

A TRÍADE DA ENGENHARIA TECIDUAL APLICADA NA REGENERAÇÃO ENDODÔNTICA: UMA REVISÃO DE LITERATURA

*Tissue engineering triad applied in regenerative
endodontics: a literature review*

Joyce Karoline Neves Azevedo¹
Rodrigo Gadelha Vasconcelos²
Marcelo Gadelha Vasconcelos²

¹ Graduando(a) em
Odontologia pela Univer-
sidade Estadual da Paraíba
(UEPB), Campus VIII,
Araruna – Paraíba.

² Professor Doutor do
curso de Odontologia da
Universidade Estadual da
Paraíba (UEPB), Campus
VIII, Araruna – Paraíba.

Autor correspondente:
Rodrigo Gadelha Vasconcelos
rodrigogadelhavasconcelos@yahoo.com.br

Recebido em: 20/11/2020
Aceito em: 20/12/2020

AZEVEDO, Joyce Karoline Neves, VASCONCELOS, Marcelo Gadelha e VASCONCELOS, Rodrigo Gadelha. A tríade da engenharia tecidual aplicada na regeneração endodôntica: uma revisão de literatura. *SALUSVITA*, Bauru, v. 39, n. 4, p. 1093-1110, 2020.

RESUMO

Introdução: A remoção do tecido pulpar, seguida da restauração do canal radicular com material sintético inerte, costuma ser um procedimento rotineiro na prática clínica para terapia endodôntica, porém esses materiais não substituem a função biológica, a vitalidade e propriedades mecânicas do tecido original. Nesse contexto, a possibilidade de induzir a regeneração do complexo dentino-pulpar

com o uso de células-tronco de origem dental tem sido cada vez mais estudada, e a expectativa é gerar o retorno da vitalidade pulpar e sua capacidade de reparo. **Objetivo:** Realizar uma revisão bibliográfica com o intuito de investigar a tríade formada por células tronco, fatores de crescimento e arcabouço a fim de analisar a sua aplicabilidade na regeneração endodôntica. **Materiais e métodos:** Realizou-se uma revisão bibliográfica de estudos publicados nos últimos 5 anos (2015-2020) por meio da busca nas bases de dados: PubMed/Medline. Para a pesquisa foram utilizados os seguintes descritores: Células-tronco (*Stem cells*), Endodontia (*Endodontics*) e Regeneração endodôntica (*endodontic regeneration*). Após criteriosa filtragem, foram selecionados 25 artigos. **Revisão de literatura:** Pesquisas envolvendo a engenharia tecidual com o uso de células-tronco têm auxiliado a terapia regenerativa dos tecidos dentários, como o complexo dentino-pulpar. Para a completa restauração estrutural e funcional do dente são necessários um conjunto de elementos: as células-tronco; fatores de crescimento/diferenciação ou citocinas; fatores de migração/*homing* e o microambiente: arcabouço (*scaffold*) e matriz extracelular. **Conclusão:** A regeneração do complexo dentino-pulpar por meio da engenharia tecidual baseada em fatores de crescimento e arcabouços é uma abordagem promissora para substituir estruturas dentárias danificadas e restaurar suas funções biológicas. No entanto, por se tratar de uma nova abordagem, seus estudos ainda são incipientes, necessitando de mais base científica para comprovar sua eficácia.

Palavras-chave: Células-tronco, Engenharia de tecidos, Regeneração endodôntica.

ABSTRACT

Introduction: *The removal of pulp tissue followed by the restoration of the root canal with inert synthetic material is usually a routine procedure in clinical practice for endodontic therapy; however, these materials do not replace the biological function, the vitality, and mechanical properties of the original tissue. In this context, the possibility of inducing the regeneration of the dentin-pulp complex by using stem cells of dental origin has been increasingly studied, and the expectation is to generate the return of the pulp vitality and its repair capacity.* **Objective:** *To carry out a literature review to investigate the triad comprised by stem cells, growth factors, and framework to analyze its applicability in endodontic regeneration.* **Materials and methods:** *A bibliographic review of studies published in the*

AZEVEDO, Joyce
Karoline Neves,
VASCONCELOS,
Marcelo Gadelha e
VASCONCELOS, Rodrigo
Gadelha. A tríade da
engenharia tecidual
aplicada na regeneração
endodôntica: uma
revisão de literatura.
SALUSVITA, Bauru, v. 39,
n. 4, p. 1093-1110, 2020.

AZEVEDO, Joyce
Karoline Neves,
VASCONCELOS,
Marcelo Gadelha e
VASCONCELOS, Rodrigo
Gadelha. A tríade da
engenharia tecidual
aplicada na regeneração
endodôntica: uma
revisão de literatura.
SALUSVITA, Bauru, v. 39,
n. 4, p. 1093-1110, 2020.

last 5 years (2015-2020) was carried out by searching the databases: PubMed / Medline. The following descriptors were used: Stem cells, Endodontics, and Endodontic regeneration. After a careful filtering, 25 articles were selected. Literature review: Research involving tissue engineering with the use of stem cells has supported regenerative therapy of dental tissues, such as the dentin-pulp complex. For the complete structural and functional restoration of the tooth, a set of elements are needed: stem cells; growth/differentiation factors or cytokines; migration/homing factors, and the microenvironment: scaffold and extracellular matrix. Conclusion: The regeneration of the dentin-pulp complex through tissue engineering based on growth factors and frameworks is a promising approach to replace damaged dental structures and restore their biological functions. However, since it is a new approach, studies on this subject are still incipient and more scientific basis is necessary to prove its effectiveness.

Keywords: *Stem cells, Tissue engineering, Endodontic regeneration.*

INTRODUÇÃO

A cárie dentária é uma lesão infecciosa multifatorial que afeta o esmalte, a dentina, a polpa e ainda o cemento se a porção radicular do dente estiver envolvida. Tais lesões resultam na desmineralização do esmalte e dentina, podendo ocasionar uma reação inflamatória no tecido pulpar. Essa infecção da polpa dentária por invasão direta de bactérias cariogênicas ou como consequência de traumas requer, frequentemente, a remoção pulpar (AJAY SHARMA *et al.*, 2013).

A polpa é um tecido conjuntivo bastante vascularizado e inervado. Localiza-se na câmara pulpar do dente e é cercada por um tecido dentinário inelástico e não vascularizado. Durante a formação do dente, a dentina é produzida por células odontoblásticas específicas dispostas de forma em paliçada situadas na porção mais periférica da camada pulpar. A remoção do tecido pulpar é, geralmente, seguida da restauração do canal radicular com material sintético inerte, procedimento frequente na prática clínica endodôntica. Esses materiais, no entanto, não substituem a função biológica, a vitalidade e as propriedades mecânicas do tecido original (LAMBRICHTS *et al.*, 2017; ORTI *et al.*, 2018; ITOH *et al.*, 2018)

Nesse contexto, em que se visualiza o panorama atual, a regeneração tecidual com uso de células-tronco se torna uma realidade cada vez mais estudada, e ensaios pré-clínicos demonstram a viabilidade dessa terapia. Alguns requisitos básicos são encontrados, e o princi-

pal é o composto da tríade de elementos: a célula-tronco, o arcabouço tecidual e os fatores de indução de crescimento. Com a possibilidade de induzir a regeneração do complexo dentino-pulpar com uso de células-tronco de origem dental, a expectativa é gerar o retorno da vitalidade pulpar e de sua capacidade de reparo (DHILLON *et al.*, 2016; CHREPA *et al.*, FERRONI *et al.*, 2015).

As células-tronco são células primitivas com autorreplicação e com elevado potencial de diferenciação. Elas podem ser diferenciadas em várias células ou tecidos funcionais e órgãos sob certas condições, e são conhecidas como “Células Universais”. Portanto, as células-tronco desempenham um papel vital na regeneração e manutenção de tecidos e órgãos devido aos seus recursos exclusivos, como autorrenovação ilimitada, potencial de diferenciação e proliferação de tecidos. Com base em sua origem, foram identificados dois tipos de células com potencial para diferenciação, as células-tronco embrionárias e as células-tronco adultas (ZHAI *et al.*, 2018; KANEKO *et al.*, 2018; PILBAUEROVA *et al.*, 2019).

A partir destas considerações, pesquisas vêm sendo realizadas para identificar o protocolo ideal de regeneração tecidual do complexo dentino-pulpar. Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo geral revisar sobre a tríade formada por células tronco, fatores de crescimento e arcabouço, a fim de analisar a sua aplicabilidade na regeneração endodôntica.

MÉTODOS

Trata-se de um estudo de revisão da literatura sobre a utilização das células-tronco na endodontia. O levantamento bibliográfico de estudos publicados foi realizado no mês de junho de 2020 em bases de dados com os descritores indexados pelo Mesh (MEDLINE/PubMed). Na busca, foram utilizados os descritores “*Endodontic*”, “*Stem Cells*” e “*Endodontic regeneration*”. Como critérios de inclusão, foram adotados os artigos escritos em inglês; estudos transversais (prospectivos e retrospectivos), estudos longitudinais, ensaios clínicos randomizados, estudos de caso-controle, metanálise e revisão sistemática. Além daqueles que se enquadravam no enfoque e objetivo do trabalho, que foi avaliar a aplicabilidade da engenharia tecidual na regeneração endodôntica, e apresentavam os elementos que compõem a tríade. Foram observados e determinados alguns aspectos para a inclusão dos estudos na revisão, como a significância, a confiabilidade e clareza no detalhamento metodológico das informações apresentadas. Assim como foi indispensável a disponibilidade

AZEVEDO, Joyce
Karoline Neves,
VASCONCELOS,
Marcelo Gadelha e
VASCONCELOS, Rodrigo
Gadelha. A tríade da
engenharia tecidual
aplicada na regeneração
endodôntica: uma
revisão de literatura.
SALUSVITA, Bauru, v. 39,
n. 4, p. 1093-1110, 2020.

AZEVEDO, Joyce
Karoline Neves,
VASCONCELOS,
Marcelo Gadelha e
VASCONCELOS, Rodrigo
Gadelha. A tríade da
engenharia tecidual
aplicada na regeneração
endodôntica: uma
revisão de literatura.
SALUSVITA, Bauru, v. 39,
n. 4, p. 1093-1110, 2020.

integral do texto para sua inclusão no estudo e ter no máximo cinco anos de publicação.

Foram excluídos da amostra os artigos que não apresentaram relevância para o tema abordado, trabalhos de conclusão de curso, teses, dissertações e aqueles estudos que não se enquadraram nos critérios de inclusão. Desta forma, foram selecionados 25 trabalhos para inclusão na revisão após criteriosa filtragem.

REVISÃO DE LITERATURA

Células-tronco na regeneração endodôntica

As pesquisas com células-tronco dentárias isoladas têm ajudado a decifrar os processos de desenvolvimento do dente. No entanto, esse conhecimento não apenas apoia a criação de novas terapias, como também fundamenta o uso dessa tecnologia tecidual (MORSCZECK E REICHERT, 2017). A principal fonte de células-tronco adultas é a medula óssea, no entanto, inúmeros estudos têm isolado células altamente proliferativas, derivadas da polpa dentária. Constatou-se que tais células são multipotentes e possuem a capacidade de autorrenovar e de diferenciação em diversos tipos celulares (PILBAUE-ROVA et al., 2019).

As populações de células-tronco são potencialmente importantes para contribuir com os procedimentos de revitalização, incluindo células-tronco da polpa dentária (DPSCs), células-tronco da papila apical (SCAPs), células-tronco do ligamento periodontal humano (PDLSCs), bem como populações de células-tronco que residem centralmente, como células-tronco estromais da medula óssea humana (BMSSCs) e células-tronco hematopoiéticas (HSCs) (DUNCAN; KOBAYASHI; SHIMIZU, 2018).

Para que ocorra a aplicabilidade da terapia regenerativa dos tecidos dentários - engenharia tecidual, é fundamental uma combinação de elementos - tríade: células-tronco; fatores de crescimento/diferenciação ou citocinas e fatores de migração/homing; e o microambiente: arcabouço (scaffold) e matriz extracelular (NAKASHIMA et al., 2017).

Fatores de crescimento e de migração

Fatores de crescimento são polipeptídeos que estimulam a proliferação celular e são as principais moléculas reguladoras do cresci-

mento de células em cultura e *in vivo* (TSEKES *et al.*, 2019). Possuem uma meia-vida curta e são secretados em pequenas concentrações por uma ampla variedade de tecidos. Os fatores de crescimento são identificados em diversos tipos, muitos deles associados ao sistema imunológico, recebendo a denominação de citocinas (MOROTOMI; WASHIO; KITAMURA, 2018).

As técnicas de revitalização pulpar na Endodontia não se baseiam em uma população expandida de células-tronco sendo transplantada para o canal radicular, mas no uso de fatores de mobilização, incluindo fatores de crescimento, agentes quimiotáticos e outros fatores de sinalização para “atrair” as células ao sistema de canais radiculares via vascularização periapical. A migração, ou fatores de migração, é definida como o recrutamento de células-tronco endógenas da medula óssea e de outros locais específicos, sinalizando fatores de “mobilização” para o local da lesão para induzir o processo de reparo (DUNCAN; KOBAYASHI; SHIMIZU, 2018).

Os fatores de crescimento, em particular, são críticos para o sucesso do recrutamento das células e podem ser obtidos endogenamente a partir da matriz de dentina, células-tronco ou outras populações celulares, além de plasma rico em plaquetas (PRP) e fibrina rica em plaquetas (PRF) ou de forma exógena dentro de um arcabouço funcional contendo um ou vários fatores de crescimento (BEZGIN *et al.*, 2015). Variedades de fatores de crescimento são consideradas importantes no processo de reparo/regeneração endodôntica, incluindo aqueles direcionados à diferenciação celular da superfamília do fator de crescimento transformador e outros voltados para processos celulares, incluindo angiogênese, neurogênese e migração celular (SMITH *et al.*, 2016).

Microambiente

Para a bioengenharia de tecidos, uma matriz é essencial, pois fornece o arcabouço necessário para o transporte de nutrientes, oxigênio e resíduos metabólicos. Esse arcabouço deve ser biocompatível, não irritante e resistente. A matriz é composta por materiais sintéticos ou naturais. Os componentes da matriz funcionam ativando morfogêneses das células implantadas, enquanto esta é gradualmente degradada e substituída pelo tecido regenerado (SONG *et al.*, 2017).

Em outras palavras, os arcabouços ou andaimes são suportes nos quais as células-tronco podem ser cultivadas com o propósito de construir um tecido *in vitro*. São consideradas estruturas porosas tridimensionais, que fornecem sustentação mecânica ao

AZEVEDO, Joyce
Karoline Neves,
VASCONCELOS,
Marcelo Gadelha e
VASCONCELOS, Rodrigo
Gadelha. A tríade da
engenharia tecidual
aplicada na regeneração
endodôntica: uma
revisão de literatura.
SALUSVITA, Bauru, v. 39,
n. 4, p. 1093-1110, 2020.

AZEVEDO, Joyce
Karoline Neves,
VASCONCELOS,
Marcelo Gadelha e
VASCONCELOS, Rodrigo
Gadelha. A tríade da
engenharia tecidual
aplicada na regeneração
endodôntica: uma
revisão de literatura.
SALUSVITA, Bauru, v. 39,
n. 4, p. 1093-1110, 2020.

desenvolvimento celular bem como permitem o transporte de nutrientes, metabólitos, fatores de crescimento e outras moléculas regulatórias, tanto no sentido do meio extracelular para as células como o contrário. Para que os arcabouços (andaimos) funcionem corretamente, as propriedades mecânicas dos andaimos devem corresponder às propriedades mecânicas do tecido hospedeiro (DIS-SANAYAKA *et al.*, 2015).

Dentre os tipos de suporte para crescimento celular mais utilizado em pesquisas recentes têm-se: esponjas porosas, malhas, peptídeos, colágeno, fosfato de cálcio, ácido poli-L-lático (WIDBILLER *et al.*, 2018; ZHU *et al.*, 2018). Em geral, os arcabouços sintéticos representam o maior grupo de polímeros biodegradáveis com boas propriedades, além de uma alta relação superfície/volume, versatilidade na composição química e propriedades biológicas que mostram adequada maleabilidade e processabilidade. Polímeros de diversas propriedades têm sido utilizados na fabricação de arcabouços para diferentes aplicações. Uma das principais desvantagens dos arcabouços sintéticos é a inflamação local iniciada pela liberação de ácidos como seu subproduto de degradação (ITOH *et al.*, 2018).

Pesquisas envolvendo a tríade da engenharia tecidual na regeneração endodôntica

Tabela 1 - Informações coletadas dos estudos.

Autor e ano	Tipo de estudo	Tipo de célula-tronco	Tipo de arcabouço	Fatores de crescimento	Tempo de acompanhamento
Dissanayaka et al. (2015)	In vivo.	DPSCs e HUVECs.	Peptídeo hidrogel PuraMatrix®.	Fator de crescimento endotelial	4 semanas.
Ferroni et al. (2015)	In vitro.	DPSCs.	Hialuronano 3D.	Fenótipos neuronais, gliais, endoteliais e osteogênicos.	3 semanas.
Qu et al. (2015)	In vivo.	DPSCs.	Gelatina nanofibrosa 3D.	Colágeno I, Osteocalcina, odontoblasto, fosfatase alcalina.	4 semanas.
Tan et al. (2015)	In vitro	DPSCs.	Gel de ácido hialurônico reticulado (HAG), β -fosfato tricálcico (β -TCP) e ácido poliglicólico (PGA)	Fator de crescimento transformador- β 1 (TGF- β 1)	5 semanas
Tram e Doan (2015)	In vivo.	DPSCs.	hTD (dentina humana tratada) e arcabouço de MTA.	Odontoblasto Osteoblasto, Colágeno tipo I (COLIAI).	8 semanas.
Huang et al. (2016).	In vitro e in vivo.	DPSCs.	Não utilizaram.	Colágeno tipo I e fibronectina.	4 semanas.
Ito et al. (2016).	In vivo.	Células-tronco da medula óssea de rato.	Arcabouços biodegradáveis pré-formados e hidrogel.	Sialofosfoproteína dentinária/ Odontoblasto.	2 semanas.
Eramo et al. (2017)	Revisão sistemática.	DPSCs.	Gel de fibrina e colágeno.	Fibroblastos, fator de crescimento endotelial vascular, fator de crescimento derivado de plaquetas, fator de células-tronco e fator estimulador de colônias de granulócitos.	Não está claro.
Garzón et al. (2017)	In vivo.	DPSCs.	Poli (L-lactídeo) - Microesferas.	Nestina, odontoblasto, Osteocalcina (ONC) Colágeno tipo I (COLIAI).	6 semanas.

Matoug-Elwerfelli et al. (2017)	In vitro.	DPSCs.	Arcabouço de polpa descelularizado.	Colágeno tipo I e III, fibronectina.	2 semanas.
Piva et al. (2017)	In vivo.	DPSCs.	Poli (L-lactídeo) - Microesferas.	Fatores de crescimento exógenos (Soro fetal bovino e soro humano).	4 semanas.
Song et al. (2017)	In vitro.	SCAPs.	hTD (dentina humana tratada).	Colágeno tipo I e III.	5 semanas.
Itoh et al. (2018)	In vitro e in vivo.	DPSCs.	Não utilizaram.	Ácido ascórbico, glicerofosfato e dexametasona.	6 semanas.
Silva et al. (2018)	In vitro.	DPSCs.	Hidrogéis injetáveis de ácido hialurônico enriquecidos com lisado de plaquetas 3D.	Fator de crescimento endotelial vascular, fator de crescimento derivado de plaquetas.	3 semanas.
Xuan et al. (2018)	Ensaio clínico randomizado controlado.	hDPSC.	Não utilizaram.	Ácido hialurônico e lisado de plaquetas.	12 meses.
Zhu et al. (2018)	In vitro e in vivo.	sDPSCs.	Poli (L-lactídeo) / glicolídeo.	Nestina e sialofosfoproteína de dentina.	5 meses.
Meza et al. (2019)	In vivo	DPSCs.	Não utilizaram.	Fibrina rica em plaquetas de leucócitos.	3 anos.

Na pesquisa de Dissanayaka *et al.* (2015), o peptídeo hidrogel PuraMatrix® foi usado como um sistema de arcabouço para verificar o papel das DPSCs no desencadeamento da angiogênese e o potencial de regeneração endodôntica *in vitro* e *in vivo*. Células endoteliais da veia umbilical humana (HUVECs) e DPSCs foram cultivadas em PuraMatrix® tridimensional. O microambiente de nanofibras peptídicas suportou a sobrevivência celular, a migração celular e a formação de redes capilares na ausência de fatores de crescimento exógenos. Os DPSCs aumentaram a formação precoce da rede vascular, facilitando a migração de HUVECs e aumentando a expressão do fator de crescimento endotelial vascular. Os grupos DPSC de monocultura (um único tipo de cultura) e cocultura (técnica de cultivo *in vitro* de uma mistura de tipos celulares) exibiram tecido vascularizado semelhante à polpa com áreas de osteodentina após o transplante em camundongos. Os grupos cocultivados exibiram mais matriz extracelular, vascularização e mineralização do que as monoculturas DPSC *in vivo*.

Ferroni *et al.* (2015) apresentaram um método *in vitro* de regeneração endodôntica baseado no uso de um arcabouço tridimensional de hialuronano utilizando DPSCs para produzir um tecido funcional semelhante à polpa dental. Uma população enriquecida de DPSCs foi cultivada em malhas não teciduais à base de hialuronano na presença de fatores de diferenciação para induzir o comprometimento das células-tronco com fenótipos neuronais, gliais, endoteliais e osteogênicos. Experimentos *in vitro* com duração de 3 semanas, entre os quais o perfil de expressão gênica e a coloração por imunofluorescência (IF), comprovaram a diferenciação das DPSCs com os principais componentes do tecido pulpar dental. Em particular, o resultado do “hyaluronan-DPSCs” mostrou uma morfologia parecida com a polpa dental consistindo em várias células especializadas crescendo dentro das fibras hialuronanas.

No estudo de Qu *et al.* (2015), as DPSCs foram usadas em um arcabouço tridimensional de gelatina nanofibrosa (NF-gelatina) de alta rigidez e baixa rigidez no intuito de formar o citoesqueleto e a polpa, respectivamente. Um método fácil foi desenvolvido para integrar as matrizes de gelatina de baixa e alta rigidez em um único suporte para regeneração do complexo dentino-pulpar. O experimento *in vitro* de 4 semanas mostrou que a biomineralização ocorreu apenas na área periférica de alta rigidez e formou uma estrutura em forma de anel ao redor da área central não mineralizada do construto “DPSCs-arcabouço”. Um complexo e completo material dentino-pulpar semelhante ao complexo dentino-pulpar natural foi regenerado com sucesso após o implante subcutâneo do arcabouço em camundongos

AZEVEDO, Joyce
Karoline Neves,
VASCONCELOS,
Marcelo Gadelha e
VASCONCELOS, Rodrigo
Gadelha. A tríade da
engenharia tecidual
aplicada na regeneração
endodôntica: uma
revisão de literatura.
SALUSVITA, Bauru, v. 39,
n. 4, p. 1093-1110, 2020.

AZEVEDO, Joyce
Karoline Neves,
VASCONCELOS,
Marcelo Gadelha e
VASCONCELOS, Rodrigo
Gadelha. A tríade da
engenharia tecidual
aplicada na regeneração
endodôntica: uma
revisão de literatura.
SALUSVITA, Bauru, v. 39,
n. 4, p. 1093-1110, 2020.

por 4 semanas. A coloração histológica mostrou uma quantidade significativa de formação de matriz extracelular (MEC) no complexo dentina-polpa recém-formado, e vários vasos sanguíneos foram observados no tecido pulpar.

Tan *et al.* (2015) utilizaram um método de engenharia de tecido injetável, usando gel de ácido hialurônico reticulado (HAG) e o fator de crescimento transformador- β 1 (TGF- β 1). Além disso, o β -fosfato tricálcico (β -TCP) e o ácido poliglicólico (PGA) foram respectivamente escolhidos como arcabouços de controle para polpa e dentina na regeneração. O HAG, TGF- β 1 e DPSCs foram implantados em fatias de dentes vazios e câmara pulpar de mini porcos. Foi realizada coloração histológica e imuno-histoquímica para identificar a dentina tubular distinta e a estrutura pulpar. Em seus resultados, a dentina destruída foi reparada com a formação de tecido semelhante a polpa, devolvendo ao dente comprometido sua restituição.

No ensaio pré-clínico *in vivo* realizado por Tram e Doan (2015), DPSCs foram isoladas e cultivadas. As amostras de dentina foram preparadas a partir de terceiros molares humanos e tratadas com ácido etileno diamino tetra-acético e ácido cítrico para remover a camada de esfregaço. Em seguida, os DPSCs foram cultivados em dentina tratada humana (hTD) e implantados em modelo de camundongo por 4, 6 e 8 semanas. Os enxertos resultantes foram avaliados por coloração com hematoxilina, eosina e manchas imuno-histoquímicas. Como resultado, DPSCs foram estimuladas e induzidas a regenerar tecido dentinário que expressava marcadores de dentina específicos, como sialofosfoproteína de dentina e proteína da matriz de dentina por combinação com hTD *in vivo*.

Hang *et al.*, (2016) verificaram o uso de exossomos, que são pequenas esferas de gordura e proteína presentes no corpo humano, como ferramentas biomiméticas (estudo das estruturas biológicas e das suas funções) de indução e diferenciação de células-tronco. Foi constatado o potencial desses exossomos derivados de células da polpa dentária, que quando cultivadas em meio adequado, induziam a diferenciação da DPSCs e células estromais da medula óssea humana (HMSCs) *in vitro e in vivo*. Os resultados indicaram que os exossomos podem se ligar às proteínas da matriz, como colágeno tipo I e fibronectina, permitindo que sejam ligados aos biomateriais. Além disso, eles também desencadeiam o aumento da expressão de genes necessários para a diferenciação odontogênica. Quando testados *in vivo*, em um modelo da fatia da raiz do dente com DPSCs, foi desencadeada a regeneração do tecido semelhante às estruturas dentais, que isolados sob condições odontogênicas, são melhores indutores da diferenciação de células-tronco e regeneração tecidual.

Em um ensaio pré-clínico *in vitro*, Song *et al.* (2017) extraíram de forma aleatória terceiros molares livres de cáries e restaurações em pacientes, com idade entre 17 e 25 anos, para realizar procedimentos endodônticos regenerativos. Esses procedimentos contaram com a transferência de células-tronco posicionadas apicalmente, incluindo células-tronco da papila apical (SCAP), para o sistema de canais radiculares. Fatias de dentes de terceiros molares humanos foram descelularizados por três diferentes métodos para serem usados como um potencial arcabouço de autoenxerto, preservando a composição, a morfologia e funções de suporte das células-tronco. Os resultados mostraram que a regeneração da estrutura apoiou a proliferação de SCAP em toda a estrutura com diferenciação em células semelhantes a odontoblastos próximos das paredes dentinárias. Assim, este estudo relata que a polpa dentária humana de dentes extraídos saudáveis pode ser descelularizada com sucesso, e o arcabouço resultante suporta a proliferação e diferenciação de SCAP.

Garzón *et al.* (2017) combinaram DPSCs com dois tipos de arcabouços de microesfera injetável de ácido poli-l-láctico (PLLA) com uma superfície nanofibrosa ou lisa para formar agregados bioativos injetáveis e examinaram sua capacidade de promover a regeneração da polpa no canal radicular em um modelo *in vivo e in vitro*. Portanto, aproximadamente cinco hDPSCs foram cultivados em cada microesfera (proporção de 5: 1 em ambos os tipos), e a suspensão de células foi misturada com a superfície fibrosa e lisa das microesferas durante três horas, em um sistema de cultura em rolo para favorecer a fixação das células à superfície de ambos os arcabouços injetáveis. Os resultados demonstraram que microesferas de PLLA e DPSCs foram capazes de formar agregados injetáveis bioativos que promoveram a regeneração dentinária.

Em uma revisão sistemática feita por Eramo *et al.* (2017), 10 estudos preencheram os critérios de inclusão. Resultados de estudos *in vitro* destacaram a funcionalidade das múltiplas citocinas com capacidade de induzir migração, proliferação e diferenciação de DPSCs. A maioria dos estudos *in vivo* obtiveram tecidos regenerados semelhantes à polpa com neovascularização. Em alguns casos, as amostras mostraram nova inervação e nova deposição de dentina. A regeneração endodôntica *in situ* recuperou tecidos intracanal semelhantes à polpa com neovascularização, inervação e formação de dentina.

Em um relato de caso, Meza *et al.* (2019) buscaram descrever uma terapia celular autóloga regenerativa utilizando DPSCs inflamada e fibrina rica em plaquetas de leucócitos (L-PRF) em um dente permanente. O paciente de 50 anos apresentava dor dentária espontânea no

AZEVEDO, Joyce
Karoline Neves,
VASCONCELOS,
Marcelo Gadelha e
VASCONCELOS, Rodrigo
Gadelha. A tríade da
engenharia tecidual
aplicada na regeneração
endodôntica: uma
revisão de literatura.
SALUSVITA, Bauru, v. 39,
n. 4, p. 1093-1110, 2020.

AZEVEDO, Joyce
Karoline Neves,
VASCONCELOS,
Marcelo Gadelha e
VASCONCELOS, Rodrigo
Gadelha. A tríade da
engenharia tecidual
aplicada na regeneração
endodôntica: uma
revisão de literatura.
SALUSVITA, Bauru, v. 39,
n. 4, p. 1093-1110, 2020.

dente 28 e foi diagnosticado com pulpíte irreversível sintomática. A polpa dental inflamada foi extraída e transportada para um laboratório para o isolamento e a cultura de DPSCs. O L-PRF foi obtido do sangue do paciente e introduzido no canal radicular instrumentado e desinfetado, e DPSCs expandidas foram inoculadas no coágulo. Os exames de acompanhamento foram realizados 6 meses e 3 anos depois e as avaliações clínicas revelaram respostas normais aos testes de percussão e palpação. O dente teve uma resposta tardia ao frio e o teste da polpa elétrica foi responsivo, demonstrando um resultado satisfatório desse método inovador.

Xuan *et al.* (2018) analisaram, em um ensaio clínico randomizado e controlado, a regeneração endodôntica contendo nervos sensoriais. O estudo contou com 36 pacientes apresentando polpa necrótica; desses, 26 pacientes foram selecionados para o grupo de implantação de células-tronco da polpa decidua humana (hDPSC) e 10 pacientes para o grupo que recebeu tratamento tradicional de apicificação. Foram examinados 26 pacientes (26 dentes) após implantação de hDPSC e 10 pacientes (10 dentes) após tratamento de apicificação. Apenas a implantação de hDPSC no tratamento levou à reconstrução do tecido semelhante a polpa, exibindo vasos sanguíneos e nervos sensoriais 12 meses após o tratamento.

Silva *et al.* (2018) propuseram um sistema de hidrogel fotocruzável a base de ácido hialurônico (HA) e plasma rico em plaquetas (PL), produto resultante da dissolução de tecidos ou moléculas orgânicas pela ação de agentes físicos, químicos ou biológicos. O PL é um coquetel de fatores de crescimento (GFs) e citocinas envolvidas no processo de cicatrização de feridas. Hidrogéis de HA estáveis que incorporam PL (HAPL) foram preparados após a fotoligação do HA metacrilado (Met-HA) previamente dissolvido em PL. Tanto os hidrogéis de HAPL quanto os de HA simples demonstraram ser capazes de recrutar células de uma monocamada celular de células-tronco das hDPSCs isoladas de dentes permanentes. O metabolismo celular e a quantificação de DNA foram maiores, em todos os momentos, para os hidrogéis suplementados com PL. Atividade da fosfatase alcalina (ALPL) e picos de quantificação de cálcio foram observados no grupo HAPL aos 21 dias. No geral, os dados demonstraram que os hidrogéis de HA que incorporam PL aumentaram o metabolismo celular e estimularam a deposição da matriz mineralizada por hDPSCs, fornecendo evidências claras do potencial do sistema proposto para o reparo de tecidos danificados do complexo dentino-pulpar e regeneração endodôntica.

No estudo de Piva *et al.* (2017), DPSCs foram isoladas de terceiros molares e expandidas em condições de cultura padrão contendo soro

humano (DPSCs-HS). Após a caracterização celular e a avaliação de seu secretoma angiogênico, que são proteínas secretadas no espaço extracelular, os DPSCs foram semeados em fatias de arcabouços dentários e implantados subcutaneamente em camundongos imunodeficientes. Após 30 dias, fatias de dentes foram recuperadas e avaliadas quanto à regeneração de tecidos da polpa dentária e foi observada a formação de vasos sanguíneos e dentina. *In vivo*, determinou-se que DPSCs-HS produziram uma elevada resposta angiogênica e regeneração de dentinária. As implicações desses achados são significativas para o desenvolvimento de protocolos clínicos usando DPSCs em terapias celulares.

Itoh *et al.* (2018) analisaram a viabilidade DPSC para uso odontológico na regeneração endodôntica em estudos *in vitro* e *in vivo*. Para o estudo *in vitro*, foi utilizado DPSC - agregados de DPSCs com um hidrogel termosensível. Para o estudo *in vivo*, foi preenchido o canal radicular do dente humano com DPSC e também o mesmo modelo foi implantado por via subcutânea em camundongos imunodeficientes. Foram encontrados tecidos semelhantes à polpa, ricos em vasos sanguíneos, formados dentro do canal radicular humano em 6 semanas após o implante. Análises histológicas revelaram que DPSCs transplantados se diferenciaram em células semelhantes a odontoblastos nos locais em contato com dentina. Além disso, os tecidos ricos em vasos sanguíneos puderam ser formados com DPSCs sem necessidade de arcabouços ou fatores de crescimento.

Um protocolo de Ito *et al.* (2016) foi pensado para engenharia de tecido pulpar *in vivo* em dentes de rato pulpotomizados usando construções de células-tronco mesenquimais da medula óssea de rato em arcabouços biodegradáveis pré-formados e hidrogel. As estruturas foram implantadas em câmaras de polpa pulpotomizadas e os resultados foram analisados em três, sete ou 14 dias. Ao terceiro dia, as células foram localizadas principalmente ao longo dos arcabouços pré-formados. Ao sétimo dia, a regeneração endodôntica foi observada em quase toda a região implantada. Aos 14 dias, a regeneração do tecido progrediu ainda mais em toda a região implantada, constando assim sucesso dessa terapia.

Polpas dentárias humanas descelularizadas foram avaliadas usando métodos histológicos e imuno-histoquímicos no estudo de Matoug-Elwerfelli *et al.* (2017). Também foram realizados ensaios de citotoxicidade para determinar a biocompatibilidade de arcabouços descelularizados. Esses arcabouços foram semeados com DPSCs e tiveram sua viabilidade celular foi analisada. A avaliação dos tecidos descelularizados revelou uma matriz acelular com preservação da histoarquitetura e composição dos tecidos nativos. Os tecidos não

AZEVEDO, Joyce
Karoline Neves,
VASCONCELOS,
Marcelo Gadelha e
VASCONCELOS, Rodrigo
Gadelha. A tríade da
engenharia tecidual
aplicada na regeneração
endodôntica: uma
revisão de literatura.
SALUSVITA, Bauru, v. 39,
n. 4, p. 1093-1110, 2020.

AZEVEDO, Joyce
Karoline Neves,
VASCONCELOS,
Marcelo Gadelha e
VASCONCELOS, Rodrigo
Gadelha. A tríade da
engenharia tecidual
aplicada na regeneração
endodôntica: uma
revisão de literatura.
SALUSVITA, Bauru, v. 39,
n. 4, p. 1093-1110, 2020.

mostraram evidência de citotoxicidade, com crescimento celular em contato direto com o arcabouço e nenhuma redução na atividade celular após a incubação do extrato. Além disso, o arcabouço foi capaz de suportar a viabilidade e fixação de células-tronco da polpa dental humana após a recelularização.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A regeneração endodôntica, usando uma estratégia de engenharia de tecidos baseada em células-tronco, fatores de crescimento e arcabouços teciduais é uma abordagem promissora para substituir estruturas dentárias danificadas e superar os problemas de limitação dos dentes comprometidos. Contudo, alguns autores não utilizam os arcabouços ou “*scaffolds*” em suas pesquisas por defenderem que ele aumenta o risco de inflamação e infecção. No que se refere ao uso das células tronco, a maioria dos artigos destacou que essas estavam presentes naturalmente no processo da regeneração endodôntica, apenas um autor fez a inserção delas por meio de procedimentos laboratoriais. Como resultados dos estudos, foi mostrado que a engenharia tecidual permitiu a estimulação do desenvolvimento e a maturação radicular dos dentes comprometidos. No entanto, por se tratar de uma nova abordagem, seus estudos ainda são incipientes, necessitando de mais base científica e estudos clínicos para comprovar sua eficácia, embora a maioria dos estudos aqui abordados apresentaram resultados bem promissores.

REFERÊNCIAS

- AJAY SHARMA, L.; SHARMA, A.; DIAS, G. J. Advances in regeneration of dental pulp - a literature review. **Journal of Investigative and Clinical Dentistry**, Richmond, v.6, n.2, p. 85-98, 2013.
- BEZGIN, T.; YILMAZ, A. D.; CELIK, B. N.; KOLSUZ, M. E.; SONMEZ, H. Efficacy of Platelet-rich Plasma as a Scaffold in Regenerative Endodontic Treatment. **Journal of Endodontics**, Chicago, v.41, n.1, p.36-44, 2015.
- CHREPA, V. *et al.* Delivery of apical mesenchymal stem cells into root canals of mature teeth. **Journal of dental research**, Chicago, v.94, n.12, p. 1653-1659, 2015.
- DISSANAYAKA, W. L.; HARGREAVES, K. M.; JIN, L.; SAMARANAYAKE, L. P.; ZHANG, C. The Interplay of Dental Pulp Stem Cells and Endothelial Cells in an Injectable Peptide Hydrogel on Angiogenesis and Pulp Regeneration In Vivo. **Tissue Engineering Part A**, New Rochelle, v.21, n.3-4, p.550-563, 2015.
- DHILLON, H.; KAUSHIK, M.; SHARMA, R. Regenerative endodontics—creating new horizons. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, Hoboken, v.104, n.4, p. 676-685, 2016.
- DUNCAN, H. F.; KOBAYASHI, Y.; SHIMIZU, E. Growth Factors and Cell Homing in Dental Tissue Regeneration. **Relatórios atuais de saúde bucal**, Basel, v5, p.276-285, 2018.
- ERAMO, S.; NATALI, A.; PINNA, R.; MILIA, E. Dental pulp regeneration via cell homing. **International Endodontic Journal**, Oxford, v.51, n.4, p.405-419, 2017.
- FERRONI, L. *et al.* A hyaluronan-based scaffold for the in vitro construction of dental pulp-like tissue. **International journal of molecular sciences**, Basel, v. 16, n.3, p. 4666-4681, 2015.
- HUANG, C. C.; NARAYANAN, R.; ALAPATI, S.; RAVINDRAN, S. Exosomes as biomimetic tools for stem cell differentiation: Applications in dental pulp tissue regeneration. **Biomaterials**, Guilford, v.111, p.103-115, 2016.
- GARZÓN, I. *et al.* Bioactive injectable aggregates with nanofibrous microspheres and human dental pulp stem cells: A translational strategy in dental endodontics. **Journal of tissue engineering and regenerative medicine**, Chichester, v12, n1, p.204-216, 2017.
- AZEVEDO, Joyce
Karoline Neves,
VASCONCELOS,
Marcelo Gadelha e
VASCONCELOS, Rodrigo
Gadelha. A tríade da
engenharia tecidual
aplicada na regeneração
endodôntica: uma
revisão de literatura.
SALUSVITA, Bauru, v. 39,
n. 4, p. 1093-1110, 2020.

AZEVEDO, Joyce
Karoline Neves,
VASCONCELOS,
Marcelo Gadelha e
VASCONCELOS, Rodrigo
Gadelha. A tríade da
engenharia tecidual
aplicada na regeneração
endodôntica: uma
revisão de literatura.
SALUSVITA, Bauru, v. 39,
n. 4, p. 1093-1110, 2020.

ITOH, Y.; SASAKI, J. I.; HASHIMOTO, M.; KATATA, C.; HAYASHI, M.; IMAZATO, S. Pulp Regeneration by 3-dimensional Dental Pulp Stem Cell Constructs. **Journal of Dental Research**, Chicago v.97, n.10, p.1137–1143, 2018.

ITO, T.; KANEKO, T.; SUEYAMA, Y.; KANEKO, R.; OKIJI, T. Dental pulp tissue engineering of pulpotomized rat molars with bone marrow mesenchymal stem cells. **Odontology**, Tokyo, v.105, n.4, p.392-397, 2016.

KANEKO, T. *et al.* Dental Pulp Tissue Engineering Using Mesenchymal Stem Cells: a Review with a Protocol. **Stem Cell Reviews and Reports**, Totowa, v.14, n.5, p.668-676, 2018.

LAMBRICHTS, I. *et al.* Dental Pulp Stem Cells: Their Potential in Reinnervation and Angiogenesis by Using Scaffolds. **Journal of Endodontics**, Chicago, n.43, n.9, p.12-16, 2017.

MATOUG-ELWERFELLI, M.; DUGGAL, M. S.; NAZZAL, H.; ESTEVES, F.; RAÏF, E. A biocompatible decellularized pulp scaffold for regenerative endodontics. **International Endodontic Journal**, Oxford, v.51, n.6, p.663-673, 2017.

MEZA, G. *et al.* Personalized Cell Therapy for Pulpitis Using Autologous Dental Pulp Stem Cells and Leukocyte Platelet-rich Fibrin: A Case Report. **Journal of Endodontics**, Chicago, v.45, n.2, p.144-149, 2019.

MOROTOMI, T.; WASHIO, A.; KITAMURA, C. Current and future options for dental pulp therap. Revisão japonesa da ciência dental, Amsterdam, v.55, n.1, p.5-11 2018.

MORSCZECK, C.; REICHERT, T. E. Dental stem cells in tooth regeneration and repair in the future. **Expert Opinion on Biological Therapy**, Londres, v.18, n.2, p.187-196, 2017.

NAKASHIMA, M. *et al.* Pulp regeneration by transplantation of dental pulp stem cells in pulpitis: a pilot clinical study. **Stem Cell Research & Therapy**, Londres, v.8, n.1, 2017.

ORTI, V.; COLLART-DUTILLEUL, P.-Y.; PIGLIONICO, S.; PALL, O.; CUISINIER, F.; PANAYOTOV, I. Pulp Regeneration Concepts for Nonvital Teeth: From Tissue Engineering to Clinical Approaches. **Tissue Engineering**, New Rochelle, v.24, n.6, p.419-442, 2018.

PILBAUEROVA, N; SOUKUP, T; SUCHÁNKOVÁ KLEPLOVÁ, T; SUCHÁNEK, J. Enzymatic isolation, amplification and characterization of dental pulp stem cells. **Folia biol (praha)**, Praha, v.65, n.3, p.124-133, 2019.

PIVA, E. *et al.* Dental Pulp Tissue Regeneration Using Dental Pulp Stem Cells Isolated and Expanded in Human Serum. **Journal of Endodontics**, Chicago, v.43, n.4, p.568-574, 2017.

QU, T. *et al.* Complete pulpodentin complex regeneration by modulating the stiffness of biomimetic matrix. **Acta biomaterialia**, Kidlington, v. 16, p. 60-70, 2015.

SILVA, C. R. *et al.* Injectable and tunable hyaluronic acid hydrogels releasing chemotactic and angiogenic growth factors for endodontic regeneration. **Acta Biomaterialia**, Kidlington, v.77, p.155-171, 2018.

SMITH, A. J.; DUNCAN, H. F.; DIÓGENES, A.; SIMON, S.; COOPER, P. R. Exploiting the Bioactive Properties of the Dentin-Pulp Complex in Regenerative Endodontics. **Journal of Endodontics**, New York, v.42, p.47-56, 2016.

SONG, J. S. *et al.* Decellularized human dental pulp as a scaffold for regenerative endodontics. **Journal of Dental Research**, Chicago, v.96, n.6, p.640-446, 2017.

TAN, L. *et al.* Regeneration of dentin-pulp-like tissue using an injectable tissue engineering technique. **RSC Advances**, v.5, n.73, p.59723-59737, 2015.

TRAN, H. L. B.; DOAN, V. N. Human dental pulp stem cells cultured onto dentin derived scaffold can regenerate dentin-like tissue in vivo. **Cell and tissue banking**, Dordrecht, v. 16, n. 4, p. 559-568, 2015.

TSEKES, D.; KONSTANTOPOULOS, G.; KHAN, W. S.; ROSSOUW, D.; ELVEY, M.; SINGH, J. Use of stem cells and growth factors in rotator cuff tendon repair. **European Journal of Orthopaedic Surgery & Traumatology**, Paris, v.10, n.1, p.5-10, 2019.

WIDBILLER, M. *et al.* Cell Homing for Pulp Tissue Engineering with Endogenous Dentin Matrix Proteins. **Journal of Endodontics**, Chicago, v.44, n.6, p.956-962, 2018.

XUAN, K. *et al.* Deciduous autologous tooth stem cells regenerate dental pulp after implantation into injured teeth. **Science Translational Medicine**, Washington, v.10, n.455, 2018.

ZHAI, Q; DONG, Z.; WANG, W.; LI, B.; JIN, Y. Dental stem cell and dental tissue regeneration. **Frontiers of Medicine**, Beijing, v.13, n.2, p.152-159, 2019.

ZHU, X. *et al.* A Miniature Swine Model for Stem Cell-Based De Novo Regeneration of Dental Pulp and Dentin-Like Tissue. **Tissue Engineering Part C: Methods**, New Rochelle, v.24, n.2, p.108-120, 2018.

AZEVEDO, Joyce
Karoline Neves,
VASCONCELOS,
Marcelo Gadelha e
VASCONCELOS, Rodrigo
Gadelha. A tríade da
engenharia tecidual
aplicada na regeneração
endodôntica: uma
revisão de literatura.
SALUSVITA, Bauru, v. 39,
n. 4, p. 1093-1110, 2020.