que la matriz de dentina en sí contiene un amplio espectro de factores de crecimiento incluyendo TGF, VEGF, BMP, FGF2 y el factor de crecimiento epidérmico (EGF), que estimulan y modulan muchos los eventos celulares que tienen lugar durante la regeneración pulpar (Roberst-Clark DJ, *et al.*, 2000). Durante el procedimiento de

revascularización pulpar con la aplicación de EDTA y la inducción del coágulo sanguíneo, los factores de crecimiento y las plaquetas son liberados de la matriz de la dentina. Sin embargo, este tipo de técnicas de procedimientos endodónticos, ocasionan una liberación molecular descontrolada, ocasionando reacciones que van, desde la inflamación o estimulación de la regeneración, hasta la apoptosis celular (Cooper PR, *et al.*, 2010).

En un estudio reciente, se propuso emplear factores de crecimiento al realizar la implantación celular para regenerar el complejo dentino-pulpar en lugar de trasplantar a las células madre / progenitoras en los dientes humanos (Kim JY, *et al.*, 2010). Este estudio mostró tejidos celularizados y vascularizados y nueva formación de dentina en dientes humanos con previo tratamiento de endodoncia, implantados en el dorso del ratón. Los investigadores observaron que al estimular la liberación de bFGF, VEGF o PDGF, NGF y BMP7 se formó tejido pulpar, en todo el conducto radicular. Por tanto los investigadores concluyen que la técnica de implantación celular podría ser un método simple, práctico y económico para la regeneración pulpar (Mao JJ, *et al.*, 2010).

En este contexto, Ali Nosrat y cols., en el 2014, indican que el actual protocolo de regeneración pulpar muestra resultados prometedores en cuanto a la curación de las lesiones periapicales, con una tasa mayor de supervivencia de los dientes tratados, en comparación con los métodos tradicionales (Ali Nosrat *et al.*, 2014).

CÉLULAS TRONCALES (Luciano Casagrande *et al.*, 2011)

Las células troncales o células madre constituyen a la fuente diferenciada de células para la generación de los tejidos que están enfermos o lesionados después del nacimiento (Luciano Casagrande, 2011). Son células no especializadas que se dividen continuamente, tienen la capacidad de auto-renovación y son capaces de generar tejidos complejos y órganos como ya se mencionó anteriormente (van der Kooy D, Weiss S, 2000). Se pueden clasificar en células madre embrionarias o células postnatales (Fortier LA., 2005). Su capacidad potencial de autorenovación para generar nuevos tejidos y órganos (totipotencialidad) hacen de estas células una atractiva fuente celular para las terapias regenerativas basadas en células (Gardner RL, 2002). Las células madre postnatales son multipotentes, es decir, que tienen una capacidad más limitada de diferenciarse en otros tipos de células que las células madre embrionarias totipotentes. Las células madre postnatales pueden ser obtenidas a partir de individuos en cualquier etapa de la vida (Bosch P., *et al.*, 2000; Gage FH 2000; Gimble J., *et al.*, 2003; Jones PH *et al.*, 1993; Gronthos S., *et al.*, 2000).

Las células madres se definen por tener 2 características principales:

- 1) Que son capaces de auto-renovación
- 2) Que cuando se dividen, algunas células hijas dan origen a células que eventualmente se convertirán en células diferenciadas.

Dependiendo del tipo de células madre y su potencial habilidad para convertirse en diferentes tejidos, las siguientes categorías han sido establecidas:

- a) Células madre totipotentes:** Cada célula es capaz de convertirse en un organismo entero.
- b) Células madre pluripotentes (células madre embrionarias):** Cuando crecen en un entorno vivo, son capaces de formar todos los tipos de tejidos.
- c) Células madre multipotentes (células madre postnatales o adultas):**
Son capaces de dar lugar a los múltiples linajes de células.

- **Células madre de origen dental**

Las células madre dentales pertenecen a la 3ª categoría. Son 5 los tipos de células madre dentales humanas aisladas y caracterizadas:

- 1) Células madre de la pulpa dental (DPSCs).
- 2) Células madre de dientes deciduos exfoliados (Shed).
- 3) Células de la papila apical (SCAP).
- 4) Células madre del ligamento periodontal (PDLSCs).
- 5) Células precursoras del folículo dental (DFPCs).

Estas células madre dentales pueden ser potencialmente utilizadas para la regeneración de los tejidos dentales, como la pulpa, dentina y ligamento periodontal. Uno de los primeros tipos de células madre relacionadas con los dientes, fue encontrado en la pulpa dental de dientes permanentes y fueron nombradas células madre de la pulpa dental (DPSCs), además de las células madre de dientes deciduos (Shed), las células de la papila apical (SCAP), las células precursoras del folículo dental (DFPCs) y las células del ligamento

periodontal (PDLSC) (Gronthos S., *et al.*, 2000; Miura M., *et al.*, 2003; Sonoyama W., *et al.*, 2006; Young CS., *et al.*, 2002; Ohazama A., *et al.*, 2008). La pulpa dental se considera una rica fuente de células madre mesenquimales que son adecuadas para las aplicaciones en la ingeniería de tejidos. Las células de la pulpa dental se pueden diferenciar en odontoblastos, células progenitoras neurales, osteoblastos, condrocitos y adipocitos que son altamente proliferativas (Luciano Casagrande, 2011). Se ha demostrado que las DPSCs son capaces de generar tejidos que tienen una morfología y características funcionales que se asemejan mucho a los tejidos de la pulpa dental (Cordeiro MM, Dong Z, *et al.*, 2008; Sakai VT, *et al.*, 2010; Demarco FF, *et al.*, 2010; Kerkis I, Ambrosio CE, Kerkis A, *et al.*, 2008).

- **Andamios para las células madre de la pulpa dental**

Las células requieren de interacciones con su microambiente para sobrevivir, proliferar y realizar su función. En la fisiología del tejido, estos entornos tridimensionales están compuestos en gran parte de las proteínas de la matriz extracelular. En el tejido de ingeniería, estas estructuras tridimensionales se proporcionan inicialmente a las células a través de la utilización de andamios biodegradables y biocompatibles (Langer R., *et al.*, 1993). Estos andamios proporcionan un ambiente que permite la adhesión de las células, su proliferación, migración y la diferenciación hasta que estas células y las células huésped comienzan a segregarse y dar forma a su propio microambiente. Los andamios son un componente esencial de la ingeniería de tejidos (Young CS, 2002; Nakashima M. 2005; Bohl KS., *et al.*, 1998). Sería benéfico que los andamios diseñados para

los fines de ingeniería de tejidos de la pulpa dental, fueran hechos de materiales inyectables para permitir el trasplante de células madre a lo largo de toda la extensión del conducto radicular y la cámara pulpar ([Galler KM, et al., 2010](#)).

- **Los vasos sanguíneos y la regeneración del tejido dental**

El éxito de la ingeniería de tejidos depende en gran medida del rápido establecimiento de redes microvasculares locales para proporcionar sangre y nutrientes para las células que están participando en los procesos de regeneración de los tejidos ([Mathieu S, et al., 2005](#)). La vasculogénesis es definida como la nueva formación de los vasos sanguíneos y la angiogénesis es el proceso de formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de vasculatura preexistente. El VEGF se considera como el regulador más importante de la vasculogénesis y la angiogénesis, porque induce a las células endoteliales a formar estructuras capilares cuando se siembran en geles de colágeno tridimensionales ([Ferrara N., 1999](#)). Se ha demostrado que el VEGF induce la diferenciación de los DPSCs ([Mullane EM., et al., 2008](#)). Por lo tanto, recientemente se ha comenzado a explorar la posibilidad de la incorporación de VEGF en los andamios que se utilizan para el trasplante de células madre a la pulpa dental con el propósito de la ingeniería de tejidos ([Cordeiro MM, et al., 2008](#); [Sakai VT, et al., 2010](#)). Esto plantea la posibilidad de que las células madre de la pulpa dental pueden constituir una sola fuente de células para la regeneración del tejido en cuestión y proporcionar al mismo tiempo, la red vascular necesaria que apoyará al tejido recién formado ([Luciano Casagrande, et al., 2011](#)).

ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

La búsqueda en la literatura en éste trabajo involucró los estudios existentes al momento actual del Ca (OH) 2, el Aloe Vera y sustancias alternas como base para proponer y mejorar los textos de apicoformación en endodoncia regenerativa. En éste sentido, se comenzará con el Ca (OH)2.

HIDRÓXIDO DE CALCIO, TAP Y DAP

Wang S, y cols., en 2012, mencionan que la adición de Ca (OH)2 en células de la pulpa dental humana *in vitro*, estimula la liberación de luciferasa ocasionando un aumento de la viabilidad celular. Además de que el empleo del Ca (OH)2 induce a la formación exitosa de una barrera apical ([Sanaa Rida, et al., 2011](#)). En este contexto, Yadlapati M, y cols., en 2013, mencionan en su estudio que el Ca (OH)2, ejerce una acción menos tóxica sobre los fibroblastos del ligamento periodontal en relación con la TAP, DAP y la minociclina. Además en un estudio realizado por Ruparel y cols., en 2012, mostró que la TAP en consistencia cremosa (1,000 mg / ml) es extremadamente tóxica para las SCAP; sin embargo, una consistencia acuosa no sería estable dentro del conducto radicular.

La tasa de éxito del uso del Ca (OH) 2 para la formación de una barrera apical es de un 74-100% ([Rafter M, 2005](#)), sin embargo, tiene varias desventajas, como es la duración media de tiempo de la formación de una barrera apical que es de aproximadamente 5-20 meses, lo cual requiere de múltiples citas, siendo muy probable que ocurra una nueva contaminación del sistema de conductos

radiculares; esto aumenta la fragilidad de la raíz debido a las paredes dentinales delgadas y, por lo tanto, es más susceptible a las fracturas radiculares (Sheehy E, *et al.*, 1997; Andreasen J, *et al.*, 2002).

MTA

Sanaa y cols., en 2011, menciona en su estudio que el MTA es igual de eficaz que el Ca (OH) 2 para la formación de la barrera apical en dientes permanentes inmaduros con ápice abierto. Wigler R, y cols., en 2013 mencionan que el MTA es el biomaterial más recomendado para sellar el espacio pulpar. El uso del MTA para crear una barrera apical artificial en forma de tejido duro (Shabahang S, *et al.*, 2000), tiene como ventaja que el tratamiento se completa en una o dos citas (Witherspoon DE, *et al.*, 2001), pero, al igual que el Ca (OH) 2, el MTA no permite continuar la maduración completa de la raíz, por lo tanto hay un mayor riesgo de fractura como consecuencia de las paredes dentinales delgadas y la pérdida prematura de los dientes (Cvek M, 1992).

REVASCULARIZACIÓN

Nozomu Yamauchi, y cols., en 2011, mencionan que al provocar la formación de un coagulo sanguíneo y colocar un andamio de esponja reticulada de colágeno tipo 1 dentro del conducto radicular de dientes inmaduros de perro con periodontitis apical, existe un mayor engrosamiento de las paredes del conducto, un aumento de la formación de tejido mineralizado y un mayor éxito en el cierre apical. Lea Assed Bezerra da Silva, y cols., en 2010, consideran que el Sistema

Endo-Vac, que consiste en una macrocánula ajustada al tamaño apical y movida de arriba hacia abajo dentro del conducto radicular, puede ser un protocolo prometedor con el uso del NaOCl al 2.5% en la desinfección de dientes inmaduros de perro con periodontitis apical, en la formación de tejido mineralizado y en la proliferación celular, sin necesidad del uso de medicamentos intraconducto. Por otro lado, Xiaojing Wang, y cols., en 2010, demuestran en su estudio que después de la desinfección y revascularización de dientes de perro también con periodontitis apical, el tejido duro junto a las paredes del conducto es cemento y que el tejido intraconducto es un tejido similar al ligamento periodontal y al hueso pero no similar al tejido pulpar al igual que concluye en su estudio João Eduardo Gomes-Filho, y cols., en 2013. da Silva, y cols., en 2010, en su estudio concluyen que el tejido vital formado dentro del conducto radicular después del tratamiento de regeneración, es un crecimiento del tejido periodontal hacia el espacio del conducto radicular.

Analí Moscoso S., y cols., en 2010, demuestran el éxito de un tratamiento de revascularización en una única visita de una paciente de 12 años del órgano dental 45 con presencia de tracto fistuloso drenante, con el uso de Clorhexidina al 2% como irrigante y sin instrumentación, resultando en una raíz madura y más fuerte a los 19 meses de seguimiento.

Los procedimientos regenerativos generalmente abogan por la colocación de una pasta triantibiótica (Steiner *et al.*, 1971; Torneck *et al.*, 1973; Baldassari-Cruz *et al.*, 1998; Andreasen *et al.*, 1994) que consta de una mezcla de ciprofloxacina,

metronidazol y minociclina para la desinfección del conducto radicular. Esta pasta ha demostrado su eficacia para la eliminación bacteriana intraconducto (Hoshino E, *et al.*, 1996); sin embargo, una desventaja de ésta técnica es la decoloración de la corona del diente, posiblemente por la minociclina (Reynolds K, *et al.*, 2009). Por lo tanto, A. Thomson, y cols., en 2010, demuestran un tratamiento exitoso de revascularización del órgano dentario 34 de una paciente de 12 años de edad, con el uso de una pasta triantibiótica que consiste en una mezcla de metronidazol, ciprofloxacino y amoxicilina, siendo este último antibiótico el que sustituye a la minociclina, con 20mg de cada uno y 1ml de agua estéril, dando por resultado una regeneración endodóntica exitosa sin decoloración del diente, por lo que habrá que realizarse más estudios sobre esto.

Jo~ao Eduardo Gomes-Filho, y cols., en 2013, mencionan en su estudio que también pueden formarse nuevos tejidos vitales en dientes necróticos de perro con ápice cerrado después de su desinfección y ampliación del foramen apical hasta una lima tipo K #60 y demuestran que ni el gel PRP ni el gel BMA o los dos combinados, mejoran el crecimiento de nuevos tejidos.

Aunque hay varios informes de los resultados favorables de este tratamiento en la literatura, también puede potencialmente causar efectos desfavorables como es la decoloración de los dientes después del tratamiento endodóntico regenerativo que, según Kim, y cols., en 2010, mencionan que la causa principal de la decoloración es la minociclina presente en la TAP. Lenherr P, y cols, en 2010 dicen que la TAP tiene el potencial de decoloración más alta entre cualquier otro

material endodóntico. Otra causa de la decoloración dental en este tipo de tratamientos es el uso del MTA ([Petrino J, et al., 2010](#); [Norat A, et al., 2012](#)).

Otra desventaja de la revascularización es el resultado desfavorable o sin ningún desarrollo de las raíces ya que una revisión histórica dental de los casos tratados con tratamientos de endodoncia regenerativos, reveló una relación entre la presencia de necrosis pulpar a largo plazo antes del tratamiento (> 6 meses) y los malos resultados en términos de desarrollo de las raíces ([Nosrat A, et al., 20102](#)), lo cual podría ser debido a la presencia de biopelículas bacterianas bien establecidas en las paredes dentinales difíciles de eliminar con la mínima o ninguna instrumentación y/o el daño a las SCAP o a la vaina epitelial de Hertwig como resultado a la infección periapical a largo plazo o a los traumatismos dentales ([Hergreaves KM, et al., 2013](#); [Nosrat A, et al., 2012](#)); además, Kakoli P, y cols., mencionan que en los dientes más jóvenes, las bacterias pueden penetrar en más túbulos dentinarios y avanzar más profundamente en comparación con los dientes seniles (de mayor edad).

La presencia de espacios vacíos dentro del conducto radicular o sin regeneración de tejidos es otra de las causas desfavorables que puede resultar con éste tratamiento. Este hallazgo lo descubrió por primera vez Lenzi y Trope en el 2012 en su estudio, sin embargo, documentaron la curación completa de la lesión periapical radiográficamente y en imágenes 3D. Nosrat, y cols., en 2012, también documentaron la presencia de espacios vacíos dentro del conducto radicular de dos incisivos centrales superiores de 6 años después del tratamiento regenerativo,

mostrando también la curación completa de las lesiones periapicales y signos radiográficos de cierre apical, sin aumento de la longitud radicular o de las paredes dentinales. Como aún los criterios exactos para el éxito del tratamiento no se han determinado, éstos resultados no se pueden considerar como “fracasos clínicos”, pero muestran que los resultados para la regeneración pulpar pueden ser impredecibles.

El resultado biológico del tratamiento todavía no es predecible y no es del todo claro. Parte de éste problema puede estar relacionado con las estrategias de desinfección, como lo demuestran Treviño y cols., en 2001, en su estudio, donde mencionan que el efecto del NaOCl sobre las SCAP es altamente tóxico e impide la repoblación de las SCAP en las paredes dentinales. En éste contexto, la investigación de la capacidad de las células madre de la pulpa dental (DPSC) a adherirse a la dentina después de haber sido expuestas a diferentes irrigantes, reveló que la irrigación con NaOCl fue relacionada con un menor grado de adherencia de las células (Ring K, *et al.*, 2008). Además, la desnaturalización de las proteínas de la dentina por el NaOCl, interfiere con la diferenciación de células madre en contacto con la dentina (Casagrande L, *et al.*, 2010)

ALOE VERA

S. S. Silva, y cols., en 2013, en su estudio mencionan que pueden formarse membranas con la incorporación del gel de Aloe Vera en quitosano y sugieren que éstas membranas pueden ser útiles como apósitos para heridas por su efecto bacteriano, su buena respuesta celular reactiva, y por sus propiedades mecánicas

y físicas adecuadas; mientras que Prakash P. Athiban, y cols., en 2012 demuestran la eficacia del gel de Aloe Vera para la descontaminación de manera rápida de los conos de gutapercha y lo ofrecen como medio de almacenamiento con un futuro prometedor.

Jittapiromsak N., y cols., en 2010, demuestran en su estudio, que el acemanano (fracción principal de hidratos de carbono, un polisacárido o una mezcla de polisacáridos obtenidos a partir del gel de la hoja de Aloe Vera), incrementa la proliferación celular de la pulpa dental humana, promueve la formación de dentina mediante la estimulación celular primaria de la pulpa, la diferenciación, la formación de la matriz extracelular y la mineralización.

Wisakarn Boonpaisanseree y cols., en 2012, en su estudio mencionan que el acemanano mejora la expresión DSPP mRNA en las células de la pulpa dental humana, que estimula la diferenciación de odontoblastos en células de la pulpa dental humana a través de la vía p38MAPK, la cual puede inducir a la formación de dentina reparativa.

El Aloe Vera tiene muchos beneficios para la salud, como su potencial antibacteriano, antimicótico y antiviral, especialmente contra el Herpes ([Prakash P Athiban, et al., 2012](#)). Se ha demostrado su efecto sobre la regeneración de la dentina ([Iohara, et al., 2004](#); [Melin, et al., 2000](#); [Schroder y Granath, 1971](#); [Sloan, et al., 2000](#)) y su propiedad antiinflamatoria ([Jittapiromsak, et al., 2010](#)), lo cual, es de gran interés, siendo necesaria la realización de nuevos estudios.

JUSTIFICACIÓN

La vitalidad de la pulpa es extremadamente importante para la viabilidad del diente, ya que proporciona nutrición y actúa como biosensor para detectar estímulos patógenos. En la clínica dental, la mayoría de las infecciones de la pulpa dental son irreversibles debido a su posición anatómica y organización. Es difícil para el cuerpo eliminar la infección, que posteriormente persiste y se agrava. La estrategia utilizada actualmente en la clínica es retirar parcial o totalmente el tejido de la pulpa contaminada y llenar y sellar el espacio vacío con material sintético. Con el tiempo, el diente tratado endodónticamente, carece de suministro de sangre y el sistema nervioso, lo que lo hace más vulnerable a lesiones. Recientemente, el potencial para terapias de regeneración y revascularización de la pulpa va en aumento, debido al reconocimiento de las células madre existentes en el ligamento periodontal. Este trabajo revisará el progreso actual y estrategias viables para favorecer la desinfección y regeneración celular de conductos radiculares aumentando el éxito en procesos de apicoformación.

OBJETIVO GENERAL

Indicar el método más eficaz en base a la literatura existente, para la evaluación *in vitro* de células troncales del ligamento periodontal, al emplear el hidróxido de calcio químicamente puro, mezclado con aloe vera 100% puro, en la desinfección de conductos radiculares inmaduros y como posible regenerador celular, pudiendo aumentar el grado de éxito en procesos apicoformación.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Indicar la metodología más adecuada para la obtención de células troncales del ligamento periodontal mediante técnicas de ingeniería tisular, para la generación de cultivos celulares.
2. Indicar la metodología más adecuada para la evaluación del grado de viabilidad celular de células troncales del ligamento periodontal en presencia de hidróxido de calcio químicamente puro, mezclado con aloe vera 100% puro.
3. Indicar la metodología más adecuada para la evaluación del efecto del aloe vera sobre procesos de desinfección y regeneración celular de conductos radiculares pudiendo aumentar el grado de éxito en procesos de apicoformación.

HIPÓTESIS

HIPÓTESIS ALTERNATIVA

La revisión bibliográfica al momento actual, permitirá proponer la metodología idónea para evaluar el grado de viabilidad celular que permita la desinfección y regeneración celular de conductos radiculares pudiendo aumentar el grado de éxito en procesos de apicoformación.

HIPÓTESIS NULA

La revisión bibliográfica al momento actual, no permitirá proponer la metodología idónea para evaluar el grado de viabilidad celular que permita la desinfección y regeneración celular de conductos radiculares pudiendo aumentar el grado de éxito en procesos de apicoformación.

MATERIALES Y MÉTODOS

OBTENCIÓN, PROCESAMIENTO Y CULTIVOS CELULARES DE LOS HPDL

En base a la información sobre las técnicas empleadas para la obtención, procesamiento y cultivo de las células progenitoras del ligamento periodontal, a partir de artículos indexados en PubMed. El periodo de revisión de diversas publicaciones abarcó desde el año 2000 al año 2014. Además esta revisión, contempló de manera adicional libros, fuentes electrónicas y bibliográficas. En base a la literatura existente se indicó la metodología más adecuada para la obtención, procesamiento y cultivo de dichas células mediante técnicas de ingeniería tisular.

PRUEBAS DE CITOTOXIDAD MEDIANTE EVALUACIÓN HISTOLÓGICA

Para indicar la metodología más adecuada, en pruebas de citotoxicidad, sobre las células troncales del ligamento periodontal ante diferentes materiales empleados para la desinfección y favorecer el cierre de conductos radiculares en dientes inmaduros, se realizó una exhaustiva revisión de la literatura en pubmed, durante el periodo del 2000, al 2014, permitiendo plantear la mejor técnica que permite evaluar el grado de citotoxicidad de materiales empleados en tratamientos endodónticos para promover la apicoformación en relación a células troncales del ligamento periodontal, las cuales deben contemplarse para el éxito de este tipo de tratamientos.

ANÁLISIS COMPARATIVO ENTRE EL HIDRÓXIDO DE CALCIO QUÍMICAMENTE PURO MEZCLADO O NO CON ALOE VERA 100% PURO DURANTE LA INMERCIÓN DE LA HPDL EN ELLOS

Finalmente, se determinó la técnica a emplearse, para sugerir un análisis comparativo, en cuanto al papel que juega el aloe vera, sobre las células troncales del ligamento periodontal, para favorecer el éxito en procedimientos de apicoformación en base a la revisión en la literatura antes dicha.

RESULTADOS

Una vez analizados diversos artículos, se propone la siguiente metodología para establecer el protocolo de evaluación *in vitro* de las células troncales del ligamento periodontal para la apicoformación al emplear el hidróxido de calcio químicamente puro, mezclado con aloe vera 100% puro.

- **OBTENCIÓN DE CÉLULAS TRONCALES DEL LIGAMENTO PERIODONTAL (HPDL)**

Morrison cols., 2010 y Treviño y cols., 2011 mencionan que el ligamento periodontal de terceros molares y premolares extraídos previa prescripción ortodóntica son una rica fuente celular, para la obtención de las HPDL.

Una vez realizada la extracción de estas piezas dentales, estas se transportaran en medios de cultivo y se les incubará hasta el momento de su procesamiento a 4 grados Celsius.

Se aislarán las HPDL en base a la metodología establecida por Yadlapati M y cols., 2013, las HPDL, se cultivarán a una densidad de 2×10^4 en DMEM y se incubarán durante 24hrs, a 37 grados centígrados; el subcultivo de las HPDL será en monocapa o de forma bidimensional, sobre pocillos tipo chamber.

- **INMERSIÓN DE CÉLULAS TRONCALES DEL LIGAMENTO PERIODONTAL EN $\text{Ca}(\text{OH})_2$ y ALOE VERA.**

Según lo establecido por Wisakarn B y cols., 2012, el empleo de células troncales de la pulpa dental humana, en nuestro caso utilizaremos HPDL, ya que de acuerdo a la literatura consultada para este trabajo son más viables utilizarlas.

Wisakarn B y cols., procesaron el extracto de aloe vera y posteriormente sugieren realizar el cultivo de células sobre DMEM, y posteriormente mezclar del DMEM con el aloe vera en concentraciones de 0,5, 1, 2, 4, y 8 mg/ml durante 24 horas; en este caso nosotros realizaremos la dilución del aloe vera en presencia o ausencia de hidróxido de calcio químicamente puro.

- **EVALUACIÓN HISTOLÓGICA**

Se evaluará la expresión ARNm de diversas citoquinas de acuerdo a lo establecido por Yadlapati M y cols., 2013. De acuerdo a De – Deus y cols., 2009; 2012, el cual combina un ensayo multiparamétrico de la supervivencia celular e integridad de la muestra, evaluando así, mediante la evaluación de la integridad de la membrana celular.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Al analizar diversos artículos, los investigadores nos dan una aproximación a cerca de un protocolo “ideal” para la regeneración y revascularización pulpar en procedimientos de apicoformación; los cuales mencionan el gran papel que desempeñan diferentes elementos como el empleo o no de medicación intraconducto, medios irrigantes, así como la inducción de un coágulo sanguíneo, para aumentar así, la tasa de éxito en este tipo de tratamientos.

Wang S. y cols., en el 2012, evaluaron el efecto del Ca (OH)₂ sobre la transcripción de la cialoproteína en células de la pulpa dental humana y concluyeron que el Ca (OH)₂ estimula la liberación del ARM (gen BSP o SX y el RUNX) luciferasa.

Yadlapati M. y cols., en el 2013, evaluaron el efecto citotóxico de los medicamentos intraconductos, en donde analizaron la TAP, DAP y el Ca (OH)₂ y demostraron que el Ca (OH)₂ fue el que tuvo un efecto citotóxico mínimo sobre la viabilidad celular del LP y mínima producción de citoquinas, por lo contrario la TAP, demostró mayores efectos nocivos sobre la viabilidad de las HPDL y aumento de citoquinas, por lo tanto en este estudio el Ca (OH)₂ fue menos tóxico.

Sanaa Chala y cols., en el 2011 analizaron la eficacia del MTA y del Ca (OH)₂ como material utilizado para el cierre apical de dientes inmaduros por medio de una revisión sistemática cuantitativa con una búsqueda completa de la lengua

Inglés-Francés y de la literatura dental mediante el uso del Pubmed Medline (1966 hasta noviembre de 2009) y bases de datos Scopus (1966 hasta noviembre de 2009) donde concluyeron que no había diferencia significativa en la formación de una barrera apical.

Nozomu Yamauchi y cols., en el 2011, exploraron una estrategia eficiente para la ingeniería de tejidos en el tratamiento de dientes inmaduros con pulpas necróticas y periodontitis apical, donde primero se indujo la infección pulpar, después se desinfectaron los conductos radiculares con una mezcla de partes iguales de metronidazol, ciprofloxacina y minociclina para finalmente ser mezclada con macrogol y propilenglicol, se cerraron temporalmente con una esponja estéril e IRM, posterior a 2 semanas se procedió a retirar la mezcla con irrigación de 10ml de NaOCl al 2,5% y 10ml de solución salina. Se dividieron en 4 grupos: en el grupo 1 se indujo el sangrado para llenar el espacio del conducto con una lima endodóntica manual estéril #20 de acero inoxidable y una vez lleno se cerró con MTA y ionómero de vidrio; al grupo 2 se les aplicó EDTA al 17% a los conductos antes de inducirles el sangrado y sellarlo; al grupo 3 se lava con solución salina tamponada con fosfato, se les induce el sangrado y se les colocó un andamio de esponja reticulada de colágeno tipo 1 empapada de sangre de forma incremental; finalmente al grupo cuatro se les agregó EDTA al 17% , se les indujo el sangrado y también se les colocó el andamio. Finalmente concluyeron que el grupo 4 presentó mayor éxito en la resolución de las radiotransparencias perirradiculares; en cuanto al engrosamiento de las paredes del conducto radicular, el grupo de mayor éxito

fue el grupo 3 y el de menor éxito grupo 2; todos los grupos de tratamiento mostraron la formación de tejidos mineralizados en el interior de las paredes de dentina y/o en el lumen del conducto; en cuanto al desarrollo apical, éste se observó con mayor frecuencia en los grupos que contenían andamios; y por último, el efecto de desmineralización y la exposición de la matriz de dentina se vio mayormente favorecido en los grupos donde se utilizó el EDTA al 17%.

Lea Assed Bezerra da Silva y cols., en el 2010, evaluaron la revascularización y la reparación periapical después del tratamiento endodóntico usando 2 técnicas de desinfección del conducto radicular donde concluyeron que la irrigación con presión apical negativa (Sistema EndoVac) puede ser un protocolo prometedor en al desinfección de dientes con ápices inmaduros y periodontitis apical sin necesidad del uso de medicamentos intraconducto.

Xiaojing Wang y cols., en el 2010, examinaron el tipo de tejidos generados dentro del conducto radicular en dientes de perro que habían sido infectados con placa periodontal y que crearon lesiones periapicales utilizando la TAP, dando como resultado la formación de tejido duro en un 43.9% y la formación de tejidos vitales en un 29.3%. Los dientes se desarrollaron normalmente alcanzando su madurez radicular, la dentina adquirió su grosor funcional y hubo un aumento del espesor de la raíz por la invasión de cemento; también se observaron cantidades significativas de células inflamatorias adyacentes a los tejidos neoformados y la formación de tejido similar al hueso con presencia de trabéculas; también se

observó la formación de puentes de tejido duro, por lo que en este estudio se recomienda el uso de la TAP como medicamento intraconducto en dientes inmaduros con lesiones periapicales.

Analí Moscoso S y cols., en el 2009, propusieron un protocolo de revascularización en un segundo premolar inferior derecho que diagnosticaron como necrosis pulpar parcial. La hemorragia de la porción coronal se irrigó con 10ml de NaOCl al 6% y lavada con solución salina estéril. Posteriormente se irrigó con 10ml de clorhexidina al 2% y se dejó por 10 min. La porción coronal se secó con puntas de papel estéril y se empaquetó MTA en la porción coronal junto con un composite. Se lavó el tracto fistuloso drenante con 3ml de Gluconato de clorhexidina al 0.12% y se le indicó a la paciente que terminara su tratamiento de amoxicilina junto con ibuprofeno de 800mg. A las 2 semanas, la paciente no presentó sensibilidad a la palpación, solo mostraba mínima sensibilidad a la percusión. El tracto fistuloso se irrigó con 3ml de Gluconato de clorhexidina al 0.12%. No se observaron cambios radiográficos significativos. A las 6 semanas la paciente estaba asintomática, el diámetro del ápice había disminuido, era evidente el engrosamiento de las paredes. A los 7 meses la paciente siguió asintomática, la lámina dura podría identificarse alrededor de toda la superficie radicular y el espacio del ligamento periodontal se restableció, el hueso alveolar estaba curado. Clínicamente se restableció el contorno gingival. A los 13 y 19 meses la paciente permanecía asintomática con la resolución completa de la osteítis condensante.

Se demostró el éxito del protocolo de revascularización conservadora en una única visita con la eliminación de la patología periapical y una raíz más fuerte.

A. Thomson y cols., en el 2010, querían determinar si el protocolo presentado de regeneración pulpar de un segundo premolar mandibular izquierdo podría resultar en la formación de una raíz más larga y gruesa en un diente que se creía exhibía pérdida parcial de la vitalidad del tejido pulpar en una única visita, con una técnica modificada para la revascularización en una pulpa parcialmente necrótica con periodontitis apical crónica asociada utilizando la TAP sustituyendo a la minociclina por la amoxicilina. Una vez preparado el acceso, se irrigó con hipoclorito de sodio al 1% a 2mm de la longitud y se secó el conducto con puntas de papel. La pasta triantibiótica consistió en la mezcla de metronidazol, ciprofloxacino y amoxicilina con 20mg de cada uno con 1ml de agua estéril y se introdujo en el conducto radicular procurando colocarla sólo en la porción coronal del diente, y se selló con 4mm de Cavit. El paciente refiere dolor a los 3 días. Por lo tanto se prosiguió a tratar al diente. Lo irrigaron con 20ml de hipoclorito de sodio y activado ultrasónicamente con una lima K #10. Después de que secaron el conducto, con un espaciador manual D11T de NiTi, se irritó el tejido apical e indujeron el sangrado y así crear un andamio biológico para el proceso de regeneración. Durante 15 minutos, el coagulo de sangre se dejó a un nivel de 3mm por debajo de la unión amelo-cementaria. Luego colocaron ProRoot blanco (MTA) y Fuji IX y 2mm de resina compuesta. A los 18 meses de seguimiento el diente se mantuvo asintomático y sensible a las pruebas eléctricas. La curación

ósea de la lesión periapical era evidente radiográficamente, así como la maduración de la raíz.

João Eduardo Gomes-Filho y cols., en el 2013, investigaron los efectos sinérgicos de los coágulos sanguíneos con PRP, geles BMA y PRP/BMA para la regeneración pulpar de dientes necróticos con ápice cerrado en un modelo de estudio en perros. Indujeron las lesiones periapicales y posteriormente prepararon los conductos radiculares e irrigados con 10ml de hipoclorito de sodio al 2,5%. El foramen apical se amplió hasta una lima tipo K #60; se irrigó con solución salina estéril, luego con hipoclorito de sodio al 2.5% y EDTA al 17% y finalmente con solución salina estéril y se secaron los conductos con puntas de papel. La TAP se aplicó en los conductos y los dientes se sellaron temporalmente con ionómero de vidrio por 4 semanas. Se continuó con la preparación del Gel PRP, el Gel BMA y la trombina autóloga. Se eliminaron las restauraciones y la TAP con solución salina estéril y se secaron con puntas de papel; los dientes se dividieron en 5 grupos experimentales y un grupo control negativo. Grupo 1: se inserta una lima tipo K-file #30 estéril a 2 mm más allá del extremo del conducto para inducir la hemorragia y a formación del coágulo en el conducto. Grupo 2: se forma el coágulo y se inyectan 20ml del Gel PRP en cada conducto. Grupo 3: se crea el coágulo y se inyectan 20ml de Gel BMA en cada conducto. Grupo 4: se crea el coágulo y se inyectan de Gel PRP mezclado con el Gel BMA. Grupo 5 (control negativo): no se realizó ningún tratamiento adicional después de la descontaminación con la TAP. Los dientes se sellaron con MTA y cemento de hidróxido de calcio compuesto; se

monitorearon radiográficamente por 3 meses después del tratamiento. Los tejido intraconducto neoformados (NIT) eran evidentes si en un 71.97% en los grupos experimentales. Los tejidos neoformados eran tejidos conectivos densos con un número bajo de vasos sanguíneos, tejidos similares al cemento (NC) y tejidos similares al hueso (NB). Una capa de cemento fue depositada en las paredes de los conductos radiculares en el 100% de las muestras cuando el NCT estaba presente. Todas las muestras que exhibieron NCT mostraron un predominio de fibras de colágeno maduras. Los NIP alcanzaron el tercio cervical en 8 muestras, 11 muestras en el tercio medio y 4 en el tercio apical concluyendo que pueden formarse nuevos tejidos vitales en dientes con ápice cerrado después de su desinfección y de la ampliación del foramen apical.

S. S. Silva y cols., en el 2013, exploraron la asociación sinérgica del quitosano y del gel de Aloe Vera para crear membranas mezcladas que podrían ser útiles en los apósitos activos, donde demostraron que el gel de AV puede ser utilizado como un eficaz descontaminante, en este caso de los conos de GP.

Prakash P Athiban y cols., en el 2012, evaluaron una alternativa a base del gel del Aloe Vera para una rápida descontaminación de los conos de gutapercha. Tres cepas se obtuvieron: *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*, se preparó un caldo de tioglicolato y el extracto de Aloe Vera. Se utilizó un nuevo paquete de puntas de gutapercha de tamaño F2 Dia-ProTplus y el sistema ProTaper. El paquete fue abierto en condiciones estériles y 4 puntas fueron

llevadas al interior del caldo de tioglicolato recién preparado, incuvandose por 24 horas. Otros 4 nuevos conos de gutapercha y se descontamiraron durante 1 minuto en 90% del gel de Aloe Vera; posteriormente se retiraron del gel y se limpiaron con ana gasa estéril y después se incubaron en caldo de tioglicolato por 24 horas. La eficacia de descontaminación se evaluó por la aparición de turbidez en el caldo de tioglicolato. Los conos de gutapercha que no fueron descontaminados con Aloe Vera desarrollaron turbidez en el caldo tioglicolato y en los que si se mantuvo claro. Lo cual indica la ausencia de contaminantes microbianos. Por lo tanto, el gel de Aloe Vera tiene un futuro prometedor como medio de almacenamiento de los conos de gutapercha.

Jittapiromsak N. y cols., en el 2010, investigaron el efecto del acemanano sobre la formación de dentina donde se demostró que el acemanano incrementó significativamente la proliferación celular del tejido pulpar y la formación de un puente de dentina completo y homogéneo calcificado, lo cual no se encontró en los grupos tratados con Ca (OH)_2 . Los investigadores sugirieron que el acemanano promueve la formación de dentina mediante la estimulación de la proliferación celular primaria de la pulpa dental humana, la diferenciación, la formación de la matriz extracelular y la mineralización.

Wisakarn Boonpaisanseree y cols., en el 2012, investigaron el efecto del AV sobre la expresión de la sialo fosfoproteína de la dentina en células del tejido pulpar

mediante mitógenos p38 y concluyeron que el AV mejora la expresión DSPP ARMm en las células de la pulpa dental humana.

CONCLUSIONES

La literatura disponible sobre la regeneración y la revascularización pulpar aún es muy poca y no se ha encontrado un protocolo de tratamiento ideal. Por tal motivo, éste trabajo revisó el progreso actual y las estrategias viables para indicar el método más eficaz en base a la literatura existente, para la evaluación *in vitro* de células troncales del ligamento periodontal, al emplear el hidróxido de calcio químicamente puro, mezclado con aloe vera 100% puro, en la desinfección de conductos radiculares inmaduros y como posible regenerador celular, pudiendo aumentar el grado de éxito en procesos de apicoformación.

SUGERENCIAS PARA TRABAJOS FUTUROS

Llevar a cabo la fase experimental de las HPDL y evaluar el efecto del hidróxido de calcio en presencia o ausencia de Aloe Vera empleando técnicas de ingeniería tisular, ya que podría ser una alternativa eficaz en procedimientos de apicoformación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A

- 1) A. Bakopoulou a,b, G. Leyhausen b, J. Volk b, A. Tsiftoglou c, P. Garefis a, REP. Koidis a, W. Geurtsen b,d,* . COMPARATIVE ANALYSIS OF *IN VITRO* OSTEO/ODONTOGENIC DIFFERENTIATION POTENTIAL OF HUMAN DENTAL PULP STEM CELLS (DPSCS) AND STEM CELLS FROM THE APICAL PAPILLA (SCAP). *ELSEVIER. Archives of oral biology*; 56; 709 – 721; 2011.
- 2) Aberg T, Wozney J, Thesleff I. EXPRESSION PATTERNS OF BONE MORPHOGENETIC PROTEINS (BMPS) IN THE DEVELOPING MOUSE TOOTH SUGGEST ROLES IN MORPHOGENESIS AND CELL DIFFERENTIATION. *Dev Dyn*; 210:383–96; 1997.
- 3) Abe S, Yamaguchi S, Watanabe A, Hamada K, Amagasa T. Hard. TISSUE REGENERATION CAPACITY OF APICAL PULP DERIVED CELLS (APDCS) FROM HUMAN TOOTH WITH IMMATURE APEX. *Biochem Biophys Res Commun*; 371:90–3; 2008.
- 4) About I, Camps J, Burger AS, Mitsiadis TA, Butler WT, Franquin JC. POLYMERIZED BONDING AGENTS AND THE DIFFERENTIATION *IN VITRO* OF HUMAN PULP CELLS INTO ODONTOBLAST-LIKE CELLS. *Dent Mater*; 21:156–63; 2005.
- 5) Adams GB, Chabner KT, Alley IR et al. STEM CELL ENGRAFTMENT AT THE ENDOSTEAL NICHE IS SPECIFIED BY THE CALCIUM-SENSING RECEPTOR. *Nature* 439, 599–603; 2006.
- 6) Adl A, Shojaei NS, Motamedifar M. A. COMPARISON BETWEEN THE ANTIMICROBIAL EFFECTS OF TRIPLE ANTIBIOTIC PASTE AND CALCIUM HYDROXIDE AGAINST *ENTEROCOCCUS FAECALIS*. *Iran Endod J.*; 7(3):149–55; 2012.
- 7) Adzick NS, Longaker MT. CHARACTERISTICS OF FETAL TISSUE REPAIR. Ed. Fetal Wound Healing. New York, NY: *Elsevier*, pp.; 53–70; 1992.
- 8) Agata H, Kagami H, Watanabe N, Ueda M. EFFECT OF ISCHEMIC CULTURE CONDITIONS ON THE SURVIVAL AND DIFFERENTIATION OF PORCINE DENTAL PULP-DERIVED CELLS. *Differentiation*; 76:981–93; 2008.

- 9) Alongi DJ, Yamaza T, Song Y, Fouad AF, Romberg EE, Shi S, Tuan RS, Huang GT. STEM/PROGENITOR CELLS FROM INFLAMED HUMAN DENTAL PULP RETAIN TISSUE REGENERATION POTENTIAL. *Regen Med.*; 5(4):617–31; 2010.
- 10) Amann RI, Ludwig W, Schleifer KH. PHYLOGENETIC IDENTIFICATION AND IN SITU DETECTION OF INDIVIDUAL MICROBIAL CELLS WITHOUT CULTIVATION. *Microbiol Rev.*; 59:143-69; 1995.
- 11) Analí Moscoso S., Abella Sans F., Bueno Martínez R., Roig Cayón M. ONE STEP PULP REVASCULARIZATION TREATMENT OF AN IMMATURE PERMANENT TOOTH WITH CHRONIC APICAL ABSCESS: A CASE REPORT. Shin SY, Albert JS, Mortman RE. *Int Endod J.* Dec. 42(12):1118-26; 2009.
- 12) Andreasen J, Farik B, Munksgaard E. LONG-TERM CALCIUM HYDROXIDE AS A ROOT CANAL DRESSING MAY INCREASE RISK OF ROOT FRACTURE. *Dent Traumatol*; 18:134–7; 2002.
- 13) Andreasen JO, Andreasen FM (1994). TEXTBOOK AND COLOR ATLAS OF TRAUMATIC INJURIES TO THE TEETH, 3rd edn. Copenhagen, Denmark: Munksgaard. *Revista odontológica de especialidades*, 2010.
- 14) Andreasen JO, Borum MK, Jacobsen MK, Andreasen FM. Replantation of 400 avulsed permanent incisors. 2. FACTORS RELATED TO PULPAL HEALING. *Endod Dent Traumatol.* 11:59–68; 1995.
- 15) Angel Lasala, ENDODONCIA, 3ª Edición, Edit. *Salvat*, Barcelona España. P.115; 1988.
- 16) Arai F, Suda T. ROLE OF STEM CELL NICHE IN THE MAINTENANCE OF HEMATOPOIETIC CELLS. *Inflammation and regeneration.* 27, 117–23; 2007.
- 17) Artese L, Rubini C, Ferrero G, Fioroni M, Santinelli A, Piattelli A. VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR (VEGF) EXPRESSION IN HEALTHY AND INFLAMED HUMAN DENTAL PULPS. *J Endod.* 28(1):20–3; 2002.
- 18) Asgary S, Ehsani S. PERIRADICULAR SURGERY OF HUMAN PERMANENT TEETH WITH CALCIUM-ENRICHED MIXTURE CEMENT. *Iran Endod J.* 8(3):140–4; 2013.
- 19) Athanassiadis B, Abbott PV, Walsh LJ. THE USE OF CALCIUM HYDROXIDE, ANTIBIOTICS AND BIOCIDES AS ANTIMICROBIAL MEDICAMENTS IN ENDODONTICS. *Australian Dental Journal.* 52, S64–82; 2007.

- 20) A. Thomson,* B Kahler*. REGENERATIVE ENDODONTICS – BIOLOGICALLY-BASED TREATMENT FOR IMMATURE PERMANENT TEETH: A CASE REPORT AND REVIEW OF THE LITERATURA. *Australian Dental Journal*. 55: 446–452; 2010.

B

- 21) Baik JE, Jang KS, Kang SS et al. CALCIUM HYDROXIDE INACTIVATES LIPOTEICHOIC ACID FROM ENTEROCOCCUS FAECALIS THROUGH DEACYLATION OF THE LIPID MOIETY. *Journal of Endodontics*; 37, 191–6; 2011.
- 22) Baldassari-Cruz LA, Walton RE, Johnson WT). SCANNING ELECTRON MICROSCOPY AND HISTOLOGIC ANALYSIS OF AN APEXIFICATION “CAP”. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontics*; 86, 465–8; 1998.
- 23) Banchs F, Trope M. REVASCULARIZATION OF IMMATURE PERMANENT TEETH WITH APICAL PERIODONTITIS: NEW TREATMENT PROTOCOL. *J Endod.*; 30:196–200; 2004.
- 24) Bassler BL. HOW BACTERIA TALK TO EACH OTHER: REGULATION OF GENE EXPRESSION BY QUORUM SENSING. *Curr Opin Microbiol*; 2: 582-7; 1999.
- 25) Barry FP. BIOLOGY AND CLINICAL APPLICATIONS OF MESENCHYMAL STEM CELLS. *Birth defects research*. Part C, Embryo today: reviews; 69(3):250–6; 2003.
- 26) Barthel CR, Levin LG, Reisner HM, Trope M. TNF ALPHA RELEASE IN MONOCYTES AFTER EXPOSURE TO CALCIUM HYDROXIDE TREATED ESCHERICHIA COLI LPS. *International Endodontic Journal*; 30, 155–9; 1997.
- 27) Batouli S, Miura M, Brahim J, et al. COMPARISON OF STEM-CELL-MEDIATED OSTEOGENESIS AND DENTINOGENESIS. *J Dent Res.*; 82:976–81 2003. Baumgartner JC, Falkler WA Jr, Bernie RS, Suzuki JB. Serum IgG reactive with oral anaerobic microorganisms associated with infections of endodontic origin. *Oral Microbiol Immunol*; 7:106-10; 1992.
- 28) Baumgartner JC, Falkler WA Jr. BACTERIA IN THE APICAL 5 MM OF INFECTED ROOT CANALS. *J Endod*; 17:380-3; 1991.
- 29) Baumgartner JC, Falkler WA Jr, Beckerman T. EXPERIMENTALLY INDUCED INFECTION BY ORAL ANAEROBIC MICROORGANISMS IN A MOUSE MODEL. *Oral Microbiol Immunol*; 7:253-6; 1992.
- 30) Baumgartner JC, Watkins BJ, Bae KS, Xia T. ASSOCIATION OF BLACK-PIGMENTED BACTERIA WITH ENDODONTIC INFECTIONS. *J Endod*; 25:413-5; 1999.

- 31) Begue-Kirn C, Krebsbach PH, Bartlett JD, Butler WT. DENTIN SIALOPROTEIN, DENTIN PHOSPHOPROTEIN, ENAMELYSIN AND AMELOBLASTIN: TOOTH-SPECIFIC MOLECULES THAT ARE DISTINCTIVELY EXPRESSED DURING MURINE DENTAL DIFFERENTIATION. *Eur J Oral Sci.*; 106:963–70; 1998.
- 32) Begue-Kirn C, Smith AJ, Ruch JV, Wozney JM, Purchio A, Hartmann D, Lesot H. EFFECTS OF DENTIN PROTEINS, TRANSFORMING GROWTH FACTOR BETA 1 (TGF BETA 1) AND BONE MORPHOGENETIC PROTEIN 2 (BMP2) ON THE DIFFERENTIATION OF ODONTOBLAST *IN VITRO*. *Int J Dev Biol.*; 36(4):491–503; 1992.
- 33) Begue-Kirn C, Smith AJ, Lorient M, Kupferle C, Ruch JV, Lesot H. COMPARATIVE ANALYSIS OF TGF BETA S, BMPS, IGF1, MSXS, FIBRONECTIN, OSTEOCTIN AND BONE SIALOPROTEIN GENE EXPRESSION DURING NORMAL AND *IN VITRO*-INDUCED ODONTOBLAST DIFFERENTIATION. *Int J Dev Biol.*; 38:405–20; 1994.
- 34) Bei M, Maas R. FGFS AND BMP4 INDUCE BOTH MSX1-INDEPENDENT AND MSX1-DEPENDENT SIGNALING PATHWAYS IN EARLY TOOTH DEVELOPMENT. *Development*; 125:4325–33; 1998.
- 35) Bianco P, Robey PG, Simmons PJ. MESENCHYMAL STEM CELLS: REVISITING HISTORY, CONCEPTS, AND ASSAYS. *Cell Stem Cell*; 2, 313–9; 2008.
- 36) Billings F. CHRONIC FOCAL INFECTIONS AND THEIR ETIOLOGIC RELATIONS TO ARTHRITIS AND NEPHRITIS. *Arch Int Med*; 9:484-98; 1912.
- 37) Bluteau G, Luder HU, De Bari C, Mitsiadis TA. STEM CELLS FOR TOOTH ENGINEERING. *Eur Cell Mater*; 16:1–9; 2008.
- 38) Bogen G, Kuttler S. MINERAL TRIOXIDE AGGREGATE OBTURATION: A REVIEW AND CASE SERIES. *J Endod.*; 35(6):777–90; 2009.
- 39) Bohl KS, Shon J, Rutherford B, Mooney DJ. ROLE OF SYNTHETIC EXTRACELLULAR MATRIX IN DEVELOPMENT OF ENGINEERED DENTAL PULP. *J Biomater Sci Polym Ed*; 9:749–64; 1998.
- 40) Bosch P, Musgrave DS, Lee JY, Cummins J, Shuler T, Ghivizzani TC, Evans T, Robbins TD, Huard. OSTEOPROGENITOR CELLS WITHIN SKELETAL MUSCLE. *J Orthop Res*; 18:933–44; 2000.
- 41) Bose R, Nummikoski P, Hargreaves K. A RETROSPECTIVE EVALUATION OF RADIOGRAPHIC OUTCOMES IN IMMATURE TEETH WITH NECROTIC ROOT

CANAL SYSTEMS TREATED WITH REGENERATIVE ENDODONTIC PROCEDURES. *J Endod*; 35:1343–9; 2009.

- 42) Bouvier M, Joffre A, Magloire H. *IN VITRO* MINERALIZATION OF A THREE-DIMENSIONAL COLLAGEN MATRIX BY HUMAN DENTAL PULP CELLS IN THE PRESENCE OF CHONDROITIN SULPHATE. *Arch Oral Biol*; 35:301–9; 1990.
- 43) Brogden KA, Roth JA, Stanton TB, Bolin CA, Minion FC, Wannemuehler MJ (editors). VIRULENCE MECHANISMS OF BACTERIAL PATHOGENS. 3rd ed. *Washington (DC): ASM Press*; 2000.
- 44) Bronckers AL, Lyaruu DM, Woltgens JH. IMMUNOHISTOCHEMISTRY OF EXTRACELLULAR MATRIX PROTEINS DURING VARIOUS STAGES OF DENTINOGENESIS. *Connect Tissue Res*; 22:65–70; 1989.
- 45) Bullard KM, Longaker MT, Lorenz HP. FETAL WOUND HEALING: CURRENT BIOLOGY. *World Journal of Surgery*; 27, 54–61; 2003.
- 46) Butler WT, Brunn JC, Qin C. DENTIN EXTRACELLULAR MATRIX (ECM) PROTEINS: COMPARISON TO BONE ECM AND CONTRIBUTION TO DYNAMICS OF DENTINOGENESIS. *Connect Tissue Res*; 44(Suppl 1):171–8; 2003.
- 47) Bystrom A, Claesson R, Sundqvist G. THE ANTIBACTERIAL EFFECT OF CAMPHORATED PARAMONOCHELOROPHENOL, CAMPHORATED PHENOL AND CALCIUM HYDROXIDE IN THE TREATMENT OF INFECTED ROOT CANALS. *Endodontics & Dental Traumatology* 1, 170–5; 1985.

C

- 48) Carlson ME, Conboy IM. LOSS OF STEM CELL REGENERATIVE CAPACITY WITHIN AGED NICHES. *Aging Cell*; 6, 371–82; 2007.
- 49) Casagrande L, Demarco FF, Zhang Z, Araujo FB, Shi S, Nor JE. DENTIN-DERIVED BMP-2 AND ODONTOBLAST DIFFERENTIATION. *J Dent Res*.; 89(6): 603-8; 2010.
- 50) Cehreli ZC, Isbitiren B, Sara S, Erbas G. REGENERATIVE ENDODONTIC TREATMENT (REVASCULARIZATION) OF IMMATURE NECROTIC MOLARS MEDICATED WITH CALCIUM HYDROXIDE: A CASE SERIES. *J Endod*; 37(9):1327–30; 2011.
- 51) Chaussain C, Eapen AS, Huet E. MMP2-CLEAVAGE OF DMP1 GENERATES A BIOACTIVE PEPTIDE PROMOTING DIFFERENTIATION OF DENTAL PULP STEM/PROGENITOR CELL. *Eur Cell Mater*; 18:84–95; 2009.

- 52) Chen MY, Chen KL, Chen CA, Tayebaty F, Rosenberg PA, Lin LM. RESPONSES OF IMMATURE PERMANENT TEETH WITH INFECTED NECROTIC PULP TISSUE AND APICAL PERIODONTITIS/ABSCESS TO REVASCULARIZATION PROCEDURES. *Int Endod J.*; 45(3):294–305; 2012.
- 53) Chueh L, Ho Y, Kuo T, Lai W, Chen Y, Chiang C. REGENERATIVE ENDODONTIC TREATMENT FOR NECROTIC IMMATURE PERMANENT TEETH. *J Endod*; 35:160–4; 2009.
- 54) Chueh L, Huang G. IMMATURE TEETH WITH PERIRADICULAR PERIODONTITIS OR ABSCESS UNDERGOING APEXOGENESIS: A PARADIGM SHIFT. *J Endod.* ; 32:1205–13; 2006.
- 55) Citrome GP, Kaminski EJ, Heuer MA. A COMPARATIVE STUDY OF TOOTH APEXIFICATION IN THE DOG. *J Endod*; 5:290–7; 1979.
- 56) Carol Abdulmesih T. REGENERACIÓN PULPAR. Odontólogo, Universidad Santa María. Especialista en Endodoncia, Universidad Central de Venezuela. 2010.
- 57) Clark RAF. THE MOLECULAR AND CELLULAR BIOLOGY OF WOUND REPAIR, 2nd edn. New York, NY: *Plenum Press*; 1996.
- 58) Cochran DL INFLAMMATION AND BONE LOSS IN PERIODONTAL DISEASE. *Journal of Periodontology*; 79, 1569–76; 2008.
- 59) Colwell AS, Longaker MT, Lorenz HP. FETAL WOUND HEALING. *Frontiers bioscience* 8, S1240–8; 2003.
- 60) Conboy IM, Conboy MJ, Wagers AJ et al. REJUVENATION OF AGED PROGENITOR CELLS BY EXPOSURE TO A YOUNG SYSTEMIC ENVIRONMENT. *Nature* 433, 760–4; 2005.
- 61) Alan S. Law, DDS, PhD. CONSIDERATIONS FOR A REGENERATIVE ENDODONTICS PROCEDURE. *American Association of Endodontists*; 2013. Available from: <http://www.aae.org/regeneration>.
- 62) Cooper PR, Takahashi Y, Graham LW, Simon S, Imazato S, Smith AJ. INFLAMMATION-REGENERATION INTERPLAY IN THE DENTINE-PULP COMPLEX. *J Dent.* ; 38(9):687–97; 2010.
- 63) Cordeiro MM, Dong Z, Kaneko T, Zhang Z, Miyazawa M, Shi S, Smith AJ, Nör JE. DENTAL PULP TISSUE ENGINEERING WITH STEM CELLS FROM EXFOLIATED DECIDUOUS TEETH. *J Endod*; 34:962–9. 20; 2008.

- 64) Cotti E, Mereu M, Lusso D. REGENERATIVE TREATMENT OF AN IMMATURE TRAUMATIZED TOOTH WITH APICAL PERIODONTITIS: REPORT OF A CASE. *Journal of Endodontics* 34, 611–6; 2008.
- 65) Cvek M, Cleaton-Jones P, Austin J et al. PULP REVASCULARIZATION IN REIMPLANTED MONKEY INCISORS – PREDICTABILITY AND THE EFFECT OF ANTIBIOTIC SYSTEMIC PROPHYLAXIS. *Endodontics and Dental Traumatology*; 6, 1567–9; 1990.
- 66) Cvek M. PROGNOSIS OF LUXATED NON-VITAL MAXILLARY INCISORS TREATED WITH CALCIUM HYDROXIDE AND FILLED WITH GUTTA PERCHA. *Endod. Dent Traumatol*; 8:45–55; 1992.
- 67) Cvek M. TREATMENT OF NON-VITAL PERMANENT INCISORS WITH CALCIUM HYDROXIDE: I. FOLLOW-UP OR PERIAPICAL REPAIR AND APICAL CLOSURE OF IMMATURE ROOTS. *Odontol Revy*; 23:27–44; 1972.
- 68) Rafter M. APEXIFICATION: A REVIEW. *Dent Traumatol*; 21:1–8; 2005.
- D**
- 69) Dahle’n G, Fabricius L, Heyden G, Holm SE, Mo’ller AJR. APICAL PERIODONTITIS INDUCED BY SELECTED BACTERIAL STRAINS IN ROOT CANALS OF IMMUNIZED AND NONIMMUNIZED MONKEYS. *Scand J Dent Res*; 90:207-16; 1982.
- 70) Dang C, Ting K, Soo C et al. (2003). FETAL WOUND HEALING, CURRENT PERSPECTIVES. *Clinical Plastic Surgery* 30, 13–23.
- 71) Dimitrios Tziafas, PhD, and Konstantinos Kodonas, DDS. DIFFERENTIATION POTENTIAL OF DENTAL PAPILLA, DENTAL PULP, AND APICAL PAPILLA PROGENITOR CELLS. *J Endod*; 36:781–789; 2010.
- 72) d’Aquino R, Graziano A, Sampaolesi M. HUMAN POSTNATAL DENTAL PULP CELLS CODIFFERENTIATE INTO OSTEOBLASTS AND ENDOTHELIOCYTES: A PIVOTAL SYNERGY LEADING TO ADULT BONE TISSUE FORMATION. *Cell Death Differ*; 14:1162–71; 2007.
- 73) da Silva L, Nelson-Filho P, da Silva R, Flores D, Heilborn C, Johnson J, Cohenca N. REVASCULARIZATION AND PERIAPICAL REPAIR AFTER ENDODONTIC TREATMENT USING APICAL NEGATIVE PRESSURE IRRIGATION VERSUS CONVENTIONAL IRRIGATION PLUS TRIANTIBIOTIC INTRACANAL DRESSING IN DOGS’ TEETH WITH APICAL PERIODONTITIS. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*; 109:779–87; 2010.

- 74) Debelian GJ, Eribe ER, Olsen I, Tronstad L. RIBOTYPING OF BACTERIA FROM ROOT CANAL AND BLOOD OF PATIENTS RECEIVING ENDODONTIC THERAPY. *Anaerobe*; 3:237-43; 1997.
- 75) Demarco FF, Casagrande L, Zhang Z, Dong Z, Tarquinio SB, Zeitlin BD, Shi S, Smith AJ, Nör JE. EFFECTS OF MORPHOGEN AND SCAFFOLD POROGEN ON THE DIFFERENTIATION OF DENTAL PULP STEM CELLS. *J Endod*; 36:1805–11; 2010.
- 76) Ding R, Cheung G, Chen J, Yin X, Wang Q, Zhang C. PULP REVASCULARIZATION OF IMMATURE TEETH WITH APICAL PERIODONTITIS: A CLINICAL STUDY. *J Endod.* ; 35:745–9; 2009.
- 77) Dobie K, Smith G, Sloan AJ, Smith AJ. EFFECTS OF ALGINATE HYDROGELS AND TGF-BETA 1 ON HUMAN DENTAL PULP REPAIR *IN VITRO*. *Connective Tissue Research* 43, 387–90; 2002.
- 78) Durand SH, Flacher V, Rome´as A et al. LIPOTEICHOIC ACID INCREASES TLR AND FUNCTIONAL CHEMOKINE EXPRESSION WHILE REDUCING DENTIN FORMATION IN *IN VITRO* DIFFERENTIATED HUMAN ODONTOBLASTS. *The Journal of Immunology* 176, 2880–7; 2006.
- 79) D’Souza RN, Aberg T, Gaikwad J, et al. CBFA1 IS REQUIRED FOR EPITHELIALMESENCHYMAL INTERACTIONS REGULATING TOOTH DEVELOPMENT IN MICE. *Development*; 126:2911–20; 1999.
- 80) Dvorakova J, Hrubá A, Velebný V, Kubala L. ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF MESENCHYMAL STEM CELL POPULATION ENTRAPPED IN BONE MARROW COLLECTION SETS. *Cell Biol Int*; 32:1116–25; 2008.

E

- 81) Eli Harlev¹, Eviatar Nevo¹, Ephraim P. Lansky¹, Rivka Ofir², Anupam Bishayee³. ANTICANCER POTENTIAL OF ALOES: ANTIOXIDANT, ANTIPROLIFERATIVE, AND IMMUNOSTIMULATORY ATTRIBUTES. *Planta Med.* Jun; 78 (9):843-52; 2012.
- 82) ENDODONTICS TERMS, AMERICAN ASSOCIATION OF ENDODONTISTS, P. 19 y 44; 2012.
- 83) England MC, Best E. NONINDUCED APICAL CLOSURE IN IMMATURE ROOTS OF DOGS’ TEETH. *J Endod*; 3:411–7; 1977.
- 84) Estrela C, Pe´cora JD, Souza-Neto MD, Estrela CR, Bammann LL. EFFECT OF VEHICLE ON ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF CALCIUM HYDROXIDE PASTES. *Brazilian Dental Journal* 10, 63–72; 1999.

E

- 85) Fabricius L, Dahle'n G, Holm SE, Mo'ller AJR. INFLUENCE OF COMBINATIONS OF ORAL BACTERIA ON PERIAPICAL TISSUES OF MONKEYS. *Scand J Dent Res*; 90:200-6; 1982.
- 86) Fabricius L, Dahle'n G, Ohman AE, Mo'ller AJR. PREDOMINANT INDIGENOUS ORAL BACTERIA ISOLATED FROM INFECTED ROOT CANALS AFTER VARIED TIMES OF CLOSURE. *Scand J Dent Res*; 90:134-44;1982.
- 87) Felipe WT, Felipe MC, Rocha MJ. THE EFFECT OF MINERAL TRIOXIDE AGGREGATE ON THE APEXIFICATION AND PERIAPICAL HEALING OF TEETH WITH INCOMPLETE ROOT FORMATION. *Int Endod J*; 39:2-9; 2006.
- 88) Feng JQ, Luan X, Wallace J, et al. GENOMIC ORGANIZATION, CHROMOSOMAL MAPPING, AND PROMOTER ANALYSIS OF THE MOUSE DENTIN SIALOPHOSPHOPROTEIN (DSPP) GENE, WHICH CODES FOR BOTH DENTIN SIALOPROTEIN AND DENTIN PHOSPHOPROTEIN. *J Biol Chem* 1998;273:9457-64.
- 89) Ferrara N, Bunting S. VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR, A SPECIFIC REGULATOR OF ANGIOGENESIS. *Curr Opin Nephrol Hypertens*; 5(1):35-44. 1996 [[PubMed](#)].
- 90) Ferrara N. MOLECULAR AND BIOLOGICAL PROPERTIES OF VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR. *J Mol Med*; 77:527-43; 1999.
- 91) Finlay BB, Falkow S. COMMON THEMES IN MICROBIAL PATHOGENICITY. *Microbiol Rev*; 53:210-30; 1989.
- 92) Finlay BB, Falkow S. COMMON THEMES IN MICROBIAL PATHOGENICITY REVISITED. *Microbiol Mol Biol Rev*; 61:136-69; 1997.
- 93) Fortier LA. STEM CELLS: CLASSIFICATIONS, CONTROVERSIES, AND CLINICAL APPLICATIONS. *Vet Surg*; 34:415-23; 2005.
- 94) Fouad AF. THE MICROBIAL CHALLENGE TO PULP REGENERATION. *Adv Dent Res*; 23(3):285-9; 2011. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)]
- 95) Frank J. Vertucci y James E. Haddix, VÍAS DE LA PULPA, 10ª Edición, Edit. Elsevier Mosby, España, P. 138-164; 2011.
- 96) Franklin Garcia-Godoy¹, Peter E. Murray². RECOMMENDATIONS FOR USING REGENERATIVE ENDODONTIC PROCEDURES IN PERMANENT IMMATURE TRAUMATIZED TEETH. *Dental Traumatology*; 28: 33-41; 2012.

- 97) Fredricks DN, Relman DA. SEQUENCE-BASED IDENTIFICATION OF MICROBIAL PATHOGENS: A RECONSIDERATION OF KOCH'S POSTULATES. *Clin Microbiol Rev*; 9:18-33; 1996.
- 98) Frias J, Olle E, Alsina M. PERIODONTAL PATHOGENS PRODUCE QUORUM SENSING SIGNAL MOLECULES. *Infect Immun*; 69:3431-4; 2001.

G

- 99) Gabay C, Lamacchia C, Palmer G. IL-1 PATHWAYS IN INFLAMMATION AND HUMAN DISEASES. *Nature Reviews Rheumatology* 6, 232–41; 2010.
- 100) Gage FH. MAMMALIAN NEURAL STEM CELLS. *Science*; 287:1433–8; 2000.
- 101) Galler KM, Aulisa L, Regan KR, D'Souza RN, Hartgerink JD. SELFASSEMBLING MULTIDOMAIN PEPTIDE HYDROGELS: DESIGNED SUSCEPTIBILITY TO ENZYMATIC CLEAVAGE ALLOWS ENHANCED CELL MIGRATION AND SPREADING. *J Am Chem Soc*; 132:3217–23; 2010.
- 102) Gardner RL. STEM CELLS: POTENCY, PLASTICITY AND PUBLIC PERCEPTION. *J Anat*; 200:277–82; 2002.
- 103) Gatti JJ, Dobeck JM, Smith C, White RR, Socransky SS, Skobe Z. BACTERIA OF ASYMPTOMATIC PERIRADICULAR ENDODONTIC LESIONS IDENTIFIED BY DNA-DNA HYBRIDIZATION. *Endod Dent Traumatol*; 16:197-204; 2000.
- 104) Gay IC, Chen S, MacDougall M. ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF MULTIPOTENT HUMAN PERIODONTAL LIGAMENT STEM CELLS. *Orthod Craniofac Res*; 10(3):149–60; 2007. [[PubMed](#)]
- 105) George A, Srinivasan RSR, Liu K, Veis A. RAT DENTIN MATRIX PROTEIN 3 IS A COMPOUND PROTEIN OF RAT DENTIN SIALOPROTEIN AND PHOSPHOPHORYN. *Connect Tissue Res*; 40:49–57; 1999.
- 106) George T., J. Huang. Review. A PARADIGM SHIFT IN ENDODONTIC MANAGEMENT OF IMMATURE TEETH: CONSERVATION OF STEM CELLS FOR REGENERATION. *Journal of dentistry*; 36 379 – 386; 2008.
- 107) Gerald N. Glickman y Merlyn W. Vogt, VÍAS DE LA PULPA, 10ª Edición, Edit. Elsevier Mosby, España, P. 109; 2011.
- 108) Gimble J, Guilak F. ADIPOSE-DERIVED ADULT STEM CELLS: ISOLATION, CHARACTERIZATION, AND DIFFERENTIATION POTENTIAL. *Cytotherapy* 2003;5: 362–9.

- 109) Glass RL, Zander HA. PULP HEALING. *Journal of Dental Research*; 28, 97–107; 1949.
- 110) Goldberg M, Farges JC, Lacerda-Pinheiro S et al. INFLAMMATORY AND IMMUNOLOGICAL ASPECTS OF DENTAL PULP REPAIR. *Pharmacological Research* 58, 137–47; 2008.
- 111) Goldberg M, Six N, Decup F, et al. APPLICATION OF BIOACTIVE MOLECULES IN PULPCAPPING SITUATIONS. *Adv Dent Res*; 15:91–5; 2001.
- 112) Goldberg M, Smith AJ. CELLS AND EXTRACELLULAR MATRICES OF DENTIN AND PULP: A BIOLOGICAL BASIS FOR REPAIR AND TISSUE ENGINEERING. *Crit Rev Oral Biol Med*; 15:13–27; 2004.
- 113) Gomes BPFA, Lilley JD, Drucker DB. CLINICAL SIGNIFICANCE OF DENTAL ROOT CANAL MICROFLORA. *J Dent*; 24:47-55; 1996.
- 114) Gonçalves RB, Mouton C. MOLECULAR DETECTION OF *BACTEROIDES FORSYTHUS* IN INFECTED ROOT CANALS. *J Endod*; 25:336-40; 1999.
- 115) Graham L, Cooper PR, Cassidy N, Nor JE, Sloan AJ, Smith AJ. THE EFFECT OF CALCIUM HYDROXIDE ON SOLUBILISATION OF BIO-ACTIVE DENTINE MATRIX COMPONENTS. *Biomaterials*; 27(14):2865–73; 2006.
- 116) Graham Rex Holland y Mahmoud Torabinejad, ENDODONCIA PRINCIPIOS Y PRÁCTICA, 4ª Edición, Edit. *Elsevier Saunders*, Barcelona España, P. 1 y 2; 2010.
- 117) Gray KM. Intercellular communication and group behavior in bacteria. *Trends Microbiol*; 5:184-8; 1997.
- 118) Griffen AL, Lyons SR, Becker MR, Moeschberger ML, Leys EJ. PORPHYROMONAS GINGIVALIS STRAIN VARIABILITY AND PERIODONTITIS. *J Clin Microbiol*; 37:4028-33; 1999.
- 119) Griffie MB, Patterson SS, Miller CH, Kafrawy AH, Newton CW. THE RELATIONSHIP OF *BACTEROIDES MELANINOGENICUS* TO SYMPTOMS ASSOCIATED WITH PULPAL NECROSIS. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*; 50:457-61; 1980.
- 120) Gronthos S, Brahimi J, Li W, Fisher LW, Cherman N, Boyde A, DenBesten P, Robey PG, Shi S. STEM CELL PROPERTIES OF HUMAN DENTAL PULP STEM CELLS. *J Dent Res*; 81(8):531–5; 2002. [\[PubMed\]](#)

- 121) Gronthos S, Mankani M, Brahimi J, Robey PG, Shi S. POSTNATAL HUMAN DENTAL PULP STEM CELLS (DPSCS) *IN VITRO* AND *IN VIVO*. *Proc Natl Acad Sci USA*; 97: 13625–30; 2000.
- 122) G. T.-J. Huang. REVIEW APEXIFICATION: THE BEGINNING OF ITS END. *International Endodontic Journal*; 44, 889–906, 889; 2011.

H

- 123) Haapasalo M, Ranta H, Ranta K, Shah H. BLACK-PIGMENTED *BACTEROIDES* SPP IN HUMAN APICAL PERIODONTITIS. *Infect Immun*; 53:149-53; 1986.
- 124) Hachmeister DR, Schindler WG, Walker WA 3rd, Thomas DD. THE SEALING ABILITY AND RETENTION CHARACTERISTICS OF MINERAL TRIOXIDE AGGREGATE IN A MODEL OF APEXIFICATION. *J Endod*; 28:386–90; 2002.
- 125) Hao J, Zou B, Narayanan K, George A. DIFFERENTIAL EXPRESSION PATTERNS OF THE DENTIN MATRIX PROTEINS DURING MINERALIZED TISSUE FORMATION. *Bone*; 34: 921–32; 2004.
- 126) Happonen R-P. PERIAPICAL ACTINOMYCOSIS: A FOLLOW-UP STUDY OF 16 SURGICALLY TREATED CASES. *Endod Dent Traumatol*; 2: 205-9; 1986.
- 127) Hargreaves K, Geisler T, Henry M, Wang Y. REGENERATION POTENTIAL OF THE YOUNG PERMANENT TOOTH: WHAT DOES THE FUTURE HOLD. *J Endod*; 34:S51–6; 2008. [[PubMed](#)].
- 128) Hargreaves KM, Diogenes A, Teixeira FB. TREATMENT OPTIONS: BIOLOGICAL BASIS OF REGENERATIVE ENDODONTIC PROCEDURES. *J Endod*; 39(3 Suppl):S30–43; 2013. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)].
- 129) Hargreaves KM, Geisler T, Henry M, Wang Y. REGENERATION POTENTIAL OF THE YOUNG PERMANENT TOOTH: WHAT DOES THE FUTURE HOLD?. *J Endod*; 34:51–6; 2008.
- 130) Hashimura T, Sato M, Hoshino E. DETECTION OF *SLACKIA EXIGUA*, *MOGIBACTERIUM TIMIDUM* AND *EUBACTERIUM SAPHENUM* FROM PULPAL AND PERIRADICULAR SAMPLES USING THE POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) METHOD. *Int Endod J*; 34:463-70; 2001.
- 131) Hashioka K, Suzuki K, Yoshida T, Nakane A, Horiba N, Nakamura H. RELATIONSHIP BETWEEN CLINICAL SYMPTOMS AND ENZYME- PRODUCING BACTERIA ISOLATED FROM INFECTED ROOT CANALS. *J Endod*; 20:75-7; 1994.

- 132) Hayashi Y. ULTRASTRUCTURE OF CEMENTUM FORMATION ON PARTIALLY FORMED TEETH IN DOGS. *Acta Anat (Basel)*; 129:279–88; 1987.
- 133) Hayflick L, Moorhead PS. THE SERIAL CULTIVATION OF HUMAN DIPLOID CELL STRAINS. *Experimental Cell Research* 25, 585–621; 1961.
- 134) Hayward CMM, Griffin GE. ANTIBIOTIC RESISTANCE: THE CURRENT POSITION AND THE MOLECULAR MECHANISMS INVOLVED. *Br J Hosp Med*; 52:473-8; 1994.
- 135) Hecht DW, Vedantam G, Osmolski JR. ANTIBIOTIC RESISTANCE AMONG ANAEROBES: WHAT DOES IT MEAN?. *Anaerobe*; 5:421-9; 1999.
- 136) Heeg K, Sparwasser T, Lipford GB, Hacker H, Zimmermann S, Wagner H. BACTERIAL DNA AS AN EVOLUTIONARY CONSERVED LIGAND SIGNALLING DANGER OF INFECTION TO IMMUNE CELLS. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*; 17:464-9; 1998.
- 137) He H, Yu J, Liu Y, Lu S, Liu H, Shi J, Jin Y. EFFECTS OF FGF2 AND TGF β 1 ON THE DIFFERENTIATION OF HUMAN DENTAL PULP STEM CELLS *IN VITRO*. *Cell Biol Int*; 32(7):827–34; 2008 [[PubMed](#)].
- 138) Heithersay GS. CALCIUM HYDROXIDE IN THE TREATMENT OF PULPLESS TEETH WITH ASSOCIATED PATHOLOGY. *Journal of the British Endodontic Society* 8, 74–93; 1975.
- 139) Henderson B, Poole S, Wilson M. BACTERIAL MODULINS: A NOVEL CLASS OF VIRULENCE FACTORS WHICH CAUSE HOST TISSUE PATHOLOGY BY INDUCING CYTOKINE SYNTHESIS. *Microbiol Rev*; 60:316-41; 1996.
- 140) Heritier M, Dangleterre M, Bailliez Y. ULTRASTRUCTURE OF A NEW GENERATION OF ODONTOBLASTS IN GRAFTED CORONAL TISSUES OF MOUSE MOLAR TOOTH GERMS. *Arch Oral Biol*; 34:875–83; 1989.
- 141) Hermann B. EIN WEITERER BEITRAG ZUR FRAGE DER PULPENBEHANDLUNG. *Zahna“rztliche Rundschau* 37, 1327–76; 1928.
- 142) Ho AD, Wagner W, Mahlknecht U. STEM CELL AND AGEING. *EBMO Reports* 6, S1, S35–8; 2005.
- 143) Hoffman RL. TISSUE ALTERATIONS IN INTRAMUSCULARLY TRANSPLANTED DEVELOPING MOLARS. *Arch Oral Biol*; 12:713–20; 1967.

- 144) Holden D, Schwartz S, Kirkpatrick T, Schindler W. CLINICAL OUTCOMES OF ARTIFICIAL ROOT-END BARRIERS WITH MINERAL TRIOXIDE AGGREGATE IN TEETH WITH IMMATURE APICES. *J Endod.* ; 34:812–17; 2008 [[PubMed](#)].
- 145) Horiba N, Maekawa Y, Abe Y, Ito M, Matsumoto T, Nakamura H. CORRELATIONS BETWEEN ENDOTOXIN AND CLINICAL SYMPTOMS OR RADIOLUCENT AREAS IN INFECTED ROOT CANALS. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*; 71:492-5; 1991.
- 146) Hoshino E, Kurihara-Ando N, Sato I, Uematsu H, Sato M, Kota K, Iwaku M. IN-VITRO ANTIBACTERIAL SUSCEPTIBILITY OF BACTERIA TAKEN FROM INFECTED ROOT DENTINE TO A MIXTURE OF CIPROFLOXACIN, METRONIDAZOLE AND MINOCYCLINE. *Int Endod J*; 29:125–30; 1996 ([PubMed](#)).
- 147) Høsted-Bindslev P, LØVSCHALL G TREATMENT OUTCOME OF VITAL PULP TREATMENT. *Endodontic Topics*; 2, 24–34; 2002.
- 148) Horsted P, Sandergaard B, Thylstrup A, El Attar K, Fejerskov O. A RETROSPECTIVE STUDY OF DIRECT PULP CAPPING WITH CALCIUM HYDROXIDE COMPOUNDS. *Endod Dent Traumatol*; 1:29–34; 1985.
- 149) Huang GT, Shagramanova K, Chan SW. FORMATION OF ODONTOBLAST-LIKE CELLS FROM CULTURED HUMAN DENTAL PULP CELLS ON DENTIN *IN VITRO*. *J Endod*; 32(11):1066–73; 2006.[[PubMed](#)]
- 150) Huang GT, Sonoyama W, Chen J, Park SH. *IN VITRO* CHARACTERIZATION OF HUMAN DENTAL PULP CELLS: VARIOUS ISOLATION METHODS AND CULTURING ENVIRONMENTS. *Cell Tissue Res*; 324(2):225–36; 2006. [[PubMed](#)]
- 151) Huang GT, Sonoyama W, Liu Y, Liu H, Wang S, Shi S. THE HIDDEN TREASURE IN APICAL PAPILLA: THE POTENTIAL ROLE IN PULP/DENTIN REGENERATION AND BIOROOT ENGINEERING. *J Endod*; 34:645–51; 2008.
- 152) Huang G, Yamaza T, Shea LD, et al. STEM/PROGENITOR CELL-MEDIATED DE NOVO REGENERATION OF DENTAL PULP WITH NEWLY DEPOSITED CONTINUOUS LAYER OF DENTIN IN AN *IN VIVO* MODEL. *Tissue Eng Part A*; 16:605–15; 2010.
- 153) Hu, C. C., Zhang, C., Qian, Q., & Tatum, N. B. REPARATIVE DENTIN FORMATION IN RAT MOLARS AFTER DIRECT PULP CAPPING WITH GROWTH FACTORS. *J Endod*, 1998; 24(11), 744-751.
- 154) Hunter W. ORAL SEPSIS AS A CAUSE OF DISEASE. *Brit Med J*;2:215-6; 1900.

- 155) Huojia M, Muraoka N, Yoshizaki K et al. TGF-BETA3 INDUCES ECTOPIC MINERALIZATION IN FETAL MOUSE DENTAL PULP DURING TOOTH GERM DEVELOPMENT. *Development, Growth & Differentiation* 47, 141–52; 2005.*****
!
- 156) Iacob S, Veis A. IDENTIFICATION OF TEMPORAL AND SPATIAL EXPRESSION PATTERNS OF AMELOGENIN ISOFORMS DURING MOUSE MOLAR DEVELOPMENT. *Eur J Oral Sci*; 114(Suppl 1):194–202; 2006.
- 157) Ikeda E, Hirose M, Kotobuki N, et al. OSTEOGENIC DIFFERENTIATION OF HUMAN DENTAL PAPILLA MESENCHYMAL CELLS. *Biochem Biophys Res Commun*; 342:1257 62; 2006.
- 158) Ingle JI, Bakland LK, Baumgartner JC. INGLE’S ENDODONTICS, 6th edn. *Hamilton, ON: BC Decker*; 2008.
- 159) Inoue T, Shimono M. REPAIR DENTINOGENESIS FOLLOWING TRANSPLANTATION INTO NORMAL AND GERM-FREE ANIMALS. *Proc Finn Dent Soc.*; 88(Suppl 1):183–94; 1992.
- 160) Iohara K, Imabayashi K, Ishizaka R, Watanabe A, Nabekura J, Ito M, Matsushita K, Nakamura H, Nakashima M. COMPLETE PULP REGENERATION AFTER PULPECTOMY BY TRANSPLANTATION OF CD105+ STEM CELLS WITH STROMAL CELL-DERIVED FACTOR-1. *Tissue Eng Part A.*; 17(15-16):1911–20; 2011. [[PubMed](#)]
- 161) Iohara K, Nakashima M, Ito M, Ishikawa M, Nakasima A, Akamine A. DENTIN REGENERATION BY DENTAL PULP STEM CELL THERAPY WITH RECOMBINANT HUMAN BONE MORPHOGENETIC PROTEIN 2. *J Dent Res*; 83:590–5; 2004.
- 162) Iohara K, Zheng L, Ito M, Tomokiyo A, Matsushita K, Nakashima M. SIDE POPULATION CELLS ISOLATED FROM PORCINE DENTAL PULP TISSUE WITH SELF-RENEWAL AND MULTIPOTENCY FOR DENTINOGENESIS, CHONDROGENESIS, ADIPOGENESIS, AND NEUROGENESIS. *Stem Cells*; 24:2493–503; 2006.
- 163) Isaka J, Ohazama A, Kobayashi M, Nagashima C, Takiguchi T, Kawasaki H, Tachikawa T, Hasegawa K. PARTICIPATION OF PERIODONTAL LIGAMENT CELLS WITH REGENERATION OF ALVEOLAR BONE. *J Periodontol.* ; 72(3):314–23; 2001. [[PubMed](#)]
- 164) Ishizaka R, Iohara K, Murakami M, et al. REGENERATION OF DENTAL PULP FOLLOWING PULPECTOMY BY FRACTIONATED STEM/PROGENITOR CELLS FROM BONE MARROW AND ADIPOSE TISSUE. *Biomaterials*; 33:2109–18; 2012.

- 165) Iwaya S, Ikawa M, Kubota M. REVASCULARIZATION OF AN IMMATURE PERMANENT TOOTH WITH APICAL PERIODONTITIS AND SINUS TRACT. *Dent Traumatol*; 17:185–7; 2001. [[PubMed](#)]
- 166) Iwu C, Macfarlane TW, Mackenzie D, Stenhouse D. THE MICROBIOLOGY OF PERIAPICAL GRANULOMAS. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*; 69:502-5; 1990.
- J**
- 167) Jadhav G, Shah N, Logani A. REVASCULARIZATION WITH AND WITHOUT PLATELET-RICH PLASMA IN NONVITAL, IMMATURE, ANTERIOR TEETH: A PILOT CLINICAL STUDY. *J Endod.* ; 38(12):1581–7; 2012.[[PubMed](#)]
- 168) Jalkanen M, Nguyen H, Rapraeger A, Kurn N, Bernfield M. HEPARAN SULFATE PROTEOGLYCANS FROM MOUSE MAMMARY EPITHELIAL CELLS: LOCALIZATION ON THE CELL SURFACE WITH A MONOCLONAL ANTIBODY. *J Cell Biol*; 101:976–84; 1985.
- 169) Jan Lindhe, Thorkild Karing y Maurício Araújo, PERIODONTOLOGÍA CLÍNICA E IMPLANTOLOGÍA ODONTOLÓGIC, 4ª Edición, Edit. *Médica Panamericana*. P. 27-34; 2011.
- 170) Jeeruphan T, Jantararat J, Yanpiset K, Suwannapan L, Khewsawai P, Hargreaves KM. MAHIDOL STUDY 1: COMPARISON OF RADIOGRAPHIC AND SURVIVAL OUTCOMES OF IMMATURE TEETH TREATED WITH EITHER REGENERATIVE ENDODONTIC OR APEXIFICATION METHODS: A RETROSPECTIVE STUDY. *J Endod*; 38(10):1330 6; 2012. [[PubMed](#)]
- 171) Jernvall J, Thesleff I. REITERATIVE SIGNALING AND PATTERNING DURING MAMMALIAN TOOTH MORPHOGENESIS. *Mech Dev*; 92:19–29; 2000.
- 172) Jettanacheawchankit, S., Sasithanasate, S., Sangvanich, P., Banlunara, W., & Thunyakitpisal, P. ACEMANNAN STIMULATES GINGIVAL FIBROBLAST PROLIFERATION; EXPRESSIONS OF KERATINOCYTE GROWTH FACTOR-1, VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR, AND TYPE I COLLAGEN; AND WOUND HEALING. *J Pharmacol Sci*; 109(4), 525-531; 2009.
- 173) Jittapiromsak, N., Jettanacheawchankit, S., Lardungdee, P., Sangvanich, P., & Thunyakitpisal, P. EFFECT OF ACEMANNAN ON BMP-2 EXPRESSION IN PRIMARY PULPAL FIBROBLASTS AND PERIODONTAL FIBROBLASTS, *IN VITRO* STUDY. *J Oral Tissue Engin*; 4(3), 149-154; 2007.
- 174) Jittapiromsak, N., Sahawat, D., Banlunara, W., Sangvanich, P., & Thunyakitpisal, P. ACEMANNAN, AN EXTRACTED PRODUCT FROM ALOE VERA, STIMULATES

DENTAL PULP CELLPROLIFERATION, DIFFERENTIATION, MINERALIZATION, AND DENTIN FORMATION. *Tissue Eng Part A*; 16(6), 1997-2006; 2010.

- 175) Jo~ao Eduardo Gomes-Filho, PhD,* Paulo Carvalho Tobias Duarte, PhD,* Edilson Ervolino, PhD, † Suely Regina Mogami Bomfim, PhD, ‡ Caio Jose Xavier Abimussi, MSc,‡ Ludmilla Mota da Silva Santos, MSc,* Carolina Simonetti Lodi, PhD,* Sandra Helena Penha De Oliveira, PhD,† Eloi Dezan, Jr, PhD,* and Luciano Tavares Angelo Cintra, PhD*. HISTOLOGIC CHARACTERIZATION OF ENGINEERED TISSUES IN THE CANAL SPACE OF CLOSED-APEX TEETH WITH APICAL PERIODONTITIS. *J Endod*; 39:1549–1556; 2013.
- 176) Jones PH, Watt FM. SEPARATION OF HUMAN EPIDERMAL STEM CELLS FROM TRANSIT AMPLIFYING CELLS ON THE BASIS OF DIFFERENCES IN INTEGRIN FUNCTION AND EXPRESSION. *Cell*; 73:713–24; 1993.
- 177) José F. Siqueira, Jr, DDS, MSc, PhD. ENDODONTIC INFECTIONS: CONCEPTS, PARADIGMS, AND PERSPECTIVES. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*; 94:281-93; 2002.
- 178) Julio Barrancos Mooney y Jorge Frydman, OPERATORIA DENTAL, 4ª Edición, Edit. Panamericana, Buenos Aires. P. 261-263; 2006.
- 179) Jung I-Y, Choi B-K, Kum K-Y, Yoo Y-J, Yoon T-C, Lee S-J, et al. IDENTIFICATION OF ORAL SPIROCHETES AT THE SPECIES LEVEL AND THEIR ASSOCIATION WITH OTHER BACTERIA IN ENDODONTIC INFECTIONS. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*; 92: 329-34; 2001.
- 180) Jung I-Y, Lee S-J, Hargreaves KM. BIOLOGICALLY BASED TREATMENT OF IMMATURE PERMANENT TEETH WITH PULPAL NECROSIS: A CASE SERIES. *Journal of Endodontics* 34, 876–887; 2008.

K

- 181) Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. THE EFFECTS OF SURGICAL EXPOSURES OF DENTAL PULPS IN GERM-FREE AND CONVENTIONAL LABORATORY RATS. *Oral Surgery, Oral Medicine, and Oral Pathology* 20, 340–9; 1965.
- 182) Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. THE EFFECTS OF SURGICAL EXPOSURES OF DENTAL PULPS IN GERM-FREE AND CONVENTIONAL LABORATORY RATS. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*; 18:340-8; 1965.

- 183) Kakoli P, Nandakumar R, Romberg E, Arola D, Fouad AF. THE EFFECT OF AGE ON BACTERIAL PENETRATION OF RADICULAR DENTIN. *J Endod*; 35(1):78–81; 2009. [[PMC free article](#)][[PubMed](#)]
- 184) Keijo Luukko, Päivi Kettunen, Inge Fristad y Ellen Berggreen*, VÍAS DE LA PULPA, 10ª Edición, Edit. *Elsevier Mosby*, España. P. 458-461 y 473-478; 2011.
- 185) Kerkis I, Ambrosio CE, Kerkis A, Martins DS, Zucconi E, Fonseca SA, Cabral RM, Maranduba, CM, Gaiad, TP, Morini AC, Vieira NM, Brolio, MP, Sant'anna OA, Miglino, MA, Zatz, M. EARLY TRANSPLANTATION OF HUMAN IMMATURE DENTAL PULP STEM CELLS FROM BABY TEETH TO GOLDEN RETRIEVER MUSCULAR DYSTROPHY (GRMD) DOGS: LOCAL OR SYSTEMIC?. *J Transl Med*; 3:35; 2008.
- 186) Kettering JD, Torabinejad M, Jones SL. SPECIFICITY OF ANTIBODIES PRESENT IN HUMAN PERIAPICAL LESIONS. *J Endod*; 17:213-6; 1991.
- 187) Kettunen P, Laurikkala J, Itä-ranta P, Vainio S, Itoh N, Thesleff I. ASSOCIATIONS OF FGF-3 AND FGF-10 WITH SIGNALING NETWORKS REGULATING TOOTH MORPHOGENESIS. *Developmental Dynamics* 219, 322–32; (2000).
- 188) Khan AA, Sun X, Hargreaves KM. EFFECT OF CALCIUM HYDROXIDE ON PROINFLAMMATORY CYTOKINES AND NEUROPEPTIDES. *Journal of Endodontics* 34, 1360–3; 2008.
- 189) Kim J, Kim Y, Shin S, Park J, Jung I. TOOTH DISCOLORATION OF IMMATURE PERMANENT INCISOR ASSOCIATED WITH TRIPLE ANTIBIOTIC THERAPY: A CASE REPORT. *J Endod*. 2010; 36:1Finlay BB, Falkow S. Common themes in microbial pathogenicity. *Microbiol Rev*; 53:210-30; 1989.
- 190) Kim JY, Xin X, Moiola EK, Chung J, Lee CH, Chen M, Fu SY, Koch PD, Mao JJ. REGENERATION OF DENTAL-PULP-LIKE TISSUE BY CHEMOTAXIS-INDUCED CELL HOMING. *Tissue Eng Part A*; 16(10):3023–31; 2010. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)].
- 191) Kim YS, Min KS, Jeong DH, Jang JH, Kim HW, Kim EC. EFFECTS OF FIBROBLAST GROWTH FACTOR-2 ON THE EXPRESSION AND REGULATION OF CHEMOKINES IN HUMAN DENTAL PULP CELLS. *Journal of Endodontics* 36, 1824–30; 2010.
- 192) Kling M, Cvek M, Mejáre I. RATE AND PREDICTABILITY OF PULP REVASCULARIZATION IN THERAPEUTICALLY REIMPLANTED PERMANENT INCISORS. *Endod Dent Traumatol*; 2:83–89; 1986.

- 193) Kolenbrander PE. ENVIRONMENTAL SENSING MECHANISMS AND VIRULENCE FACTORS OF BACTERIAL PATHOGENS. In: Collier L, Balows A, Sussman M (editors). *Topley & Wilson's microbiology and microbial infections* (vol 2, Systematic bacteriology). 9th ed. London: Arnold; p. 307-26.086–91; 1998. [PubMed](#)
- 194) Kolf CM, Cho E, Tuan RS. BIOLOGY OF ADULT MESENCHYMAL STEM CELLS: REGULATION OF NICHE, SELF-RENEWAL AND DIFFERENTIATION. *Arthritis Research and Therapy* 9, 204; 2009.
- 195) Kovacevic M, Tamarut T, Jonjic N et al. THE TRANSITION FROM PULPITIS TO PERIAPICAL PERIODONTITIS IN DOG'S TEETH. *Australian Endodontic Journal* 34, 12–8; 2008.
- 196) Kratochwil K, Dull M, Farinas I, Galceran J, Grosschedl R. LEF1 EXPRESSION IS ACTIVATED BY BMP-4 AND REGULATES INDUCTIVE TISSUE INTERACTIONS IN TOOTH AND HAIR DEVELOPMENT. *Genes Dev*; 10:1382–94; 1996.
- 197) Kulesz-Martin MF, Fabian D, Bertram JS. DIFFERENTIAL CALCIUM REQUIREMENTS FOR GROWTH OF MOUSE SKIN EPITHELIAL AND FIBROBLAST CELLS. *Cell and Tissue Kinetics* 17, 523–33; 1984.
- 198) Kumar V, Abbas AK, Fausto N et al. ROBBINS AND COTRAN PATHOLOGIC BASIS OF DISEASE, 8th edn. Philadelphia, PA:Saunders; 2009.
- 199) Kwon SM, Kim SA, Yoon JH, Ahn SG. TRANSFORMING GROWTH FACTOR BETA1-INDUCED HEAT SHOCK PROTEIN 27 ACTIVATION PROMOTES MIGRATION OF MOUSE DENTAL PAPILLA-DERIVED MDPC-23 CELLS. *J Endod*; 36(8):1332 5; 2010. [PubMed](#)
- L**
- 200) Laino G, Carinci F, Graziano A, et al. *IN VITRO* BONE PRODUCTION USING STEM CELLS DERIVED FROM HUMAN DENTAL PULP. *J Craniofac Surg* 2006;17:511–5.
- 201) Langer R, Vacanti JP. TISSUE ENGINEERING. *Science*; 260:920–6; 1993.
- 202) Lansdown AB. CALCIUM: A POTENTIAL CENTRAL REGULATOR IN WOUND HEALING IN THE SKIN. *Wound Repair and Regeneration* 10, 271–85; 2002.
- 203) LAUREYS W, BEELE H, CORNELISSEN R, DERMAUT L. REVASCULARIZATION AFTER CRYOPRESERVATION AND AUTOTRANSPLANTATION OF IMMATURE AND MATURE APICOECTOMIZED TEETH. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*;119:346–52; 2001.

- 204) Lardungdee, P., Asvanit, P., & Thunyakitpisal, P. EFFECT OF ACEMANNAN ON THE DENTINSIALOPHOSPHOPROTEIN AND DENTIN MATRIX PROTEIN 1 MRNA EXPRESSIONS IN PRIMARY HUMAN PULPAL CELLS. *CU Dent J*; 31, 407-414; 2008.
- 205) Lasala Angel. Diagnóstico y selección de casos. ENDODONCIA 3a Edición. Editorial *Salvat*. Barcelona España. Pág. 115; 1988.
- 206) Lazazzera BA. QUORUM SENSING AND STARVATION: SIGNALS FOR ENTRY INTO STATIONARY PHASE. *Curr Opin Microbiol*; 3:177-82; 2000.
- 207) Lea Assed Bezerra da Silva, DDS, PhD,a Paulo Nelson-Filho, DDS, PhD,a Raquel Assed Bezerra da Silva, DDS, PhD,a Daniel Silva Herzog Flores, DDS,a Carlos Heilborn, DDS,b,c James D. Johnson, DDS, MS,b and Nestor Cohenca, DDS,b. REVASCULARIZATION AND PERIAPICAL REPAIR AFTER ENDODONTIC TREATMENT USING APICAL NEGATIVE PRESSURE IRRIGATION VERSUS CONVENTIONAL IRRIGATION PLUS TRIANTIBIOTIC INTRACANAL DRESSING IN DOGS' TEETH WITH APICAL PERIODONTITIS. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*; 109:779-787; 2010.
- 208) Le Douarin NM, Kalcheim C. THE NEURAL CREST. 2nd ed. New York: Cambridge University Press; 1999.
- 209) Lee SK, Hu JC, Lee KE, Simmer JP, Kim JW. A DENTIN SIALOPHOSPHOPROTEIN MUTATION THAT PARTIALLY DISRUPTS A SPLICE ACCEPTOR SITE CAUSES TYPE II DENTIN DYSPLASIA. *J Endod*; 34:1470-3; 2008.
- 210) Le Goff A, Bunetel L, Mouton C, Bonnaure-Mallet M. EVALUATION OF ROOT CANAL BACTERIA AND THEIR ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY IN TEETH WITH NECROTIC PULP. *Oral Microbiol Immunol*; 12: 318-22; 1997.
- 211) Lenherr P, Allgayer N, Weiger R, Filippi A, Attin T, Krastl G. TOOTH DISCOLORATION INDUCED BY ENDODONTIC MATERIALS: A LABORATORY STUDY. *Int Endod J*; 45(10):942-9; 2012. [[PubMed](#)]
- 212) Lenzi R, Trope M. REVITALIZATION PROCEDURES IN TWO TRAUMATIZED INCISORS WITH DIFFERENT BIOLOGICAL OUTCOMES. *J Endod*; 38(3):411-4; 2012. [[PubMed](#)]
- 213) Lesot H, beguekirn C, Kubler MD et al. EXPERIMENTAL INDUCTION OF ODONTOBLAST DIFFERENTIATION AND STIMULATION DURING REPARATIVE PROCESSES. *Cells & Materials* 3, 201-17; 1993.

- 214) Lesot H, Smith AJ, Meyer JM, Staubli A, Ruch JV. CELL-MATRIX INTERACTIONS: INFLUENCE OF NONCOLLAGENOUS PROTEINS FROM DENTIN ON CULTURED DENTAL CELLS. *J Embryol Exp Morphol*; 96:195–209; 1986.
- 215) Liang RF, Nishimura S, Sato S. EFFECTS OF EPIDERMAL GROWTH FACTOR AND TRANSFORMING GROWTH FACTOR-BETA ON INSULIN-INDUCED DIFFERENTIATION IN RAT DENTAL PULP CELLS. *Arch Oral Biol.*; 37(10):789–95; 1992. [[PubMed](#)]
- 216) Lindroos B, Maenpaa K, Ylikomi T, Oja H, Suuronen R, Miettinen S. CHARACTERISATION OF HUMAN DENTAL STEM CELLS AND BUCCAL MUCOSA FIBROBLASTS. *Biochem Biophys Res Commun*; 368(2):329–35; 2008. [[PubMed](#)]
- 217) Lin LM, Shovli F, Skribner J, Langeland K. PULP BIOPSIES FROM TEETH ASSOCIATED WITH PERIAPICAL RADIOLUCENCY. *Journal of Endodontics* 10, 436–48; 1984.
- 218) Lin ZM, Qin W, Zhang NH, Xiao L, Ling JQ. ADENOVIRUS- MEDIATED RECOMBINANT HUMAN BONE MORPHOGENETIC PROTEIN-7 EXPRESSION PROMOTES DIFFERENTIATION OF HUMAN DENTAL PULP CELLS. *Journal of Endodontics* 33, 930–5; 2007.
- 219) Li X, Kolltveit KM, Tronstad L, Olsen I. SYSTEMIC DISEASES CAUSED BY ORAL INFECTION. *Clin Microbiol Rev*; 13:547-58; 2000.
- 220) L. M. Lin & P. A. Rosenberg. REVIEW. REPAIR AND REGENERATION IN ENDODONTICS. *International Endodontic Journal*, 44, 889–906, 2011.
- 221) Louis H. Berman y Gary R. Hartwell, VÍAS DE LA PULPA, 10ª Edición, Edit. Elsevier Mosby, España. P. 4; 2011.
- 222) Lovelace TW, Henry MA, Hargreaves KM, Diogenes A. EVALUATION OF THE DELIVERY OF MESENCHYMAL STEM CELLS INTO THE ROOT CANAL SPACE OF NECROTIC IMMATURE TEETH AFTER CLINICAL REGENERATIVE ENDODONTIC PROCEDURE. *J Endod*; 37(2):133–8; 2011. [[PubMed](#)]
- 223) Luciano Casagrande, Mabel M. Cordeiro, Silvia A. Nör y Jacques E. Nör. DENTAL PULP STEM CELLS IN REGENERATIVE DENTISTRY. *Odontology* 99:1–7 DOI 10.1007/s10266-010-0154-z. © The Society of The Nippon Dental University 2011.
- 224) Louis M. Lin y George T-J Huang, VÍAS DE LA PULPA, 10ª Edición, Edit. Elsevier Mosby, España. P. 530; 2011.

- 225) Lu Y, Liu T, Li X, Li H, Pi G. HISTOLOGIC EVALUATION OF DIRECT PULP CAPPING WITH A SELFETCHING ADHESIVE AND CALCIUM HYDROXIDE IN BEAGLES. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*; 102:e78–84; 2006.
- 226) Lyaruu DM, van Croonenburg EJ, van Duin MA, Bervoets TJ, Woltgens JH, de Blicke-Hogervorst JM. DEVELOPMENT OF TRANSPLANTED PULP TISSUE CONTAINING EPITHELIAL SHEATH INTO A TOOTH-LIKE STRUCTURE. *J Oral Pathol Med*; 28: 293–6; 1999.

M

- 227) MacDougall M, Thiemann F, Ta H, Hsu P, Chen LS, Snead ML. TEMPERATURE SENSITIVE SIMIAN VIRUS 40 LARGE T ANTIGEN IMMORTALIZATION OF MURINE ODONTOBLAST CELL CULTURES: ESTABLISHMENT OF CLONAL ODONTOBLAST CELL LINE. *Connect Tissue Res*; 33:97–103; 1995.
- 228) MacDougall M, Simmons D, Luan X, Nydegger J, Feng J, Gu TT. DENTIN PHOSPHOPROTEIN AND DENTIN SIALOPROTEIN ARE CLEAVAGE PRODUCTS EXPRESSED FROM A SINGLE TRANSCRIPT CODED BY A GENE ON HUMAN CHROMOSOME 4: DENTIN PHOSPHOPROTEIN DNA SEQUENCE DETERMINATION. *J Biol Chem*; 272:835–42; 1997.
- 229) Machado de Oliveira JC, Siqueira JF Jr, Alves GB, Hirata R Jr, Andrade AFB. DETECTION OF *PORPHYROMONAS ENDODONTALIS* IN INFECTED ROOT CANALS BY 16S RRNA GENE-DIRECTED POLYMERASE CHAIN REACTION. *J Endod*; 26:729-32; 2000.
- 230) Madigan MT, Martinko JM, Parker J. BROCK BIOLOGY OF MICROORGANISMS. 9th ed. *Upper Saddle River (NJ)*: Prentice-Hall; 2000.
- 231) Magloire H, Calle A, Hartmann DJ, et al. TYPE-I COLLAGEN PRODUCTION BY HUMAN ODONTOBLAST-LIKE CELLS IN EXPLANTS CULTURED ON CYANOACRYLATE FILMS: ELECTRONIMMUNOLOCALIZATION OF FIBRONECTIN AT CELL/FILM INTERFACE. *Cell Tissue Res*; 244:133–40; 1986.
- 232) Magloire H, Joffre A, Bleicher F. AN *IN VITRO* MODEL OF HUMAN DENTAL PULP REPAIR. *J Dent Res*; 75:1971–8; 1996.
- 233) Magloire H, Joffre A, Grimaud JA, et al. SYNTHESIS OF TYPE I COLLAGEN BY HUMAN ODONTOBLAST-LIKE CELLS IN EXPLANT CULTURE: LIGHT AND ELECTRON MICROSCOPE IMMUNOTYPING. *Cell Mol Biol Incl Cyto Enzymol*; 27:429–35; 1981.

- 234) Maita E, Horiuchi H. POLYAMINE ANALYSIS OF INFECTED ROOT CANAL CONTENTS RELATED TO CLINICAL SYMPTOMS. *Endod Dent Traumatol*; 6:213-7; 1990.
- 235) Majno G, Joris I. CELLS, TISSUES, AND DISEASE, 2nd edn. *Oxford*, London, UK: Oxford University Press; 2004.
- 236) Makoto Takahashi^{1,2}, Dai Kitamoto², Yonathan Asikin^{3,4}, Kensaku Takara⁴ and Koji Wada^{4*}. LIPOSOMES ENCAPSULATING ALOE VERA LEAF GEL EXTRACT SIGNIFICANTLY ENHANCE PROLIFERATION AND COLLAGEN SYNTHESIS IN HUMAN SKIN CELL LINES. *J. Oleo Sci.* 58, (12) 643-650; 2009.
- 237) Mao JJ, Stosich MS, Moiola EK, Lee CH, Fu SY, Bastian B, Eisig SB, Zemnick C, Ascherman J, Wu J, Rohde C, Ahn J. FACIAL RECONSTRUCTION BY BIOSURGERY: CELL TRANSPLANTATION VERSUS CELL HOMING. *Tissue Eng Part B Rev*; 16(2):257–62; 2010. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)]
- 238) Martin A, Unda FJ, Begue-Kirn C, Ruch JV, Arechaga J. EFFECTS OF AFGF, BFGF, TGFβ1 AND IGF-I ON ODONTOBLAST DIFFERENTIATION *IN VITRO*. *Eur J Oral Sci*; 106(Suppl 1):117–21; 1998.
- 239) Mathieu S, Battari AE, Dejou J, ABOUT I. ROLE OF INJURED ENDOTHELIAL CELLS IN THE RECRUITMENT OF HUMAN PULP CELLS. *Arch Oral Biol*; 50:109–113; 2005.
- 240) Martin G, Ricucci D, Gibbs JL, Lin LM. HISTOLOGICAL FINDINGS OF REVASCULARIZED/REVITALIZED IMMATURE PERMANENT MOLAR WITH APICAL PERIODONTITIS USING PLATELET-RICH PLASMA. *J Endod*; 39(1):138–44; 2013. [[PubMed](#)]
- 241) Martin A. PHYSIOLOGY, MOLECULAR BIOLOGY AND APPLICATIONS OF THE BACTERIAL STARVATION RESPONSE. *J Appl Bacteriol*; 73(symposium suppl):49S–57S; 1992.
- 242) Mattila KJ, Nieminen MS, Valtonen VV, Rasi VP, Kesäniemi YA, Syrjäla SL, et al. ASSOCIATION BETWEEN DENTAL HEALTH AND ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION. *Br Med J*; 298:779-81; 1989.
- 243) Matsushita K, Motani R, Sakuta T, Yamaguchi N, Koga T, Matsuo K, Nagaoka S, Abeyama K, Maruyama I, Torii M. THE ROLE OF VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR IN HUMAN DENTAL PULP CELLS: INDUCTION OF CHEMOTAXIS, PROLIFERATION, AND DIFFERENTIATION AND ACTIVATION OF THE AP-1-DEPENDENT SIGNALING PATHWAY. *J Dent Res*; 79(8):1596–603; 2000. [[PubMed](#)]

- 244) McCulloch CA, Bordin S. ROLE OF FIBROBLAST SUBPOPULATIONS IN PERIODONTAL PHYSIOLOGY AND PATHOLOGY. *J Periodontal Res.*; 26(3 Pt 1):144–54; 1991. [[PubMed](#)]
- 245) M. E. Gómez de Ferraris y A. Campos Muñoz. HISTOLOGÍA Y EMBRIOLOGÍA BUCODENTAL. 2ª Edición. Editorial *Medica Panamericana*. 2010. Pág. 82, 212, 245.
- 246) Melin M, Joffre-Romeas A, Farges JC, Couble ML, Magloire H, Bleicher F. EFFECTS OF TGF BETA1 ON DENTAL PULP CELLS IN CULTURED HUMAN TOOTH SLICES. *Journal of Dental Research* 79, 1689–96; 2000.
- 247) Mente J, Hage N, Pfefferle T, Koch M, Dreyhaupt J, Staehle H, Friedman S. MINERAL TRIOXIDE AGGREGATE APICAL PLUGS IN TEETH WITH OPEN APICAL FORAMINA: A RETROSPECTIVE ANALYSIS OF TREATMENT OUTCOME. *J Endod*; 35:1354–8; 2009. [[PubMed](#)]
- 248) Miller WD. AN INTRODUCTION TO THE STUDY OF THE BACTERIO-PATHOLOGY OF THE DENTAL PULP. *Dent Cosmos*; 36:505-28; 1894.
- 249) Mims C, Nash A, Stephen J. MIMS' PATHOGENESIS OF INFECTIOUS DISEASES. 5th ed. San Diego: *Academic Press*; p. 361-91; 2001.
- 250) Miura M, Gronthos S, Zhao M, Lu B, Fisher LW, Robey PG, Shi S. SHED: STEM CELLS FROM HUMAN EXFOLIATED DECIDUOUS TEETH. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 100:5807–12; 2003.
- 251) Mizuno M, Banzai Y. CALCIUM ION RELEASE FROM CALCIUM HYDROXIDE STIMULATED FIBRONECTIN GENE EXPRESSION IN DENTAL PULP CELLS AND THE DIFFERENTIATION OF DENTAL PULP CELLS TO MINERALIZED TISSUE FORMING CELLS BY FIBRONECTIN. *International Endodontic Journal* 41, 933–8; 2008.
- 252) Mjor IA. PULP-DENTIN BIOLOGY IN RESTORATIVE DENTISTRY. 7. The exposed pulp. *Quintessence International*. 33, 113–35; 2002.
- 253) Molander A, Reit C, Dahle'n G, Kvist T. MICROBIOLOGICAL STATUS OF ROOT-FILLED TEETH WITH APICAL PERIODONTITIS. *Int Endod J.*; 31:1-7; 1998.
- 254) Mo'ller AJR, Fabricius L, Dahle'n G, O'hman AE, Heyden G. INFLUENCE ON PERIAPICAL TISSUES OF INDIGENOUS ORAL BACTERIA AND NECROTIC PULP TISSUE IN MONKEYS. *Scand J Dent Res*; 89: 475-84; 1981.
- 255) Mo'ller AJR. MICROBIAL EXAMINATION OF ROOT CANALS AND PERIAPICAL TISSUES OF HUMAN TEETH. *Odontologisk Tidskrift*; 74(suppl):1-380; 1966.

- 256) Moradi S, Disfani R, Ghazvini K, Lomee M. SEALING ABILITY OF ORTHOGRADE MTA AND CEM CEMENT IN APICALLY RESECTED ROOTS USING BACTERIAL LEAKAGE METHOD. *Iran Endod J.*; 8(3):109–13; 2013. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)]
- 257) Mooradian DL, Lucas RC, Weatherbee J, Furcht LT. TRANSFORMING GROWTH FACTOR-BL BINDS TO IMMOBILIZED FIBRONECTIN. *Journal of Cellular Biochemistry* 41, 189–200; 1989.
- 258) Moore KA, Lemischka IR. STEM CELL AND THEIR NICHES. *Science* 311, 1880–5; 2006.
- 259) Morrison SJ, Shan NM, Anderson DJ. REGULATORY MECHANISMS IN STEM CELL BIOLOGY. *Cell* 88, 287–98; 1997.
- 260) Mullane EM, Dong Z, Sedgley CM, Hu JC, Botero TM, Holland GR, Nor JE. EFFECTS OF VEGF AND FGF2 ON THE REVASCULARIZATION OF SEVERED HUMAN DENTAL PULPS. *J Dent Res.*; 87(12):1144–8; 2008. [[PubMed](#)]
- 261) Murray CA, Saunders WP. ROOT CANAL TREATMENT AND GENERAL HEALTH: A REVIEW OF THE LITERATURE. *Int Endod J.*; 33:1-18; 2000.
- N**
- 262) Nair PN, Duncan HF, Pitt Ford TR, Luder HU. HISTOLOGICAL, ULTRASTRUCTURAL AND QUANTITATIVE INVESTIGATIONS ON THE RESPONSE OF HEALTHY HUMAN PULPS TO EXPERIMENTAL CAPPING WITH MINERAL TRIOXIDE AGGREGATE: A RANDOMIZED CONTROLLED TRIAL. *Int Endod J.*; 41:128–50; 2008.
- 263) Nair PNR. LIGHT AND ELECTRON MICROSCOPIC STUDIES OF ROOT CANAL FLORA AND PERIAPICAL LESIONS. *J Endod*;13:29-39; 1987.
- 264) Nair PNR, Schroeder HE. PERIAPICAL ACTINOMYCOSIS. *J Endod*;12:567-70; 1984.
- 265) Nair PNR, Sjögren U, Krey G, Kahnberg K-E, Sundqvist G. INTRARADICULAR BACTERIA AND FUNGI IN ROOT-FILLED, ASYMPTOMATIC HUMAN TEETH WITH THERAPY-RESISTANT PERIAPICAL LESIONS: A LONGTERM LIGHT AND ELECTRON MICROSCOPIC FOLLOW-UP STUDY. *J Endod*; 16:580-8; 1990.
- 266) Nair SP, Meghji S, Wilson M, Reddi K, White P, HENDERSON B. BACTERIALLY INDUCED BONE DESTRUCTION: MECHANISMS AND MISCONCEPTIONS. *Infect Immun*; 64:2371-80; 1996.

- 267) Nakamura S, Yamada Y, Katagiri W, Sugito T, Ito K, UEDA M. STEM CELL PROLIFERATION PATHWAYS COMPARISON BETWEEN HUMAN EXFOLIATED DECIDUOUS TEETH AND DENTAL PULP STEM CELLS BY GENE EXPRESSION PROFILE FROM PROMISING DENTAL PULP. *J Endod*; 35:1536–42; 2009.
- 268) Nakashima M, Akamine A. THE APPLICATION OF TISSUE ENGINEERING TO REGENERATION OF PULP AND DENTIN IN ENDODONTICS. *J Endod*; 31:711–8; 2005.
- 269) Nakashima M. BONE MORPHOGENETIC PROTEINS IN DENTIN REGENERATION FOR POTENTIAL USE IN ENDODONTIC THERAPY. *Cytokine Growth Factor Rev*; 16:369–76; 2005.
- 270) Nakashima M. ESTABLISHMENT OF PRIMARY CULTURES OF PULP CELLS FROM BOVINE PERMANENT INCISORS. *Arch Oral Biol*; 36:655–63; 1991.
- 271) Nakashima M. INDUCTION OF DENTIN FORMATION ON CANINE AMPUTATED PULP BY RECOMBINANT HUMAN BONE MORPHOGENETIC PROTEINS (BMP)-2 and -4. *J Dent Res*; 73(9):1515–22; 1994. [[PubMed](#)].
- 272) Nakashima M, Iohara K, Ishikawa M, Ito M, Tomokiyo A, Tanaka T, Akamine A. STIMULATION OF REPARATIVE DENTIN FORMATION BY *EX VIVO* GENE THERAPY USING DENTAL PULP STEM CELLS ELECTROTRANSFECTED WITH GROWTH/DIFFERENTIATION FACTOR 11 (GDF11). *Hum Gene Ther*; 15(11):1045–53; 2004. [[PubMed](#)].
- 273) Nakashima M, Iohara K. REGENERATION OF DENTAL PULP BY STEM CELLS. *Adv Dent Res*; 23(3):313–9; 2011. [[PubMed](#)].
- 274) Nakashima M, Nagasawa H, Yamada Y, Reddi AH. REGULATORY ROLE OF TRANSFORMING GROWTH FACTOR-BETA, BONE MORPHOGENETIC PROTEIN-2, AND PROTEIN-4 ON GENE EXPRESSION OF EXTRACELLULAR MATRIX PROTEINS AND DIFFERENTIATION OF DENTAL PULP CELLS. *Dev Biol*; 162(1):18–28; 1994. [[PubMed](#)].
- 275) Nakashima M. THE EFFECTS OF GROWTH FACTORS ON DNA SYNTHESIS, PROTEOGLYCAN SYNTHESIS AND ALKALINE PHOSPHATASE ACTIVITY IN BOVINE DENTAL PULP CELLS. *Arch Oral Biol*; 37:231–6; 1992.
- 276) Nanci A. TEN CATE'S ORAL BIOLOGY, 7th edn. St. Louis, MO, USA: *Mosby*; 2007.

- 277) Nasef A, Ashammakhi N, Fouillard L. IMMUNOMODULATORY EFFECT OF MESENCHYMAL STROMAL CELLS: POSSIBLE MECHANISMS. *Regen Med*; 3(4):531–46; 2008. [[PubMed](#)].
- 278) Nevins AJ, Finkelstein F, Borden BG, Laporta R. REVITALIZATION OF PULPLESS OPEN APEX TEETH IN RHESUS MONKEYS, USING COLLAGEN-CALCIUM PHOSPHATE GEL. *J Endod*; 2(6):159–65; 1976. [[PubMed](#)].
- 279) Nie X, Tian W, Zhang Y et al. INDUCTION OF TRANSFORMING GROWTH FACTOR-BETA 1 ON DENTINE PULP CELLS IN DIFFERENT CULTURE PATTERNS. *Cell Biology International* 30, 295–300; (2006).
- 280) Nomiya K, Kitamura C, Tsujisawa T et al. EFFECTS OF LIPOPOLYSACCHARIDE ON NEWLY ESTABLISHED RAT DENTAL PULPDERIVED CELL LINE WITH ODONTOBLASTIC PROPERTIES. *Journal of Endodontics* 33, 1187–91; 2007.
- 281) Nor JE, Christensen J, Mooney DJ, Polverini PJ. VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR (VEGF)-MEDIATED ANGIOGENESIS IS ASSOCIATED WITH ENHANCED ENDOTHELIAL CELL SURVIVAL AND INDUCTION OF BCL-2 EXPRESSION. *Am J Pathol*; 154(2):375–84; 1999. [[PMC free article](#)][[PubMed](#)].
- 282) Nosrat A, Asgary S. APEXOGENESIS TREATMENT WITH A NEW ENDODONTIC CEMENT: A CASE REPORT. *J Endod*; 36(5):912–4; 2010. [[PubMed](#)]
- 283) Nosrat A, Asgary S, Eghbal MJ, Ghoddusi J, Bayat-Movahed S. CALCIUM-ENRICHED MIXTURE CEMENT AS ARTIFICIAL APICAL BARRIER: A CASE SERIES. *J Conserv Dent.*; 14(4):427–31; 2011. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)].
- 284) Nosrat A, Homayounfar N, Oloomi K. DRAWBACKS AND UNFAVORABLE OUTCOMES OF REGENERATIVE ENDODONTIC TREATMENTS OF NECROTIC IMMATURE TEETH: A LITERATURE REVIEW AND REPORT OF A CASE. *J Endod.*; 38(10):1428–34; 2012. [[PubMed](#)].
- 285) Nosrat A, Seifi A, Asgary S. REGENERATIVE ENDODONTIC TREATMENT (REVASCULARIZATION) FOR NECROTIC IMMATURE PERMANENT MOLARS: A REVIEW AND REPORT OF TWO CASES WITH A NEW BIOMATERIAL. *J Endod.*; 37(4):562–7; 2011. [[PubMed](#)].
- 286) Nozomu Yamauchi, DDS,* Shizuko Yamauchi, DDS, MS,* Hideaki Nagaoka, DDS, PhD,† Derek Duggan, DDS, MS,* Sheng Zhong, DDS,* Sun Min Lee, BA,† Fabricio B. Teixeira, DDS, MS, PhD,‡ and Mitsuo Yamauchi, DDS, PhD†. TISSUE ENGINEERING STRATEGIES FOR IMMATURE TEETH WITH APICAL PERIODONTITIS. *J Endod*; 37:390–397; 2011.

O

- 287) Ohazama A, Modino SA, Miletich I, Sharpe PT. STEM-CELL-BASED TISSUE ENGINEERING OF MURINE TEETH. *J Dent Res*; 83:518–22; 2004.
- 288) Okabe T, Sakamoto M, Takeuchi H, Matsushima K. EFFECTS OF PH ON MINERALIZATION ABILITY OF HUMAN DENTAL PULP CELLS. *Journal of Endodontics* 32, 198–201; 2006.
- 289) Okamoto Y, Sonoyama W, Ono M, et al. SIMVASTATIN INDUCES THE ODONTOGENIC DIFFERENTIATION OF HUMAN DENTAL PULP STEM CELLS *IN VITRO* AND *IN VIVO*. *J Endod*; 35: 367–72; 2009.
- 290) Onishi T, Kinoshita S, Shintani S, Sobue S, Ooshima T. STIMULATION OF PROLIFERATION AND DIFFERENTIATION OF DOG DENTAL PULP CELLS IN SERUM-FREE CULTURE MEDIUM BY INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR. *Archives of Oral Biology* 44, 36 –71; 1999.
- 291) Ostby BN. THE ROLE OF THE BLOOD CLOT IN ENDODONTIC THERAPY: AN EXPERIMENTAL HISTOLOGIC STUDY. *Acta Odontol Scand*; 19:324–53; 1961.
- 292) Ørstavik D, Pitt Ford TR. ESSENTIAL ENDODONTOLOGY, 2nd edn. London, UK: Blackwell Munksgaard; 2007.
- 293) Ostby BN. THE ROLE OF THE BLOOD CLOT IN ENDODONTIC THERAPY AN EXPERIMENTAL HISTOLOGIC STUDY. *Acta Odontol Scand*; 19:324–53; 1961. [[PubMed](#)]
- 294) Ove A. Peters y Christine I. Peters, VÍAS DE LA PULPA, 10^a Edición, Edit. Elsevier Mosby, España., P. 283-339; 2011.

P

- 295) Pallasch TJ. PHARMACOLOGY OF ANXIETY, PAIN AND INFECTION. In: Ingle JI, Bakland LK (editors). Endodontics. 4th ed. Baltimore: Williams & Wilkins;. p. 641-79; 1994.
- 296) Pallasch TJ. PHARMACOKINETIC PRINCIPLES OF ANTIMICROBIAL THERAPY. *Periodontology* 2000; 10:5-11; 1996.
- 297) Papagerakis P, MacDougall M, Hotton D, Bailleul-Forestier I, Oboeuf M, Berdal A. EXPRESSION OF AMELOGENIN IN ODONTOBLASTS. *Bone*; 32:228–40; 2003.
- 298) Partanen AM, Ekblom P, Thesleff I. EPIDERMAL GROWTH FACTOR INHIBITS MORPHOGENESIS AND CELL DIFFERENTIATION IN CULTURED MOUSE EMBRYONIC TEETH. *Dev Biol*; 111:84–94; 1985.

- 299) Paster BJ, Boches SK, Galvin JL, Ericson RE, Lau CN, Levanos VA, et al. BACTERIAL DIVERSITY IN HUMAN SUBGINGIVAL PLAQUE. *J Bacteriol*; 183:3770-83; 2001.
- 300) Peciuliene V, Balciuniene I, Eriksen HM, Haapasalo M. ISOLATION OF ENTEROCOCCUS FAECALIS IN PREVIOUSLY ROOT-FILLED CANALS IN A LITHUANIAN POPULATION. *J Endod*; 26:593-5; 2000.
- 301) Petrino J, Boda K, Shambarger S, Bowles W, McClanahan S. CHALLENGES IN REGENERATIVE ENDODONTICS: A CASE SERIES. *J Endod*; 36:536-41; 2010. [[PubMed](#)]-
- 302) Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC et al. MULTILINEAGE POTENTIAL OF ADULT HUMAN MESENCHYMAL STEM CELLS. *Science* 284, 143-7; 1999.
- 303) Pitt Ford TR. PULPAL RESPONSE TO A CALCIUM HYDROXIDE MATERIAL FOR CAPPING EXPOSURES. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*; 59:194-7; 1985.
- 304) Prakash P Athiban, Bikash Jyoti Borthakur, S Ganesan, and B Swathika. EVALUATION OF ANTIMICROBIAL EFFICACY OF ALOE VERA AND ITS EFFECTIVENESS IN DECONTAMINATING GUTTA PERCHA CONES. *J Conserv Dent*; 15(3):246-248; 2012.
- 305) Prasad, M., Butler, W. T., & Qin, C. DENTIN SIALOPHOSPHOPROTEIN IN BIOMINERALIZATION. *Connect Tissue Res*, 51(5), 404-417; 2010.
- 306) Prescott RS, Alsanea R, Fayad MI, et al. *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*; 34:421-6; 2008.
- 307) Prescott RS, Alsanea R, Fayad MI, Johnson BR, Wenckus CS, Hao J, John AS, 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*; 34(4):421-6; 2008. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)].
- 308) Prockop DJ. MARROW STROMAL CELLS AS STEM CELLS FOR NONHEMATOPOIETIC TISSUES. *Science* 276, 71-4; 1997.
- 309) P. Sangwan, A. Sangwan, J. Duhan & A. Rohilla. TERTIARY DENTINOGENESIS WITH CALCIUM HYDROXIDE: A REVIEW OF PROPOSED MECHANISMS. *International Endodontic Journal*, 46, 3-19, 2013.

Q

- 310) Qin, W., Lin, Z. M., Deng, R., Li, D. D., Song, Z., Tian, Y. G., et al. P38A MAPK IS INVOLVED IN BMP-2-INDUCED ODONTOBLASTIC DIFFERENTIATION OF HUMAN DENTAL PULP CELLS. *Int Endod J*, 45(3), 224-233; 2012.

R

- 311) Rafter M. APEXIFICATION: A REVIEW. *Dent Traumatol.*; 21:1-8; 2005. [[PubMed](#)].
- 312) Ramos JL, Gallegos MT, Marque´s S, Ramos-González MI, Espinosa-Urgel M, Segura A. RESPONSES OF GRAM-NEGATIVE BACTERIA TO CERTAIN ENVIRONMENTAL STRESSORS. *Curr Opin Microbiol*; 4:166-71; 2001.
- 313) Rashid F, Shiba H, Mizuno N et al. THE EFFECT OF EXTRACELLULAR CALCIUM ION ON GENE EXPRESSION OF BONE RELATED PROTEINS IN HUMAN PULP CELLS. *Journal of Endodontics* 29, 104-7; 2003.
- 314) Reddi AH. ROLE OF MORPHOGENETIC PROTEINS IN SKELETAL TISSUE ENGINEERING AND REGENERATION. *Nat Biotechnol*; 16(3):247-52; 1998. [[PubMed](#)].
- 315) Reichert T, Storkel S, Becker K, Fisher LW. THE ROLE OF OSTEONECTIN IN HUMAN TOOTH DEVELOPMENT: AN IMMUNOHISTOLOGICAL STUDY. *Calcif Tissue Int*; 50:468-72; 1992.
- 316) Relman DA. THE IDENTIFICATION OF UNCULTURED MICROBIAL PATHOGENS. *J Infect Dis*; 168:1-8; 1993.
- 317) Relman DA. THE SEARCH FOR UNRECOGNIZED PATHOGENS. *Science*; 284:308-10; 1999.
- 318) Relman DA, Schmidt TM, MacDermott RP, Falkow S. USING 16S RRNA TO FIND THE CAUSE OF WHIPPLE'S DISEASE. *N Engl J Med.*; 327:293-301; 1992.
- 319) Relman DA. THE IDENTIFICATION OF UNCULTURED MICROBIAL PATHOGENS. *J Infect Dis*; 168:1-8; 1993.
- 320) Reynolds K, Johnson J, Cohenca N. PULP REVASCULARIZATION OF NECROTIC BILATERAL BICUSPIDS USING A MODIFIED NOVEL TECHNIQUE TO ELIMINATE POTENTIAL CORONAL DISCOLOURATION: A CASE REPORT. *Int Endod J.*; 42:84-92; 2009. [[PubMed](#)]

- 321) Ring K, Murray P, Namerow K, Kuttler S, Garcia-Godoy F. THE COMPARISON OF THE EFFECT OF ENDODONTIC IRRIGATION ON CELL ADHERENCE TO ROOT CANAL DENTIN. *J Endod.*; 34:1474–9; 2008. [[PubMed](#)]
- 322) Rolph HJ, Lennon A, Riggio MP, Saunders WP, MacKenzie D, Coldero L, et al. MOLECULAR IDENTIFICATION OF MICROORGANISMS FROM ENDODONTIC INFECTIONS. *J Clin Microbiol*; 39:3282-9; 2001.
- 323) Rossi DJ, Bryder D, Zahn JM et al. CELL INTRINSIC ALTERATIONS UNDERLIE HEMATOPOIETIC STEM CELL AGING. *Proceedings of National Academy of Sciences* 102, 9194–9; 2005.
- 324) Rossi DJ, Bryder D, Seita J et al. DEFICIENCIES IN DNA DAMAGE REPAIR LIMIT THE FUNCTION OF HAEMATOPOIETIC STEM CELLS WITH AGE. *Nature* 447, 725–9.
- 325) Ruch, J. V. (1985). ODONTOBLAST DIFFERENTIATION AND THE FORMATION OF THE ODONTOBLAST LAYER. *J Dent Res*, 64 Spec No, 489-498; 2007.
- 326) Ruparel NB, Teixeira FB, Ferraz CC, Diogenes A. DIRECT EFFECT OF INTRACANAL MEDICAMENTS ON SURVIVAL OF STEM CELLS OF THE APICAL PAPILLA. *J Endod.*; 38(10):1372–5; 2012.[[PubMed](#)]
- 327) Roças IN, Siqueira JF Jr, Santos KR, Coelho AM. “RED COMPLEX” (BACTEROIDES FORSYTHUS, PORPHYROMONAS GINGIVALIS, AND TREPONEMA DENTICOLA) IN ENDODONTIC INFECTIONS: A MOLECULAR APPROACH. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*; 91:468-71; 2001.
- 328) Roberts-Clark DJ, Smith AJ. ANGIOGENIC GROWTH FACTORS IN HUMAN DENTINE MATRIX. *Arch Oral Biol.*; 45(11):1013–6; 2000. [[PubMed](#)]
- 329) Rosenow EC. MOUTH INFECTION AS A SOURCE OF SYSTEMIC DISEASE. *JAMA*; 63:2026-7; 1914.
- S**
- 330) Saad AY. CALCIUM HYDROXIDE AND APEXOGENESIS. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology* 66, 499–501; 1988.
- 331) Safavi KE, Nichols FC. EFFECT OF CALCIUM HYDROXIDE ON BACTERIAL LIPOPOLYSACCHARIDE. *Journal of Endodontics* 19, 76–8; 1993.
- 332) Sakai VT, Zhang Z, Dong Z, Neiva K, Machado M, Shi S, Santos C, Nör JE. SHED DIFFERENTIATE INTO FUNCTIONAL ODONTOBLASTS AND ENDOTHELIUM. *J Dent Res*; 89:791–6; 2010.

- 333) Saluk-Juszczak J, Wachowicz B. THE PROINFLAMMATORY ACTIVITY OF LIPOPOLYSACCHARIDE. *Postepy Biochemii* 51, 280–7; 2005.
- 334) Salyers AA, Whitt DD. BACTERIAL PATHOGENESIS: A MOLECULAR APPROACH. *Washington: ASM Press*; p. 418; 1994.
- 335) Sanaa Chala,a,b,c, Redouane Abouqal,b and Sana Rida,a Rabat, Morocco. APEXIFICATION OF IMMATURE TEETH WITH CALCIUM HYDROXIDE OR MINERAL TRIOXIDE AGGREGATE: SYSTEMATIC REVIEW AND META-ANALYSIS. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*; 112:e36-e42; 2011.
- 336) Sato T, Hoshino E, Uematsu H, Noda T. IN VITRO ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TO COMBINATION OF DRUGS ON BACTERIA FROM CARIOUS AND ENDODONTIC LESIONS OF HUMAN DECIDUOUS TEETH. *Oral Microbiol Immunol*; 8:172–176; 1993.
- 337) Scadden DT. THE STEM-CELL NICHE AS AN ENTITY OF ACTION. *Nature* 441, 1075–9; 2006.
- 338) Schroder, U., & Granath, L. E. EARLY REACTION OF INTACT HUMAN TEETH TO CALCIUM HYDROXIDE FOLLOWING EXPERIMENTAL PULPOTOMY AND ITS SIGNIFICANCE TO THE DEVELOPMENT OF HARD TISSUE BARRIER. *Odontol Revy*, 22(4), 379-395; (1971).
- 339) Segura JJ, Llamas R, Rubio-Manzanares AJ, Jimenez-Planas A, Guerrero JM, Calvo JR. CALCIUM HYDROXIDE INHIBITS SUBSTRATE ADHERENCE CAPACITY OF MACROPHAGES. *Journal of Endodontics* 23, 444–7; 1997.
- 340) Seo B-M, Mirura M, Gronthos S et al. INVESTIGATION OF MULTIPOTENT POSTNATAL STEM CELLS FROM HUMAN PERIODONTAL LIGAMENT. *The Lancet* 364, 149–55; 2004.
- 341) Shabahang S, Torabinejad M. TREATMENT OF TEETH WITH OPEN APICES USING MINERAL TRIOXIDE AGGREGATE. *Pract Periodontics Aesthet Dent*; 12:315–320; 2000.
- 342) Shah N, Logani A, Bhaskar U, Aggarwal V. EFFICACY OF REVASCULARIZATION TO INDUCE APEXIFICATION/APEXOGENESIS IN INFECTED, NONVITAL, IMMATURE TEETH: A PILOT CLINICAL STUDY. *J Endod*; 34:919–25; 2008. [[PubMed](#)] 23.].
- 343) Sheehy EC, Roberts GJ. USE OF CALCIUM HYDROXIDE FOR APICAL BARRIER FORMATION AND HEALING IN NON-VITAL IMMATURE PERMANENT TEETH: A REVIEW. *J.* Oct 11; 183(7):241-6; 1997.

- 344) Shimizu E, Jong G, Partridge N, Rosenberg PA, Lin LM. HISTOLOGIC OBSERVATION OF A HUMAN IMMATURE PERMANENT TOOTH WITH IRREVERSIBLE PULPITIS AFTER REVASCULARIZATION/REGENERATION PROCEDURE. *J. Endod*; 38(9):1293–7; 2012. [[PubMed](#)]
- 345) Shin S, Albert J, Mortman R. ONE STEP PULP REVASCULARIZATION TREATMENT OF AN IMMATURE PERMANENT TOOTH WITH CHRONIC APICAL ABSCESS: A CASE REPORT. *Int Endod J*; 42:1118–26; 2009.[[PubMed](#)].
- 346) Shi S, Bartold PM, Miura M et al. THE EFFICACY OF MESENCHYMAL STEM CELLS TO REGENERATION AND REPAIR DENTAL STRUCTURES. *Orthodontics and Craniofacial Research* 8, 191–9; 2005.
- 347) Shi S, Gronthos S. PERIVASCULAR NICHE OF POSTNATAL MESENCHYMAL STEM CELLS IN HUMAN BONE MARROW AND DENTAL PULP. *J Bone Miner Res*; 18:696–704; 2003.
- 348) Shi S, Robey PG, Gronthos S. COMPARISON OF HUMAN DENTAL PULP AND BONE MARROW STROMAL STEM CELLS BY CDNA MICROARRAY ANALYSIS. *Bone*; 29:532–9; 2001.
- 349) Silva H, Conboy IM. AGING AND STEM CELL RENEWAL. *StemBook (Internet)*. Cambridge (MA): Harvard Stem Cell Institute. Bookshelf ID: NBK27025PMD: 20614587. pp. 1–13; 2008.
- 350) Silva MO, Pelegri AA, da Silva AAP, et al. XENOGRAFT ENRICHED WITH AUTOLOGOUS BONE MARROW IN INLAY RECONSTRUCTIONS: A TOMOGRAPHIC AND HISTOMORPHOMETRIC STUDY IN RABBIT CALVARIA. *Int J Biomater* 2012;:170520; 2012.
- 351) Simon, S., Smith, A. J., Berdal, A., Lumley, P. J., & Cooper, P. R. THE MAP KINASE PATHWAY IS INVOLVED IN ODONTOBLAST STIMULATION VIA P38 PHOSPHORYLATION. *J Endod*, 36(2), 256-259; 2010.
- 352) Siqueira JF Jr. AETIOLOGY OF THE ENDODONTIC FAILURE: WHY WELLTREATED TEETH CAN FAIL. *Int Endod J*; 34:1-10; 2001.
- 353) Siqueira JF Jr, Lopes HP. BACTERIA ON THE APICAL ROOT SURFACES OF UNTREATED TEETH WITH PERIRADICULAR LESIONS: A SCANNING ELECTRON MICROSCOPY STUDY. *Int Endod J*; 34:216-20; 2001.
- 354) Siqueira JF Jr, Lopes HP. MECHANISMS OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF CALCIUM HYDROXIDE: A CRITICAL REVIEW. *International Endodontic Journal* 32, 361–9; 1999.

- 355) Siqueira JF Jr, Magalhães FAC, Lima KC, Uzeda M. PATHOGENICITY OF FACULTATIVE AND OBLIGATE ANAEROBIC BACTERIA IN MONOCULTURE AND COMBINED WITH EITHER PREVOTELLA INTERMEDIA OR PREVOTELLA NIGRESCENS. *Oral Microbiol Immunol*;11:368-72; 1998.
- 356) Siqueira JF Jr, Roças IN, Favieri A, Santos KRN. DETECTION OF TREPONEMA DENTICOLA IN ENDODONTIC INFECTIONS BY 16S RNA GENE DIRECTED POLYMERASE CHAIN REACTION. *Oral Microbiol Immunol*; 15:335-7; 2000.
- 357) Siqueira JF Jr, Roças IN, Oliveira JCM, Santos KRN. DETECTION OF PUTATIVE ORAL PATHOGENS IN ACUTE PERIRADICULAR ABSCESSSES BY 16S RDNA DIRECTED PCR. *J Endod*; 27:164-7; 2001.
- 358) Siqueira JF, Roças IN, Oliveira JCM, Santos KRN. MOLECULAR DETECTION OF BLACK-PIGMENTED BACTERIA IN INFECTIONS OF ENDODONTIC ORIGIN. *J Endod*; 27:563-6; 2001.
- 359) Siqueira JF Jr, Roças IN, Souto R, Uzeda M, Colombo AP. CHECKERBOARD DNA-DNA HYBRIDIZATION ANALYSIS OF ENDODONTIC INFECTIONS. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*; 89:744-8; 2000.
- 360) Siqueira JF Jr, Roças IN, Souto R, Uzeda M, Colombo AP. MICROBIOLOGICAL EVALUATION OF ACUTE PERIRADICULAR ABSCESSSES BY DNA-DNA HYBRIDIZATION. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*; 92:451-7; 2001.
- 361) Sloan, A. J., Rutherford, R. B., & Smith, A. J. STIMULATION OF THE RAT DENTINE-PULP COMPLEX BY BONE MORPHOGENETIC PROTEIN-7 *IN VITRO*. *Arch Oral Biol*, 45(2), 173-177; 2000.
- 362) Slauson DO, Cooper BJ. MECHANISMS OF DISEASE, 3rd edn. *St. Louis, MO: Mosby*; 2002.
- 363) Slots J. CASUAL OR CAUSAL RELATIONSHIP BETWEEN PERIODONTAL INFECTION AND NON-ORAL DISEASE?. *J Dent Res*; 77:1764-5; 1998.
- 364) Smith AJ. PULPAL RESPONSES TO CARIES AND DENTAL REPAIR. *Caries Res*; 36: 223–32; 2002.
- 365) Smith AJ, Tobias RS, Cassidy N et al. ODONTOBLAST STIMULATION IN FERRETS BY DENTINE MATRIX COMPONENTS. *Archives of Oral Biology* 39, 13–22; 1994.

- 366) Smith AJ. VITALITY OF THE DENTIN-PULP COMPLEX IN HEALTH AND DISEASE: GROWTH FACTORS AS KEY MEDIATORS. *J Dent Educ*; 67(6):678–89; 2003. [[PubMed](#)].
- 367) Socransky SS. CRITERIA FOR THE INFECTIOUS AGENTS IN DENTAL CARIES AND PERIODONTAL DISEASE. *J Clin Periodontol*; 6(extra issue): 16-9; 1979.
- 368) Socransky SS, Haffajee AD. MICROBIOLOGY OF PERIODONTAL DISEASE. IN: LINDHE J, KARRING T, LANG NP (EDITORS). *Clinical periodontology and implant dentistry*. 3rd ed. Copenhagen: Munksgaard; p. 138-88; 1997.
- 369) Soltan M, Smiler D, Prasad HS, et al. BONE BLOCK ALLOGRAFT IMPREGNATED WITH BONE MARROW ASPIRATE. *Implant Dent*; 16:329–39; 2007.
- 370) Sonoyama W, Liu Y, Fang D, Yamaza T, Seo BM, Zhang C, Liu H, Gronthos S, Wang CY, Shi S, Wang S. MESENCHYMAL STEM CELL-MEDIATED FUNCTIONAL TOOTH REGENERATION IN SWINE. *PLoS One*; 1:e79; 2006.
- 371) Sonoyama W, Liu Y, Yamaza T, Tuan R, Wang S, Shi S, Huang G. CHARACTERIZATION OF THE APICAL PAPILLA AND ITS RESIDING STEM CELLS FROM HUMAN IMMATURE PERMANENT TEETH: A PILOT STUDY. *J Endod*; 34:166–71; 2008. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)].
- 372) S. Seltzer, I. B. Bender. INERVACIÓN PULPAR Y PERCEPCIÓN DEL DOLOR. Pulpa dental. Edit. *Manual Moderno*. San Antonio EUA.. Pág. 127.
- 373) Stanley HR, Lundy T (1972) DYCAL THERAPY FOR PULP EXPOSURES. *Oral Surgery, Oral Medicine, and Oral Pathology* 34, 818–27; 1987.
- 374) S.S. Silva a,b,†, E.G. Popa a,b, M.E. Gomes a,b, M. Cerqueira a,b, A.P. Marques a,b, S.G. Caridade a,b, P. Teixeira c, C. Sousa c, J.F. Mano a,b, R.L. Reis a,b. AN INVESTIGATION OF THE POTENTIAL APPLICATION OF CHITOSAN/ALOE-BASED MEMBRANES FOR REGENERATIVE MEDICINE. *Acta Biomaterialia* 9 (2013) 6790–6797.
- 375) Stanley HR. PULP CAPPING: CONSERVING THE DENTAL PULP—CAN IT BE DONE? IS IT WORTH IT? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1989;68:628–39.6–9.
- 376) Stappenbeck TS, Miyoshi H (2009). THE ROLE OF STROMAL STEM CELLS IN TISSUE REGENERATION AND WOUND REPAIR. *Science* 324, 166.
- 377) Stashenko P. THE ROLE OF IMMUNE CYTOKINES IN THE PATHOGENESIS OF PERIAPICAL LESIONS. *Endod Dent Traumatol*; 6:89-96; 1990.

- 378) Steiner JC, Van Hassel HJ. EXPERIMENTAL ROOT APEXIFICATION IN PRIMATES. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology* 31, 409–15; 1971.
- 379) Sun HH, Jin T, Yu Q, et al. BIOLOGICAL APPROACHES TOWARD DENTAL PULP REGENERATION BY TISSUE ENGINEERING. *J Tissue Eng Regen Med*; 5:e1–16; 2011.
- 380) Sunde PT, Tronstad L, Eribe ER, Lind PO, Olsen I. ASSESSMENT OF PERIRADICULAR MICROBIOTA BY DNA-DNA HYBRIDIZATION. *Endod Dent Traumatol*; 16:191-6; 2000.
- 381) Sundqvist G. ASSOCIATIONS BETWEEN MICROBIAL SPECIES IN DENTAL ROOT CANAL INFECTIONS. *Oral Microbiol Immunol*; 7:257-62; 1992.
- 382) Sundqvist G. BACTERIOLOGICAL STUDIES OF NECROTIC DENTAL PULPS [DISSERTATION]. Umea (Sweden): University of Umea; 1976.
- 383) Sundqvist G, Fidor D, Persson S, Sjögren U. MICROBIOLOGIC ANALYSIS OF TEETH WITH FAILED ENDODONTIC TREATMENT AND THE OUTCOME OF CONSERVATIVE RE-TREATMENT. *Oral Surg*; 85:86-93; 1998.
- 384) Sundqvist G, Johansson E, Sjögren U. PREVALENCE OF BLACKPIGMENTED *BACTEROIDES* SPECIES IN ROOT CANAL INFECTIONS. *J Endod*; 15:13-9; 1989.
- 385) Sundqvist GK, Eckerbom MI, Larsson AP, Sjögren UF. CAPACITY OF ANAEROBIC BACTERIA FROM NECROTIC DENTAL PULPS TO INDUCE PURULENT INFECTIONS. *Infect Immun*; 25:685-93; 1979.
- 386) Sundqvist G. TAXONOMY, ECOLOGY, AND PATHOGENICITY OF THE ROOT CANAL FLORA. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*; 78:522-30; 1994.
- 387) Syngcuk Kim. REGULATION OF BLOOD FLOW OF THE DENTAL PULP OF DOGS: MACROCIRCULATION AND MICROCIRCULATION STUDIES. *Thesis, Columbia University*. Pág. 127; 1981.
- 388) Syrjänen J, Peltola J, Valtonen V, Livanainen M, Kaste M, Huttunen JK. DENTAL INFECTIONS IN ASSOCIATION WITH CERTAIN INFARCTION IN YOUNG AND MIDDLE-AGED MEN. *J Intern Med*; 225:179-84; 1989.
- I
- 389) Takeda K, Oida S, Goseki M, et al. EXPRESSION OF BONE MORPHOGENETIC PROTEIN GENES IN THE HUMAN DENTAL PULP CELLS. *Bone*; 15:467–70; 1994.

- 390) Takeda T, Tezuka Y, Horiuchi M, et al. CHARACTERIZATION OF DENTAL PULP STEM CELLS OF HUMAN TOOTH GERMS. *J Dent Res*; 87:676–81; 2008.
- 391) Tani-Ishii N, Wang C-T, Tanner A, Stashenko P. CHANGES IN ROOT CANAL MICROBIOTA DURING THE DEVELOPMENT OF RAT PERIAPICAL LESIONS. *Oral Microbiol Immunol*; 9:129-35; 1994.
- 392) Thesleff I, Keranen S, Jernvall J. ENAMEL KNOTS AS SIGNALING CENTERS LINKING TOOTH MORPHOGENESIS AND ODONTOBLAST DIFFERENTIATION. *Adv Dent Res*; 15:14–8; 2001.
- 393) Thesleff I, Kantomaa T, Mackie E, Chiquet-Ehrismann R. IMMUNOHISTOCHEMICAL LOCALIZATION OF THE MATRIX GLYCOPROTEIN TENASCIN IN THE SKULL OF THE GROWING RAT. *Arch Oral Biol*; 33:383–90; 1988.
- 394) Thesleff I, Mackie E, Vainio S, Chiquet-Ehrismann R. CHANGES IN THE DISTRIBUTION OF TENASCIN DURING TOOTH DEVELOPMENT. *Development*; 101:289–96; 1987.
- 395) Thesleff I, Partanen AM, Vainio S. EPITHELIAL-MESENCHYMAL INTERACTIONS IN TOOTH MORPHOGENESIS: THE ROLES OF EXTRACELLULAR MATRIX, GROWTH FACTORS, AND CELL SURFACE RECEPTORS. *J Craniofac Genet Dev Biol*; 11:229–37; 1991.
- 396) Thesleff I, Vaahtokari A, Kettunen P, Aberg T. EPITHELIAL- MESENCHYMAL SIGNALING DURING TOOTH DEVELOPMENT. *Connective Tissue Research* 32, 9–15; 1995.
- 397) Thibodeau B, Teixeira F, Yamauchi M, Caplan DJ, Trope M. PULP REVASCULARIZATION OF IMMATURE DOG TEETH WITH APICAL PERIODONTITIS. *J Endod*; 33:680–9; 2007.
- 398) Thibodeau B, Trope M. PULP REVASCULARIZATION OF A NECROTIC INFECTED IMMATURE PERMANENT TOOTH: CASE REPORT AND REVIEW OF THE LITERATURE. *Pediatr Dent.* ; 29:47–50; 2007. [[PubMed](#)].
- 399) Thomas HF, Kollar EJ. DIFFERENTIATION OF ODONTOBLASTS IN GRAFTED RECOMBINANTS OF MURINE EPITHELIAL ROOT SHEATH AND DENTAL MESENCHYME. *Arch Oral Biol*; 34: 27–35; 1989.
- 400) Thomas HF. ROOT FORMATION. *Int J Dev Biol*; 39:231–7; 1995.

- 401) Thyagarajan, T., Sreenath, T., Cho, A., Wright, J. T., & Kulkarni, A. B. REDUCED EXPRESSION OF DENTIN SIALOPHOSPHOPROTEIN IS ASSOCIATED WITH DYSPLASTIC DENTIN IN MICE OVEREXPRESSING TRANSFORMING GROWTH FACTOR-BETA 1 IN TEETH. *J Biol Chem*, 276(14), 11016- 11020; 2001.
- 402) Torabinejad M, Chivian N. CLINICAL APPLICATIONS OF MINERAL TRIOXIDE AGGREGATE. *J Endod*; 25:197–205; 1999. [[PubMed](#)].
- 403) Torabinejad M, Faras H. A CLINICAL AND HISTOLOGICAL REPORT OF A TOOTH WITH AN OPEN APEX TREATED WITH REGENERATIVE ENDODONTICS USING PLATELET-RICH PLASMA. *J Endod.* ; 38(6):864–8; 2012. [[PubMed](#)].
- 404) Torabinejad M. MEDIATORS OF ACUTE AND CHRONIC PERIRRADICULAR LESIONS. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*; 78:511-21; 1994.
- 405) Torabinejad M, Turman M. REVITALIZATION OF TOOTH WITH NECROTIC PULP AND OPEN APEX BY USING PLATELET-RICH PLASMA: A CASE REPORT. *J Endod.*; 37(2):265–8; 2011. [[PubMed](#)].
- 406) Torneck CD, Moe H, Howley TP. THE EFFECT OF CALCIUM HYDROXIDE ON PORCINE PULP FIBROBLASTS *IN VITRO*. *Journal of Endodontics* 9, 131–6; 1983.
- 407) Torneck CD, Smith J. BIOLOGIC EFFECTS OF ENDODONTIC PROCEDURES ON DEVELOPING INCISOR TEETH: I—EFFECT OF PARTIAL AND TOTAL PULP REMOVAL. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*; 30:258–66; 1970.
- 408) Torneck CD, Smith JS, Grindall P. BIOLOGIC EFFECTS OF ENDODONTIC PROCEDURES ON DEVELOPING INCISOR TEETH: 3—EFFECT OF DEBRIDEMENT AND DISINFECTION PROCEDURES IN THE TREATMENT OF EXPERIMENTALLY INDUCED PULP AND PERIAPICAL DISEASE. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*; 35:532–40; 1973.
- 409) Torneck CD, Smith JS, Grindall P. BIOLOGIC EFFECTS OF ENDODONTIC PROCEDURES ON DEVELOPING INCISOR TEETH: II—EFFECT OF PULP INJURY AND ORAL CONTAMINATION. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*; 35:378–88; 1973.
- 410) Trevino EG, Patwardhan AN, Henry MA, Perry G, Dybdal-Hargreaves N, Hargreaves KM, Diogenes A. 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*; 37(8):1109–15; 2011.[[PubMed](#)].
- 411) Tronstad L, Barnett F, Cervone F. PERIAPICAL BACTERIAL PLAQUE IN TEETH REFRACTORY TO ENDODONTIC TREATMENT. *Endod Dent Traumatol*; 6:73-7; 1990.

- 412) Tziafas D, Amar S, Staubli A, Meyer JM, Ruch JV. EFFECTS OF GLYCOSAMINOGLYCANS ON *IN VITRO* MOUSE DENTAL CELLS. *Arch Oral Biol*; 33:735–40; 1988.
- 413) Tziafas D. BASIC MECHANISMS OF CYTODIFFERENTIATION AND DENTINOGENESIS DURING DENTAL PULP REPAIR. *Int J Dev Biol*; 39:281–90; 1995.
- 414) Tziafas D, Belibasakis G, Veis A, PAPADIMITRIOU S. DENTIN REGENERATION IN VITAL PULP THERAPY: DESIGN PRINCIPLES. *Adv Dent Res*; 15:96–100; 2001.
- 415) Tziafas D, Beltes P, Molyvdas I. THE CALCIFYING POTENTIAL OF THE PULPLESS OPEN APEX IN UNTREATED TEETH OF DOGS. *J Oral Pathol*; 16:368–71; 1987.
- 416) Tziafas D. DENTINOGENIC POTENTIAL OF THE DENTAL PULP: FACTS AND HYPOTHESES. *Endodontic Topics* 17, 42–64; 2010.
- 417) Tziafas D, Koliniotou-Koumpia E, Tziafa C, Papadimitriou S. EFFECTS OF A NEW ANTIBACTERIAL ADHESIVE ON THE REPAIR CAPACITY OF THE PULP-DENTINE COMPLEX IN INFECTED TEETH. *Int Endod J*; 40:58–66; 2007.
- 418) Tziafas D, Kolokuris I. INDUCTIVE INFLUENCES OF DEMINERALIZED DENTIN AND BONE MATRIX ON PULP CELLS: AN APPROACH OF SECONDARY DENTINOGENESIS. *J Dent Res*; 69:75–81; 1990.
- 419) Tziafas D, Panagiotakopoulos N, Komnenou A. IMMUNOLOCALIZATION OF FIBRONECTIN DURING THE EARLY RESPONSE OF DOG DENTAL PULP TO DEMINERALIZED DENTINE OR CALCIUM HYDROXIDE-CONTAINING CEMENT. *Archives of Oral Biology* 40, 23–31; 1995.
- 420) Tziafas D. REPARATIVE DENTINOGENESIS: A MONOGRAPH ON THE DENTINOGENIC POTENTIAL OF DENTAL PULP. *Thessaloniki, Greece: University Studio Press*; 1997.
- U
- 421) Urist MR. BONE: FORMATION BY AUTOINDUCTION. *Science*; 150(3698):893–9; 1965.[[PubMed](#)].
- V
- 422) van der Kooy D, Weiss S. WHY STEM CELLS. *Science*; 287: 1439–41; 2000.
- 423) van Steenberghe TJM, Delemarre FGA, Namavar F, De Graaff J. DIFFERENCES IN VIRULENCE WITHIN THE SPECIES BACTEROIDES GINGIVALIS. *Antonie van Leeuwenhoek*; 53:233-44; 1987.

- 424) van Winkelhoff AJ, Carlee AW, de Graaff J. BACTEROIDES ENDODONTALIS AND OTHER BLACK-PIGMENTED BACTEROIDES SPECIES IN ODONTOGENIC ABSCESES. *Infect Immun*; 49:494-8; 1985.
- 425) Verma P, Fouad A. WHAT IS THE PUBLIC HEALTH NEED FOR REGENERATIVE ENDODONTICS. *J Endod.* ; 38(3):e47; 2012.
- 426) Veron MH, Couble ML, Caillot G, Hartmann DJ, Magloire H. EXPRESSION OF FIBRONECTIN AND TYPE I COLLAGEN BY HUMAN DENTAL PULP CELLS AND GINGIVA FIBROBLASTS GROWN ON FIBRONECTIN SUBSTRATE. *Arch Oral Biol*; 35:565–9; 1990.
- W**
- 427) Wagers AJ, Weissman IL. PLASTICITY OF ADULT STEM CELLS. *Cell* 116, 639–48. 64.
- 428) Wayman BE, Murata SM, Almeida RJ, Fowler CB. A BACTERIOLOGICAL AND HISTOLOGICAL EVALUATION OF 58 PERIAPICAL LESIONS. *J Endod* 1992; 18:152-5; 2004.
- 429) Waltimo TMT, Sireén EK, Torkko HLK, Olsen I, Haapasalo MPP. FUNGI IN THERAPY-RESISTANT APICAL PERIODONTITIS. *Int Endod J*; 30:96-101; 1997.
- 430) Wang EA, Rosen V, D'Alessandro JS, Bauduy M, Cordes P, Harada T, Israel DI, Hewick RM, Kerns KM, LaPan P, et al. RECOMBINANT HUMAN BONE MORPHOGENETIC PROTEIN INDUCES BONE FORMATION. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 87(6):2220 4; 1990. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)].
- 431) Wang, F. M., Hu, T., & Zhou, X. P38 MITOGEN-ACTIVATED PROTEIN KINASE AND ALKALINE PHOSPHATASE IN HUMAN DENTAL PULP CELLS. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 102(1), 114-118; 2006.
- 432) Wang P, Hao J, Shi J. ACTIONS OF BOVINE PLASMA FIBRONECTIN ON CULTURED HUMAN DENTAL PULP CELLS. *Chinese Journal of Dental Research* 3, 55–62; 2000.
- 433) Wang S, Chen Z, Ning J, Gao P. CALCIUM HYDROXIDE REGULATES BONE SIALOPROTEIN GENE TRANSCRIPTION IN HUMAN DENTAL PULP CELLS. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*. Sep; 47(9):552-6. doi: 10.3760/cma.j.issn.1002-0098.2012.09.011; 2012.
- 434) Wang X, Thibodeau B, Trope M, Lin LM, Huang GT. HISTOLOGIC CHARACTERIZATION OF REGENERATED TISSUES IN CANAL SPACE AFTER

THE REVITALIZATION/REVASCLARIZATION PROCEDURE OF IMMATURE DOG TEETH WITH APICAL PERIODONTITIS. *J Endod*; 36:56–63; 2010.

- 435) Watt FM, Hogan BLM. OUT OF EDEN: STEM CELLS AND THEIR NICHES. *Science* 287, 1427–30; 2000.
- 436) Weissman IL. STEM CELLS: UNITS OF DEVELOPMENT, UNITS OF REGENERATION, AN UNITS IN EVOLUTION. *Cell*;100:157–68; 2000.
- 437) Whitney CG, Farley MM, Hadler J, et al. INCREASING PREVALENCE OF MULTIDRUG-RESISTANT STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE IN THE UNITED STATES. *N Engl J Med*; 343:1917-24; 2000.
- 438) Windley W, Teixeira F, Levin L, Sigurdsson A, Trope M. DISINFECTION OF IMMATURE TEETH WITH A TRIPLE ANTIBIOTIC PASTE. *J Endod*; 31:439–43; 2005. [[PubMed](#)].
- 439) Wigler R, Kaufman AY, Lin S, Steinbock N, Hazan-Molina H, Torneck CD. REVASCULARIZATION: A TREATMENT FOR PERMANENT TEETH WITH NECROTIC PULP AND INCOMPLETE ROOT DEVELOPMENT. *J Endod*; 39(3):319–26; 2013. [[PubMed](#)].
- 440) William T. Johnson y James C. Kulild, VÍAS DE LA PULPA, 10ª Edición, Edit. Elsevier Mosby, España. P. 349-371; 2011.
- 441) Wisakarn Boonpaisanseree, Kwanta Jaru-Ampornpan, Sittichai Koontongkaew , Pasutha Thunyakitpisal. ACEMANNAN STIMULATED DENTINE SIALOPHOSPHOPROTEIN EXPRESSION IN HUMAN DENTAL PULP CELL VIA P38 MITOGEN ACTIVATED PROTEIN KINASE. 2012.
- 442) Withers H, Swift S, Williams P. QUORUM SENSING AS AN INTEGRAL COMPONENT OF GENE REGULATORY NETWORKS IN GRAM-NEGATIVE BACTERIA. *Curr Opin Microbiol*; 4:186-93; 2001.
- 443) Witherspoon DE, Ham K. ONE-VISIT APEXIFICATION: TECHNIQUE FOR INDUCING ROOT-END BARRIER FORMATION IN APICAL CLOSURES. *Pract Proced Aesthet Dent*; 13:455–460; 2001.
- 444) Witherspoon D, Small J, Regan J, Nunn M. RETROSPECTIVE ANALYSIS OF OPEN APEX TEETH OBTURATED WITH MINERAL TRIOXIDE AGGREGATE. *J Endod*.; 34:1171 6; 2008. [[PubMed](#)].

- 445) Wongwerawinit, L. IN VITRO EFFECT OF ALOE VERA ON CELL PROLIFERATION AND COLLAGEN SYNTHESIS OF RAT DENTAL PULP CELLS. Mahidol university, Bangkok; 2004.
- 446) Wu Y, Chen L, Scott PG et al. MESENCHYMAL STEM CELLS ENHANCE WOUND HEALING THROUGH DIFFERENTIATION AND ANGIOGENESIS. *Stem cells* 25, 2648–59; (2007a).
- 447) Wu Y, Wang J, Scott PG et al. BONE-MARROW-DERIVED STEM CELLS IN WOUND HEALING: A REVIEW. *Wound Repair and Regeneration* 15, S18–26; (2007b).

X

- 448) Xiaojing Wang, DDS,*† Blayne Thibodeau, DMD, MS,‡ Martin Trope, DMD,§ Louis M. Lin, DMD, PhD,jj and George T.-J. Huang, DDS, MSD, DSc*. HISTOLOGIC CHARACTERIZATION OF REGENERATED TISSUES IN CANAL SPACE AFTER THE REVITALIZATION/REVASCLARIZATION PROCEDURE OF IMMATURE DOG TEETH WITH APICAL PERIODONTITIS. *J Endod*; 36:56–63; 2010.
- 449) Xiao, S., Yu, C., Chou, X., Yuan, W., Wang, Y., Bu, L., et al. DENTINOGENESIS IMPERFECT 1 WITH OR WITHOUT PROGRESSIVE HEARING LOSS IS ASSOCIATED WITH DISTINCT MUTATIONS IN DSPP. *Nat Genet*, 27(2), 201-204; 2001.
- 450) Xia T, Baumgartner JC, David LL. ISOLATION AND IDENTIFICATION OF *PREVOTELLA TANNERAE* FROM ENDODONTIC INFECTIONS. *Oral Microbiol Immunol*; 15:273-5; 2000.
- 451) Xu J, Wang W, Kapila Y, Lotz J, Kapila S. MULTIPLE DIFFERENTIATION CAPACITY OF STRO-1+/CD146+ PDL MESENCHYMAL PROGENITOR CELLS. *Stem Cells Dev.*; 18(3):487–96; 2009.[\[PMC free article\]](#) [\[PubMed\]](#).

Y

- 452) Yadlapati M, Souza LC, Dorn S, Garlet GP, Letra A, Silva RM. DELETERIOUS EFFECT OF TRIPLE ANTIBIOTIC PASTE IN HUMAN PERIODONTAL LIGAMENT FIBROBLASTS. *Int Endod J*. Nov 18. doi: 10.1111/iej.12216; 2013.
- 453) Yamaguchi T, Chattopadhyay N, Kifor O, Butters RR Jr, Sugimoto T, Brown EM. MOUSE OSTEOBLASTIC CELL LINE (MC3T3-E1) EXPRESSES EXTRACELLULAR CALCIUM (CA²⁺ + O⁻)- SENSING RECEPTOR AND ITS AGONISTS STIMULATE CHEMOTAXIS AND PROLIFERATION OF MC3T3 E1 CELLS. *Journal of Bone and Mineral Research* 13, 1530–8; 1998.

- 454) Yamakoshi, Y. DENTIN SIALOPHOPHOPROTEIN (DSPP) AND DENTIN. *J Oral Biosci*, 50(1), 33- 44; 2008.
- 455) Yamakoshi, Y. DENTINOGENESIS AND DENTIN SIALOPHOSPHOPROTEIN (DSPP). *J Oral Biosci*, 51(3), 134; 2009.
- 456) Yamamura T. DIFFERENTIATION OF PULPAL CELLS AND INDUCTIVE INFLUENCES OF VARIOUS MATRICES WITH REFERENCE TO PULPAL WOUND HEALING. *J Dent Res*; 64 Spec No:530-40; 1985. [[PubMed](#)]
- 457) Yamauchi N, Nagaoka H, Yamauchi S, Teixeira FB, Miguez P, Yamauchi M. IMMUNOHISTOLOGICAL CHARACTERIZATION OF NEWLY FORMED TISSUES AFTER REGENERATIVE PROCEDURE IN IMMATURE DOG TEETH. *J Endod*; 37(12):1636–41; 2011. [[PubMed](#)].
- 458) Yamauchi N, Yamauchi S, Nagaoka H, Duggan D, Zhong S, Lee SM, Teixeira FB, Yamauchi M. TISSUE ENGINEERING STRATEGIES FOR IMMATURE TEETH WITH APICAL PERIODONTITIS. *J Endod*; 37(3):390–7; 2011. [[PubMed](#)].
- 459) Yang X, van der Kraan PM, Bian Z, Fan M, Walboomers XF, Jansen JA. MINERALIZED TISSUE FORMATION BY BMP2-TRANSFECTED PULP STEM CELLS. *J Dent Res*; 88: 1020–5; 2009.
- 460) Yavari HR, Samiei M, Shahi S, Aghazadeh M, Jafari F, Abdolrahimi M, Asgary S. MICROLEAKAGE COMPARISON OF FOUR DENTAL MATERIALS AS INTRA-ORIFICE BARRIERS IN ENDODONTICALLY TREATED TEETH. *Iran Endod J*; 7(1):25–30; 2012. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)].
- 461) Yoshida K, Yoshida N, Nakamura H, Iwaku M, Ozawa H. IMMUNOLOCALIZATION OF FIBRONECTIN DURING REPARATIVE DENTINOGENESIS IN HUMAN TEETH AFTER PULP CAPPING WITH CALCIUM HYDROXIDE. *Journal of Dental Research* 75, 1590–7; 1996.
- 462) Yoshida T, Itoh T, Saitoh T, Sekine I. Histopathological study of the use of FREEZEDRIED ALLOGENIC DENTIN POWDER AND TRUE BONE CERAMIC AS APICAL BARRIER MATERIALS. *J Endod*; 24:581–6; 1998.
- 463) Young CS, Terada S, Vacanti JP, Honda M, Bartlett JD, Yelick PC. TISSUE ENGINEERING OF COMPLEX TOOTH STRUCTURES ON BIODEGRADABLE POLYMER.

Z

- 464) Zayzafoon M. CALCIUM/CALMODULIN SIGNALING CONTROLS OSTEOBLAST GROWTH AND DIFFERENTIATION. *Journal of Cellular Biochemistry* 97, 56–70; 2006.
- 465) Zeichner-David M, Oishi K, Su Z et al. ROLE OF HERTWIG'S EPITHELIAL ROOT SHEATH CELLS IN TOOTH ROOT DEVELOPMENT. *Development Dynamics* 228, 651–63; 2003.
- 466) Zhang W, Abukawa H, Troulis MJ, Kaban LB, Vacanti JP, Yelick PC. TISSUE ENGINEERED HYBRID TOOTH-BONE CONSTRUCTS. *Methods*; 47:122–8; 2009.
- 467) Zhang W, Walboomers XF, Shi S, Fan M, Jansen JA. MULTILINEAGE DIFFERENTIATION POTENTIAL OF STEM CELLS DERIVED FROM HUMAN DENTAL PULP AFTER CRYOPRESERVATION. *Tissue Eng*; 12:2813–23; 2006.
- 468) Zhang W, Walboomers XF, Van Kuppevelt TH, et al. *IN VIVO* EVALUATION OF HUMAN DENTAL PULP STEM CELLS DIFFERENTIATED TOWARDS MULTIPLE LINEAGES. *J Tissue Eng Regen Med*; 2:117–25; 2008.
- 469) Zhang W, Yelick PC. VITAL PULP THERAPY-CURRENT PROGRESS OF DENTAL PULP REGENERATION AND REVASCULARIZATION. *Int j dent*; 856087. 81:695–700; 2010.
- 470) Zheng Y, Wang XY, Wang YM, Liu XY, Zhang CM, Hou BX, Wang SL. DENTIN REGENERATION USING DECIDUOUS PULP STEM/PROGENITOR CELLS. *J Dent Res* ; 91(7):676–82; 2012.[[PubMed](#)].
- 471) Zhu W, Zhu X, Huang GT, Cheung GS, Dissanayaka WL, Zhang C. REGENERATION OF DENTAL PULP TISSUE IN IMMATURE TEETH WITH APICAL PERIODONTITIS USING PLATELET-RICH PLASMA AND DENTAL PULP CELLS. *Int Endod J*. In Press; 2013. [[PubMed](#)].
- 472) Zhu X, Zhang C, Huang GT, Cheung GS, Dissanayaka WL, Zhu W. TRANSPLANTATION OF DENTAL PULP STEM CELLS AND PLATELET-RICH PLASMA FOR PULP REGENERATION. *J Endod*; 38(12):1604–9; 2012. [[PubMed](#)]
- 473) Zussman WV. OSTEOGENIC ACTIVITY OF ODONTOBLASTS IN TRANSPLANTED TOOTH PULPS. *J Dent Res*; 45:144–51; 1966.
- 474) Zvi Metzger, Bettina Basrani y Harold E. Goodis, VÍAS DE LA PULPA, 10ª Edición, Edit. Elsevier Mosby, España. P. 252; 2011.