

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

BRUNNO RAXYSON GOMES DA SILVA



MACEIÓ - AL
2023.2

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

BRUNNO RAXYSON GOMES DA SILVA

**CONCEITOS E TÉCNICAS DE REGENERAÇÃO PULPAR: REVISÃO
INTEGRATIVA DA LITERATURA**



Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Alagoas, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Bacharel em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Daniel Pinto de Oliveira

MACEIÓ - AL

2023.2

Catálogo na Fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

S586c Silva, Brunno Raxyson Gomes da.

Conceitos e técnicas de regeneração pulpar : revisão integrativa da literatura / Brunno Raxyson Gomes da Silva. – 2023.

[37] f. : il.

Orientador: Daniel Pinto de Oliveira.

Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Odontologia) – Universidade Federal de Alagoas. Faculdade de Odontologia. Maceió, 2023.

Bibliografia: f. 33-35.

Apêndices: f. [36].

Anexos: f. [37].

1. Polpa dentária - Regeneração. 2. Engenharia tecidual. 3. Endodontia regenerativa. I.
Título.

CDU: 616.314.18-003.93

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Jenilson e Rosemere, por eles eu estou concluindo com imensa alegria esta etapa na vida.

A minha irmã Brunna, que sempre esta disposta a ajudar, foi de grande importância nessa caminhada.

A minha amiga convivente do apartamento 209 Bloco 2, Suzana, que desde 2019 participou voluntária e involuntariamente com enorme paciência.

Aos meus demais amigos, os externos que torceram e torcem por mim, e os da faculdade, em especial aqueles que formamos dupla de atendimento nas clínicas da faculdade: Flávia, Izabela, Deivid e Bruna Machado, amiga que sempre me inspirou e ajudou nos ensaios para a apresentação deste trabalho.

Aos meus parceiros André e Leonardo, com eles dividi dores e alegrias durante o curso, tornaram a jornada mais palatável.

A todos os professores que me inspiraram, em especial aqueles orientadores de cada ciclo: Janylle na monitoria de Histologia, Camila na monitoria de Patologia Bucal, Daniel no grupo de estudos para o TCC, preceptora Clarisse no HGE, preceptora Cibely no finalzinho do ciclo do interior do estágio extramuros e ao professor Antonio Amorim, na monitoria de Saúde Coletiva 1, disciplina que despertou o interesse na área da residência de saúde da família em que fui aprovado para o programa do Fundo Municipal de Cascavel PR em 23/02/2024.

Indubitavelmente, gratidão!

“A experiência é uma lanterna dependurada nas costas que apenas ilumina o caminho já percorrido.”

Confúcio

[Digite aqui]

RESUMO

Cáries, traumas e anomalias dentárias podem levar a necrose da polpa dentária. A consequência terapêutica para o diagnóstico é geralmente uma pulpectomia, remoção completa da polpa, seguida de tratamento endodôntico e obturação com materiais artificiais. Nos últimos anos, a possibilidade de regeneração, a partir do potencial multipotente de células mesenquimais em abundância na cavidade oral, tem despertado grande interesse, tanto para conclusão da formação radicular e sobrevivência de dentes imaturos como também para dentes maduros, pois várias funções biológicas são perdidas. Dessa forma, com base no conceito de engenharia de tecidos, a revitalização emergiu como uma nova opção de tratamento. Objetivo: revisar na literatura disponível qual a eficácia das técnicas para a regeneração da polpa, diferenciação celular e as características do novo tecido formado. Foi realizada uma busca nas bases de dados PubMed/Medline, SciELO, Cochrane Library e Google Scholar utilizando combinações com as palavras chaves: “Pulp regeneration” “Tissue engineering” and “Endodontic techniques”. Os critérios de inclusão foram: artigos disponibilizados na íntegra e de forma online, publicados em inglês ou português nos últimos 10 anos. Critérios de exclusão: teses, outras revisões, trabalhos de conclusão de curso, artigos duplicados e que o título ou resumo não abordasse o conteúdo proposto. Ao final 22 artigos compõem a amostra desta revisão. Resultados: Para obter uma verdadeira regeneração pulpar estão sendo propostas novas linhas celulares, moléculas e matrizes. Em condições *in vitro* e *ex vivo* essa regeneração parece ser bem-sucedida. Mas em modelos *in vivo* os resultados são mais próximos das condições clínicas e alguns fatores relacionados ao organismo vivo devem ser levados em consideração. Conclusão: deve ser dada atenção especial à evolução de modelos que permitam uma representação realista da situação clínica. Isso permitiria estudar com precisão diferentes fatores, como a fonte celular (células-tronco residentes versus não residentes), mecanismos de diferenciação de odontoblastos, o ambiente pulpar, o papel da inflamação, pré-tratamento da dentina para liberar moléculas de sinalização e o fornecimento de matrizes adequadas.

Palavras-chave: Regeneração pulpar; Engenharia de tecidos; Técnicas endodônticas.

ABSTRACT

Cavities, trauma and dental anomalies can lead to necrosis of the dental pulp. The therapeutic consequence for diagnosis is generally a pulpectomy, complete removal of the pulp, followed by endodontic treatment and filling with artificial materials. In recent years, the possibility of regeneration, based on the multipotent potential of mesenchymal cells in abundance in the oral cavity, has aroused great interest, both for the completion of root formation and survival of immature teeth as well as for mature teeth, as several biological functions are lost. Thus, based on the concept of tissue engineering, revitalization has emerged as a new treatment option. Objective: to review the available literature on the effectiveness of techniques for pulp regeneration, cell differentiation and the characteristics of the new tissue formed. A search was carried out in the PubMed/Medline, SciELO, Cochrane Library and Google Scholar databases using combinations with the key words: "Pulp regeneration", "Tissue engineering" and "endodontic techniques". The inclusion criteria were: articles available in full and online, published in English or Portuguese in the last 10 years. Exclusion criteria: theses, course conclusion works, repeated articles and that the title or summary did not address the proposed content. In the end, 22 articles make up the sample of this review. Results: To obtain true pulp regeneration, new cell lines, molecules and matrices are being proposed. Under in vitro and ex vivo conditions this regeneration appears to be successful. However, in in vivo models the results are closer to clinical conditions and some factors related to the living organism must be taken into account. Conclusion: special attention should be paid to the evolution of models that allow a realistic representation of the clinical situation. This would allow us to precisely study different factors, such as the cellular source (resident versus non-resident stem cells), mechanisms of odontoblast differentiation, the pulpal environment, the role of inflammation, pretreatment of dentin to release signaling molecules, and the supply of suitable matrices.

Keywords: Pulp regeneration; Tissue engineering; Endodontic techniques.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CGF	Fator de Crescimento Concentrado
DPSCs	Células-Tronco da Polpa Dentária
HUCMSCs	Células-Tronco Mesenquimais do Cordão Umbilical Humano
HUVECs	Células endoteliais da Veia Umbilical Humana
IPSCs	Células-Tronco Pluripotentes Induzidas
MEC	Matriz Extracelular Natural (da polpa)
mDPSCs	Células-Tronco da Polpa Dentária mobilizadas
REP	Procedimentos Endodónticos Regenerativos
SAPH	Hidrogel Peptídico de Automontagem Angiogênico
SI	Intensidade Relativa do Sinal (do teste de ressonância)
VEGF	Fator de Crescimento Endotelial Vascular

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Síntese da amostra – Maceió, AL, Brasil, 2023	18
Quadro 2 – Distribuição dos estudos primários por técnica in vitro, ex vivo ou in vivo. Maceió, AL, Brasil, 2023	23
Quadro 3 – Distribuição dos estudos primários segundo categoria. Maceió, AL, Brasil, 2023	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Distribuição da amostra por ano de publicação – Maceió, AL, Brasil, 2023	17
Tabela 2 - Distribuição da amostra segundo periódico em que foi publicado = Maceió, AL, Brasil, 2023	23

MANUSCRITO

[Digite aqui]

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	12
2.	OBJETIVOS	14
2.1.	OBJETIVO GERAL	14
2.2.	OBJETIVOS ESPECIFICOS	14
3.	METODOLOGIA	15
4.	RESULTADOS	16
5.	DISCUSSÃO	23
5.1.	TÉCNICAS QUE UTILIZAM SCAFFOLDS	24
5.2.	CÉLULAS-TRONCO E FATORES DE CRESCIMENTO	25
5.2.1.	Isolamento e expansão in vitro de mDPSCs	25
5.3.	TECNOLOGIA DE IMPRESSÃO 3D	26
5.4.	TERAPIA COM CÉLULAS INDUZIDAS	26
5.5.	MATERIAIS BIOMIMÉTICOS	27
5.6.	TIPO DE TECIDO FORMADO	27
5.7.	DESAFIOS ATUAIS	27
5.8.	TÉCNICA EFICAZ APLICADA EM PACIENTES	28
5.8.1.	Testes de segurança e controle de qualidade	29
5.8.2.	Avaliação da eficácia	30
5.8.3.	Análise estatística	31
6.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	34
	REFERÊNCIAS	35
	APÊNDICE	38
	ANEXOS	39

1 INTRODUÇÃO

Cáries, traumas e anomalias dentárias podem levar a necrose da polpa dentária. A consequência terapêutica para o diagnóstico de pulpite irreversível é geralmente uma pulpectomia, remoção completa da polpa, seguida de tratamento endodôntico e obturação com materiais artificiais. Nos últimos anos, a possibilidade de regeneração, a partir do potencial multipotente de células mesenquimais em abundância na cavidade oral, tem despertado grande interesse, tanto para conclusão da formação radicular e sobrevivência de dentes imaturos como também para dentes maduros, pois várias funções biológicas são perdidas [1]. Dessa forma, com base no conceito de engenharia de tecidos, a revitalização emergiu como uma nova opção de tratamento.

Vale ressaltar que as abordagens de regeneração da polpa dentária compreendem duas categorias de procedimentos clínicos, um é a “Revascularização” que é uma abordagem biológica baseada na colonização sanguínea de canais radiculares imaturos, vazios, desinfetados, induzindo sangramento periapical e a outra consiste em Procedimentos Endodônticos Regenerativos (REP), - objeto de estudo do presente trabalho - que possuem objetivo de devolver polpa dentária por meio da introdução de células-tronco em dentes permanentes maduros, ou seja, com o apice totalmente formado. Dessa forma, para melhor compreensão é importante diferenciar do conceito de revascularização conhecido também como apicificação em dentes imaturos para continuação da formação dental, que trata de procedimentos já estabelecidos na prática clínica odontológica a cerca de 50 anos [1].

Para evitar a perda dentária, o tratamento endodôntico atual é muito agressivo e prejudicial às estruturas dentárias. A restauração subsequente causa ainda mais perda de estrutura, tornando o dente suscetível à fratura por lesões traumáticas. Para restaurar as funções dentárias: Dentes despolpados não conseguem recuperar nenhuma estrutura dentária e não apresentam sensibilidade a irritações, fazendo com que a progressão de cárie subsequente passe despercebida pelos pacientes. Embora salvos da extração a perda dentária é maior em dentes tratados endodônticamente do que em dentes não tratados devido a cáries secundárias e problemas complexos associados à restauração. Ademais, a regeneração polpa-dentina permitirá que a terapia endodôntica entre em uma nova era, revertendo a condição dentária doente de volta ao seu estado anterior, mais natural [2].

O início das pesquisas sobre regeneração pulpar foi marcado pela introdução de células-tronco de origem dentária [1]. A ferramenta para descrever essas células foi a cultura celular in vitro 2D clássica. No entanto, esses modelos não simularam a interação celular com uma matriz extracelular (ECM), portanto, modelos 3D in vitro que consistem em cultura celular em uma matriz 3D foram introduzidos para avaliar as interações célula-estrutura. Esses modelos foram aplicados [Digite aqui]

para testar os efeitos de diferentes estruturas ou moléculas bioativas.

No entanto, tais modelos *in vitro* estão longe da realidade e não garantem uma tradução adequada na prática clínica. A necessidade de estudos mais próximos das condições reais levou ao desenvolvimento de modelos *ex vivo* engenhosos, como fatias de polpa de dentina, cultura inteira do dente ou coroa [1];

Dois categorias de modelos animais foram descritas: modelos ectópicos e ortotópicos [1]. Os modelos ectópicos estão mais distantes da realidade, pois utilizam tubos de Teflon, fatias de dentina ou raízes, contendo uma amostra de teste a ser colocada por via subcutânea nas costas do roedor. Os modelos ortotópicos estão mais próximos da realidade clínica, os suportes e as células são colocados nas câmaras pulpareas ou canais radiculares de cães [3] ou de suínos [4].

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Revisar na literatura disponível a eficácia dos procedimentos endodônticos regenerativos que utilizam células-tronco mobilizadas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Revisar a diferença entre o conceito de revascularização da polpa dentária e o de regeneração da polpa dentária.
- Identificar a capacidade de diferenciação celular das células-tronco utilizadas nas técnicas.
- Avaliar as características do novo tecido formado.
- Encontrar um protocolo eficaz na promoção de tecido semelhante a polpa dentária original.

3. METODOLOGIA

Trata-se de uma revisão integrativa, que, desde 1980, tem sido descrita na literatura como um método específico que resume o passado da literatura empírica ou teórica, para fornecer uma compreensão mais abrangente de um determinado fenômeno. O modelo que guia a elaboração desta revisão foi proposto por Ana Paula Hermont e colaboradores [5], composto por sete fases: 1ª Elaboração da questão da pesquisa; 2ª Estabelecimento dos critérios de elegibilidade de estudos; 3ª Busca sistematizada em diversas fontes de informação; 4ª Avaliação dos estudos primários (níveis de evidência); 5ª Análise e extração dos dados; 6ª Discussão (que em outros métodos é incluída na última fase); 7ª Apresentação da revisão.

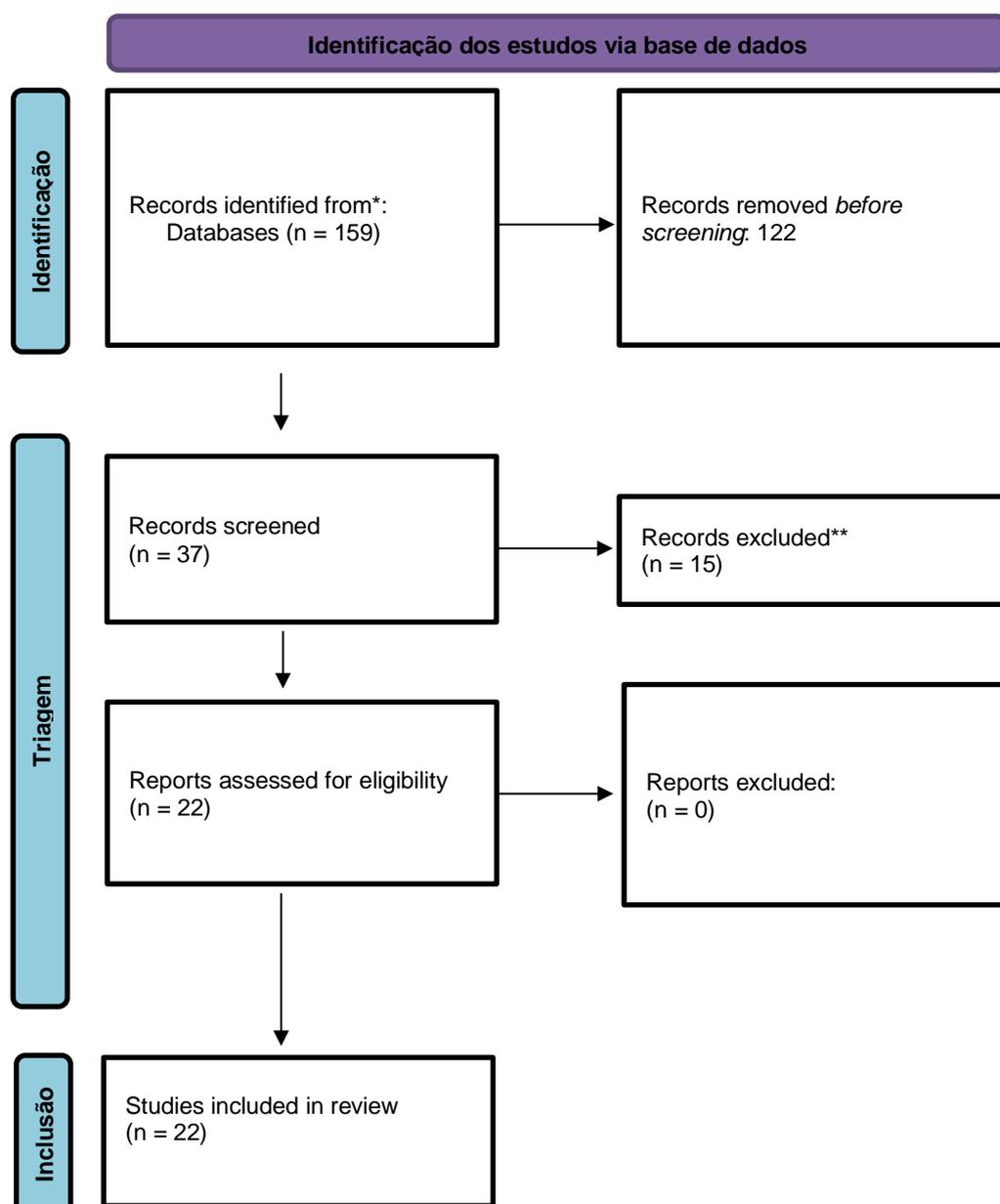
Atualmente há grande quantidade de informação científica, muitas vezes contraditória, a *internet* e os portais de periódico de acesso livre permitem acessibilidade ao conhecimento, mas isso não basta, pois é preciso saber o que selecionar dessa imensidão de informações e como fazê-lo. Dessa forma foi utilizada a estratégia PICO [6] para a construção da pergunta norteadora: alguma técnica de endodontia regenerativa, com ou sem *Scaffolds*, em dentes permanentes maduros, com uso de células-tronco, consegue *in vitro*, *ex vivo* ou *in vivo*, promover tecido biológico semelhante a polpa?

Para a segunda e terceira fase realizou-se busca nas bases de dados PubMed/Medline, SciELO, Cochrane Library e Google Scholar utilizando combinações com as palavras chaves: “Pulp regeneration” “Tissue engineering” and “Endodontic techniques”. foram encontrados os números, para cada uma, 159, 8, 14 e 61. Seguindo-se os seguintes critérios de inclusão: artigos disponibilizados na íntegra e de forma online, publicados em inglês ou português nos últimos 10 anos. E os de exclusão: teses, trabalhos de conclusão de curso, outras revisões, artigos duplicados e que o título ou resumo não abordasse o conteúdo proposto. Após a exclusão dos repetidos restaram 37, com a leitura do título e do resumo restaram 22 que participaram da fase de análise e extração dos dados dessa revisão.

4. RESULTADOS

Entre os estudos excluídos haviam alguns que poderiam ser utilizados na discussão deste trabalho no quesito tipo de tecido formado. Os procedimentos regenerativos apresentados nos resumos eram semelhantes as técnicas empregadas nos estudos selecionados. No entanto, as abordagens utilizaram células-tronco autólogas de decíduos em dentes permanentes imatuross, ou seja, apicificação = processo de fechamento do ápice [8]. Dessa forma, fogem parcialmente aos critérios para análise. pois o objetivo é analisar esses procedimentos em dentes permanentes com o ápice já formado.

Fluxograma – Seleção da amostra de estudos – Brasil, 2023.



Trabalhos como o de Noha Mohamed EL-Kateb de 2020 intitulado: quantitative Assessment of Intracanal Regenerated Tissues after Regenerative Endodontic Procedures in Mature Teeth Using Magnetic Resonance Imaging: A Randomized Controlled Clinical Trial, foram excluídos pois utilizaram dentes permanentes maduros (apice formado) porém, com a indução de coágulo sanguíneo nos canais por superinstrumentação girando uma lima K pré-curvada. Ou seja, amostragem ideal mas com uma técnica de revascularização.

Dessa forma, foram selecionados 22 estudos primários para continuidade da leitura na íntegra, a caracterização da amostra conforme o ano de publicação com o quantitativo correspondente de cada ano é apresentada na Tabela 1.

Tabela 1 - Distribuição da amostra por ano de publicação – Brasil, 2023.

Ano de Publicação	Nº de estudos
2023	1
2022	5
2021	3
2020	4
2019	2
2018	1
2017	3
2016	0
2015	2
2014	1
Total	22

Fonte: Silva BRG, 2023.

O quadro 1 lista os estudos que compõem essa revisão integrativa no que se refere ao ano de publicação, por ordem crescente, título do estudo, periódico e país em que foi publicado, autores, tipo de estudo, objetivos, material e/ou técnica de endodontia regenerativa empregada e principais resultados.

Quadro 1 – Síntese da amostra – Silva BRG, 2023.

ID	ANO	TÍTULO	PERIÓDICO	PAÍS	AUTORES	TIPO DO ESTUDO	OBJETIVO	MATERIAL OU TECNICA	RESULTADO
A1	2014	Scaffold-free Prevascularized Microtissue Spheroids for Pulp Regeneration	Journal of Dental Research	China	WL Dissanayaka, L Zhu, KM Hargreaves, Lijian Jin, C Zhang.	Experimental com camundongos	Investigar o potencial de esferóides para angiogênese e regeneração de tecido semelhante à polpa in vivo.	Microesferas de células-tronco da polpa dentária (DPSCs) pré-vascularizadas por HUVECs.	Demonstrou que esferóides de microtecidos pré-vascularizados e livres de scaffolds podem regenerar com sucesso tecido semelhante à polpa dentária
A2	2015	A hyaluronan-based scaffold for in vitro construction of pulp-like tissue	International Journal of Molecular Sciences	Itália	Letizia Ferroni, Chiara Gardin, Stefano Sivoletta, Juliana Brunello, Mário Berengo, Adriano Piattelli, Eriberto Bressan, Bárbara Zavan.	Experimental com camundongos	Propor um método para a reconstrução in vitro de tecido semelhante à polpa dentária que combina as inúmeras propriedades do hialuronano com as das DPSCs.	Uma haste de DPSCs foi isolada de terceiros molares de pacientes saudáveis e semeada em malhas à base de hialuronano na presença de um coquetel sequencial de fatores de diferenciação e osteogênicos.	Demonstram que a combinação de um biomaterial à base de hialuronano e DPSCs pode ser uma boa estratégia para gerar um tecido semelhante à polpa dentária.
A3	2015	The Interplay of Dental Pulp Stem Cells and Endothelial Cells in an Injectable Peptide Hydrogel on Angiogenesis and Pulp Regeneration In Vivo	Mary Ann Liebert	China	W.L. Dissanayaka, K.M. Hargreaves, Lijian Jin, L. P. Samaranayake, C. Zhang.	Experimental com Camundongos	Elucidar as interações DPSC-HUVEC durante a angiogênese e diferenciação odonto/osteogênica em um sistema peptídeo-hidrogel 3D.	HUVECs, DPSCs ou coculturas de ambos os tipos de células foram encapsuladas no hidrogel PuraMatrix.	Os resultados sugerem que um ambiente nanofibroso peptídico pode ser apropriado como estrutura de engenharia de tecido para a regeneração de tecidos vasculares.
A4	2017	Odontoblast-like differentiation and mineral formation of pulp-sphere derived cells on human root canal dentin in vitro	Head & Face Medicine	Alemanha	Jörg Neunzehn, Sandra Pötschke, Christian Hannig, Hans-Peter Wiesmann, e Marie-Theres Weber	Estudo experimental	Avaliar in vitro a viabilidade da técnica que usa transplante autólogo de MDPCs.	Esferas celulares semeadas em amostras de canais radiculares humanos.	Revelou alto potencial das células pulpares organizadas em esferas para a engenharia de tecidos dentários.

Continua...

Continuação

ID	ANO	TÍTULO	PERIÓDICO	PAÍS	AUTORES	TIPO DO ESTUDO	OBJETIVO	MATERIAL OU TECNICA	RESULTADO
A5	2017	Pulp regeneration by transplantation of dental pulp stem cells in pulpitis: a pilot clinical study	Stem Cell Research & Therapy	Japão	Nakashima, Iohara, Murakami, Nakamura, Sato, Arij, Matsushita	Ensaio Clínico	Avaliar a segurança, eficácia e viabilidade do transplante autólogo de mDPSCs de grau clínico humano para regeneração pulpar.	Cinco pacientes com pulpite irreversível foram incluídos e monitorados por até 24 semanas após o transplante de mDPSC.	Concluiu que mDPSCs humanos são seguros e eficazes para a regeneração pulpar.
A6	2017	Decellularized Swine Dental Pulp as a Bioscaffold for Pulp Regeneration	BioMed Research International	China	Lei Hu, Zhenhua Gao, Junji Xu, Zhao Zhu, Zhipeng Fan, Chunmei Zhang, Jinsong Wang, Songlin Wang	Estudo experimental com camundongos	Avaliar a estrutura e composição da MEC da polpa dentária suína decelularizada.	Preparação de fatias dentárias, semeadura celular e transplante em camundongos imunodeficientes	A polpa dentária suína, após ser descelularizada, pode ser preparada como uma estrutura porosa. As proteínas da matriz extracelular e as estruturas naturais pode promover a regeneração pulpar mediada por células-tronco humanas in vivo.
A7	2018	Dual ECM Biomimetic Scaffolds for Dental Pulp Regenerative Applications	Frontiers in Physiology	EUA	Chun-Chieh Huang, Raghuvaran Narayanan, Noah Warshawsky, Sriram Ravindran	Estudo Comparativo	Avaliar o potencial dos scaffolds duplos da MEC de material biomimético com os da MEC pulpar.	Dois tipos de células-tronco mesenquimais foram utilizados neste estudo: da polpa dentária e da medula ossea humana.	Padronizaram uma metodologia para gerar polpa híbrida/MEC endotelial contendo estruturas biomiméticas.
A8	2019	The potential application of concentrated growth factor in pulp regeneration: an in vitro and in vivo study	Stem Cell Research & Therapy	China	Fangfang Xu, Lu Qiao, Yumei Zhao, Weiting Chen, Shebing Hong, Jing Pan1 and Beizhan Jiang	Estudo experimental com caes	Investigar os efeitos do CGF na proliferação, migração e diferenciação em hDPSCs expostas a lipopolissacarídeo in vitro e seu papel potencial nos dentes imaturos in vivo.	Isolamento e caracterização de hDPSCs	CGF na proliferação, migração e diferenciação de hDPSCs

Continua...

Continuação

ID	ANO	TÍTULO	PERIÓDICO	PAÍS	AUTORES	TIPO DO ESTUDO	OBJETIVO	MATERIAL OU TECNICA	RESULTADO
A9	2019	Regenerative Endodontic Procedures in Necrotic Mature Teeth with Periapical Radiolucencies: A Preliminary Randomized Clinical Study	Journal of Endodontics	Turquia	Arslan H, Hany Mohamed Aly Ahmed, Yavuz Şahin, Ezgi Doğanay Yıldız, Eyup Candas Gündoğdu, Yahya Güven, Ruslan Khalilov	Estudo Clínico Randomizado	Comparar os resultados dos REPs com o tratamento endodôntico convencional na cicatrização clínica e radiográfica de dentes maduros com lesão periapical.	56 dentes tratados em 49 pacientes distribuídos aleatoriamente em 2 grupos.	Concluiu que os REPs têm uma taxa de sucesso semelhante ao tratamento endodôntico e pode ser uma alternativa para dentes maduros com radiolucência periapical.
A10	2020	Cell-Based Regenerative Endodontics for Treatment of Periapical Lesions: A Randomized, Controlled Phase I/II Clinical Trial	Journal of Dental Research	Chile	Brizuela1, G. Meza1, D. Urrejola1, M.A. Quezada1, G. Concha1, V. Ramirez1, I. Angelopoulos2, M.I. Cadiz2,3, R. Tapia-Limonchi2,3, and M. Khoury	Estudo Clínico Randomizado	Comparar em 6 e 12 meses os resultados de procedimentos regenerativos com o tratamento endodôntico convencional.	O estudo incluiu 36 pacientes com incisivos, caninos ou pré-molares inferiores maduros apresentando necrose pulpar e periodontite apical.	A abordagem inovadora, baseada em princípios biológicos que promovem a regeneração dentina-polpar, apresenta uma alternativa promissora de tratamento.
A11	2020	Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cell Differentiation Into Odontoblast-Like Cells and Endothelial Cells: A Potential Cell Source for Dental Pulp Tissue Engineering	Frontiers in Physiology	China	Shuang Zhang, Weiwei Zhang, Yanping Li, Liping Ren, Haotian Deng, Xiaowei Yin, Xu Gao, Shuang Pan, Yumei Niu	Estudo experimental com camundongos	Explorar potencial das células-tronco mesenquimais do cordão umbilical humano (hUCMSCs) como células-semente para a regeneração da polpa dentária.	Fatores de crescimento cocultivados em scaffolds injetados em segmentos radiculares e transplantados em camundongos	hUCMSCs podem se diferenciar em células semelhantes a odontoblastos e células endoteliais funcionais.
A12	2020	RGD- and VEGF-Mimetic Peptide Epitope-Functionalized Self-Assembling Peptide Hydrogels Promote Dentin-Pulp Complex Regeneration	International Journal of Nanomedicine	China	Kun Xia, Zhuo Chen, Jie Chen, Huaxing Xu, Yunfei Xu, Ting Yang, QiZhang	Estudo experimental	Desenvolver material sintético para uma estrutura baseada em SAP com epítopos peptídicos miméticos de RGD e fator de crescimento endotelial vascular (VEGF).	DPSCs e células endoteliais da veia umbilical humana (HUVECs) utilizadas para avaliar os efeitos biológicos de estruturas baseadas em SAP.	Demonstram a importância de criar um microambiente que apoie a adesão de células-tronco e a angiogênese, ambiente ideal para a regeneração da polpa dentária.
A13	2020	Pulp/Dentin regeneration – It should be complicated	Journal of Endodontics	EUA	George TJ Huang, Jie Liu, Xiaofei Zhu, Zongdong Yu, Dong Li, Chao-An Chen, Adham A Azim	Estudo Experimental e descritivo	Abordar a possibilidade de regeneração pulpar em pequenos canais de dentes molares, melhorando a neovascularização.	Modelo de fragmento dentário semi-ortotópico.	Modelo de fragmento dentário semi-ortotópico mostrou que a regeneração completa da polpa usando DPSCs em canais pequenos tem sido inconsistente devido ao fornecimento limitado de sangue.

Continua...

Continuação

ID	ANO	TÍTULO	PERIÓDICO	PAÍS	AUTORES	TIPO DO ESTUDO	OBJETIVO	MATERIAL OU TECNICA	RESULTADO
A14	2021	Fabrication of Vascularized DPSC Constructs for Efficient Pulp Regeneration	Journal of Dental Research	Japão	C Katata, JI Sasaki, GL Abe, JE Nör, Hayashi, S Imazato	Estudo Experimental	Testar construções de DPSC vascularizadas para induzir a diferenciação endotelial pelo canal completo.	Construções de DPSC vascularizadas fabricadas induzindo a diferenciação endotelial.	De forma positiva após 6 semanas formou-se tecidos semelhantes a polpa com maior densidade de vasos sanguíneos positivos para CD31 humanos.
A15	2021	Evaluation of Injectable Hyaluronic Acid-Based Hydrogels for Endodontic Tissue Regeneration	Materials (MDPI)	Portugal	Esteban Astudillo-Ortiz, Pedro S. Babo, Rui L. Reis, Manuela E. Gomes	Estudo Experimental	Avaliar um hidrogel autofixante injetável à base de ácido hialurônico enriquecido com lisado plaquetário	Preparação de hidrogeis e amostras de fatias de dente	Resultados sustentam o uso de hidrogéis injetáveis de HA carregados de PL como biomaterial para encapsulamento de DPSCs,
A16	2021	IPSC-derived cranial neural crest-like cells can replicate dental pulp tissue with the aid of angiogenic hydrogel	Bioactive Materials	EUA	Yoshifumi Kobayashi et al.	Estudo Experimental	Replicar as características do tecido da polpa dentária usando células semelhantes à crista neural craniana	Preparação de hidrogeis e amostras de fatias de dente	A combinação de FGF4 e FGF9 induziu os CNCLCs à diferenciação odontoblástica de forma mais eficaz que o BMP4.
A17	2022	Microspheres and Their Potential in Endodontic Regeneration Application	Chinese Journal of Dental Research	China	Ting Yang, Li Xie, Rui Tao Zhang, Wei Dong Tian	Estudo Descritivo	Resumir as propriedades e características dos suportes de microsferas utilizados na engenharia de tecidos.	Microesferas carregadas de células, que podem ser divididas em microtransportadores e microcápsulas,	Apresentam grandes perspectivas de aplicação na regeneração da polpa dentária.
A18	2022	Vascularized pulp regeneration via injecting simvastatin functionalized GelMA cryogel microspheres loaded with stem cells from human exfoliated deciduous teeth	Materials Today Bio (Elsevier)	China	Xiao ling Yuan et al.	Estudo Experimental	Estabelecer um modelo utilizando microsferas de criogel e metacrilato de gelatina funcionalizadas com simvastatina injetável.	Microesferas de criogel e metacrilato de gelatina funcionalizadas com simvastatina injetável.	Demonstraram que pode promover a diferenciação odontogênica e o potencial angiogênico.

Continua...

Continuação.

ID	ANO	TÍTULO	PERIÓDICO	PAÍS	AUTORES	TIPO DO ESTUDO	OBJETIVO	MATERIAL OU TÉCNICA	RESULTADO
A19	2022	Isolation of Endogenous TGF- β 1 from Root Canals for Pulp Tissue Engineering: A Translational Study	Biology (MDPI)	Alemanha	Widbillier et al.	Estudo Experimental (ex vivo)	Formar de um tecido conjuntivo inervado e vascularizado que se assemelha à polpa em forma e função.	36 dentes uniradiculares, livres de cárie e não restaurados foram coletados após a extração e armazenados até uso posterior	Constitue a base para futuros estudos in vivo e permitem o planejamento de um estudo piloto com o protocolo descrito
A20	2022	Multifunctional Peptide-Conjugated Nanocarriers for Pulp Regeneration in a Full-Length Human Tooth Root	Acta Biomaterialia (Elsevier)	EUA	Qian L, Zhiai Hu, Yongxi Liang, Cancan Xu, Yi Hongb, Xiaohua Liu	Estudo Experimental	Determinar se as DPSCs transfectadas pelo portador de gene não viral conjugado com peptídeo multifuncional podem induzir uma revascularização rápida, levando à regeneração do tecido pulpar na raiz do dente humano de comprimento total.	Materiais sintetizados por empresa específica	A hipótese é viável.
A21	2022	The Potential Application of Human Gingival Fibroblast-Conditioned Media in Pulp Regeneration: An In Vitro Study	Cells (MDPI)	Coreia	Huong Thu Vu et al.	Estudo Experimental	Investigar os efeitos benéficos do hGF-CM na proliferação, migração e diferenciação de DPSC	Preparação de hidrogéis e amostras de fatias de dente	Sugerem que o hGF-CM aumenta a capacidade de proliferação e migração de DPSCs de maneira dose-dependente e facilita a odontogênese de DPSCs
A22	2023	Mechanism of Pulp Regeneration Based on Concentrated Growth Factors Regulating Cell Differentiation	Bioengineering (MDPI)	China	Sijing Yu, Yi Zheng, Qiang Guo, Wenxu Li, Ling Ye	Estudo Experimental (ex vivo)	Explorar a liberação e degradação de fatores de crescimento em CGF e LPCGF autólogos, o papel do LPCGF na proliferação, migração e diferenciação de hDPCs in vitro e na promoção da formação de tecido heterotópico semelhante a polpa.	Isolamento e Cultura de hDPCs Derivadas de Terceiros molares saudáveis, intactos.	Os resultados in vivo provaram que hDPCs-LPCGF podem regenerar heterotopicamente o tecido da polpa com dentina recém-formada, neovascularização e nervos.

5. DISCUSSÃO

Quanto ao país de origem houve maior número de publicações na China, 9 dos 22. No entanto, conforme ilustrado na Tabela 2 os estudos encontram-se bem distribuídos em 16 periódicos.

Tabela 2 – Distribuição da amostra segundo periódico em que foi publicado - Brasil, 2023.

Periódico	Nº de publicações
Stem Cell Research & Therapy	2
Head & Face Medicine	1
Materials Today Bio (Elsevier)	1
Cells (MDPI)	1
Biology (MDPI)	1
Chinese Journal of Dental Research	1
International Journal of Nanomedicine	1
Journal of Endodontics	2
Bioactive Materials	1
BioMed Research International	1
Mary Ann Liebert	1
Materials (MDPI)	1
Frontiers in Physiology	2
Acta Biomaterialia (Elsevier)	1
Bioengineering (MDPI)	1
Journal of Dental Research	3
International Journal of Molecular Sciences	1
Total	22

Fonte: Silva BRG, 2023.

A amostra dos estudos fruto dessa pesquisa traz o contexto dos estudos experimentais em animais como condição atual do processo de evolução das técnicas de regeneração pulpar conforme distribuído no Quadro 2.

Quadro 2 – Distribuição dos estudos primários por modelo *in vitro*, *ex vivo* ou técnica *in vivo* (síntese dos parecidos). Silva BRG, 2023.

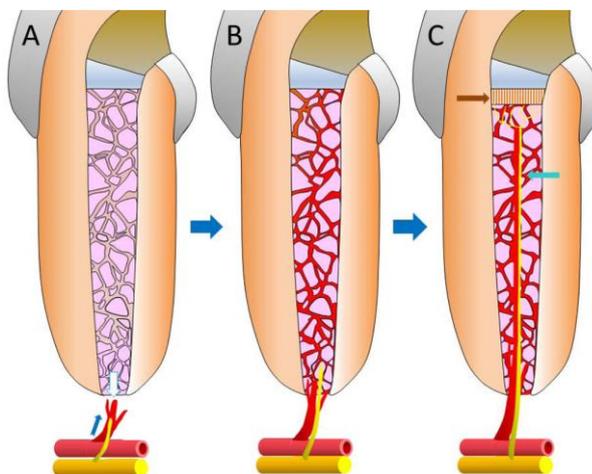
CATEGORIAS ENVOLVIDAS	IDENTIFICADORES DOS ESTUDOS
<i>In vitro</i> e/ou com animais	A1, A2, A3, A7, A11, A13, A14, A17, A20
<i>Ex vivo</i> (dentes humanos extraídos)	A4, A6, A8, A12, A15, A16, A18, A19, A21, A22
<i>In vivo</i> (estudos clínicos)	A5, A9, A10

Os estudos mais recentes relatam o uso de DPSCs para regeneração pulpar, mostrando que podem regenerar o complexo dentina-polpa quando semeados em polímeros biocompatíveis. Há necessidade da identificação de uma estrutura que realmente imite o microambiente da polpa e a criação de suprimento sanguíneo suficiente, em tempo hábil, para garantir a sobrevivência das DPSCs transplantadas e o recrutamento eficiente de células hospedeiras para revitalizar o dente [8]. Como o scaffold mostrado no esquema da figura 1. A seguir são apresentados alguns conceitos necessários para seguimento da discussão.

5.1 TÉCNICAS QUE UTILIZAM SCAFFOLDS

Os Scaffolds são feitos de polímeros biocompatíveis, na grande maioria incluem hidrogéis e matrizes biodegradáveis para fornecimento de suporte estrutural/tridimensional e assim permitirem a migração e adesão das células no local de regeneração [2].

Figura 1 - Ilustração esquemática do processo com scaffold e canal selado com cimento [2].



(A) DPSC-ECs transportados por andaime são implantados no espaço do canal e o dente selado com cimento. Os DPSC-ECs formam redes vasculares no espaço do canal. A parte apical da rede formada estende-se (seta branca) até os vasos recém-brotados no periápice (seta azul) para estabelecer anastomose. As fibras nervosas no periápice também se ramificam e se estendem para o espaço do canal. (B) Se ocorrer a anastomose, ocorre perfusão sanguínea, permitindo que a maturação da rede de vasos sanguíneos recém-formada por DPSC-ECs se estabeleça e amadureça, fornecendo nutrição às células-tronco implantadas. A regeneração da polpa pode então continuar a progredir. As fibras nervosas emergentes também continuam a se estender para dentro do canal.

(C) Algumas DPSCs implantadas se diferenciarão em células semelhantes a odontoblastos e produzirão uma ponte tubular de dentina sob o cimento (indicada pela seta marrom). A inervação também se estenderá (seta azul) e eventualmente alcançará a ponte dentinária [2].

5.2 CÉLULAS-TRONCO E FATORES DE CRESCIMENTO

Células-Tronco Mesenquimais (MSCs): A aplicação de células-tronco mesenquimais pode estimular a regeneração tecidual. As MSCs têm a capacidade de se diferenciar em células especializadas, incluindo células *pulpar-like*.

Fatores de Crescimento como fator de crescimento de fibroblastos (FGF), fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) e fator de crescimento transformador beta (TGF- β), podem estimular a diferenciação celular e a formação de tecido. As mDPSCs transplantadas no estudo de 2017 de Nakashima [12] não se diferenciaram diretamente em células endoteliais, células neuronais ou células pulpares. Vários fatores tróficos secretados pelas mDPSCs poderiam aumentar a migração e a proliferação de células-tronco/progenitoras endógenas dos tecidos circundantes. Ou seja, G-CSF precisa ser utilizado como fator de crescimento/migração, ele está disponível como medicamento para tratamento de neutropenia e para reconstituição da medula óssea para mobilizar células-tronco hematopoiéticas da medula óssea.

5.2.1 Isolamento e expansão in vitro de mDPSCs

É preciso soro autólogo isolado de sangue recém-coletado (200 ml). O isolamento de mDPSCs é realizado de acordo com um procedimento operacional padrão (SOP) sob estritas condições em um sistema totalmente fechado. A justificativa científica para o uso de soro autólogo é evitar qualquer potencial resposta/reação imunológica ao soro alogênico e xenogênico [12].

A tríade de células-tronco/progenitoras, um fator de crescimento/fator de migração e estrutura é essencial para uma endodontia regenerativa ideal. O estudo anterior pré-clínico de Nakashima utilizando a técnica em cães demonstrou que os mDPSCs são mais vantajosos que os DPSCs derivados de colônias para regenerar um volume maior de tecido pulpar e prevenir a mineralização dentro do canal radicular. Os mDPSCs também podem regular a inflamação com propriedades imunossupressoras e imunomoduladoras [12].

5.3 TECNOLOGIA DE IMPRESSÃO 3D

A bioimpressão 3D permite a criação de estruturas tridimensionais personalizadas, incluindo Scaffolds, utilizando células e materiais biocompatíveis. A necessidade também pelo desenvolvimento de um microambiente 3D que suporta interações célula-célula, assim, podem, por sua vez, contribuir para uma atmosfera ideal para estratégias bem-sucedidas de regeneração pulpar [8].

5.4 TERAPIA COM CÉLULAS INDUZIDAS

Estudos envolvem a indução de células não especializadas para se tornarem células semelhantes às da polpa dentária, oferecendo uma abordagem alternativa ao uso de células-tronco. Um ensaio clínico randomizado controlado de fase I/II foi projetado para avaliar a segurança e eficácia de células-tronco mesenquimais do cordão umbilical humano encapsuladas em um biomaterial derivado de plasma para procedimentos endodônticos regenerativos (REPs) em dentes permanentes maduros com lesões apicais [15]. Incluiu 36 pacientes com incisivos, caninos ou pré-molares inferiores maduros apresentando necrose pulpar e periodontite apical. Os pacientes foram alocados aleatoriamente e igualmente entre os grupos experimental ou de tratamento de canal convencional. Na primeira visita foi realizado acesso cavitário e preparo mecânico do canal radicular. Foi utilizada medicação com hidróxido de cálcio e a cavidade foi selada. Três semanas depois, os pacientes foram tratados seguindo o protocolo atribuído de REP ou ENDO. Os exames de acompanhamento clínico foram realizados aos 6 e 12 meses. Foram exploradas a evolução ao longo do tempo da porcentagem de unidades de perfusão e as dimensões da lesão e do comprometimento cortical. Após o acompanhamento de 12 meses, nenhum evento adverso foi relatado e os pacientes apresentaram 100% de eficácia clínica em ambos os grupos. Curiosamente, no grupo REP, a porcentagem da unidade de perfusão medida pela fluxometria laser Doppler revelou um aumento de 60,6% para 78,1% entre o início do estudo e o acompanhamento de 12 meses. Os testes de sensibilidade revelaram um aumento da resposta pulpar positiva no grupo REP no acompanhamento de 12 meses (de 6% para 56% no teste frio, de 0% para 28% no teste quente e de 17% para 50% no teste elétrico).

Dessa forma, levando em consideração os resultados coletados nos 12 meses,

acompanhamento no qual nenhum evento adverso foi relatado e todos pacientes mostraram sucesso clínico, foi apresentada a primeira evidência clínica de segurança e eficácia do uso endodôntico de células-tronco mesenquimais alogênicas. Isto é, células do cordão umbilical induzidas, encapsuladas em um biomaterial representam uma solução inovadora como tratamento alternativo, baseado em princípios biológicos que promovem regeneração dentinária e pulpar e a saúde do tecido periapical [15].

5.5 MATERIAIS BIOMIMÉTICOS

Materiais que imitam a estrutura natural, isto é, imitam a composição e a estrutura da polpa dentária para promover uma resposta biológica semelhante. O biomaterial utilizado no estudo de Ferroni 2015 [9] foi sintetizado a partir de hialuronato de sódio de 80 a 200 kDa, com álcool benzílico e denominado HYAFF-11™ (Fidia Advanced Biomaterials, Abano Terme, Padova, Itália). O produto final é um polímero linear não reticulado de peso molecular desconhecido que é insolúvel em solução aquosa, mas hidrolisa espontaneamente ao longo do tempo, liberando álcool benzílico e hialuronano. Utilizado como veículo para DPCSs.

5.6 TIPO DE TECIDO FORMADO

A tentativa regenerativa da polpa visa restaurar a sua função em dentes infectados e necróticos. Entretanto, há consenso na literatura científica de que o tecido formado não é o mesmo que o tecido pulpar. Na maioria dos resultados estão mais próximo de tecido conjuntivo fibroso com áreas de tecido semelhante ao cimento dentro do canal, sugerindo que a remodelação vascular oferece um potencial de reparo em vez de regeneração [27].

5.7 DESAFIOS ATUAIS

Uma das maiores barreiras que ainda precisa ser superada para permitir uma adoção clínica mais abrangente é o controle da infecção durante o tratamento do canal radicular com irrigantes e medicamentos intracanaís, e também após o transplante de células pela estrutura antimicrobiana. Um medicamento amplamente utilizado, a pasta de hidróxido de cálcio,

pode inibir a boa regeneração pulpar se permanecer no canal radicular. Outro desafio crítico a superar é a formação de dentina para cobrir completa e rapidamente a polpa regenerada, evitando assim a microinfiltração [2].

As avaliações clínicas de terapias baseadas em engenharia de tecidos são escassas. Uma abordagem principalmente livre de células, portanto, livre de scaffolds, seguindo o princípio do direcionamento celular, parece ser bastante promissora no desenvolvimento a curto prazo de estratégias regenerativas, uma vez que requer apenas uma modificação dos protocolos atuais para o tratamento convencional do canal radicular. Geralmente, parece clinicamente viável isolar proteínas da matriz dentinária durante o tratamento endodôntico de pacientes, prepará-las adequadamente e, finalmente, adicioná-las a um material de suporte no decorrer de uma abordagem de localização celular. Os resultados do estudo de 2019 pode ser a base para futuros estudos in vivo, pois permite o planejamento de um estudo piloto com o protocolo descrito, preferencialmente em dentes com anatomia de canal radicular simples, como dos 36 dentes uniradiculares utilizados, o que poderia avançar um passo ao objetivo de regeneração pulpar [23].

5.8 TÉCNICA EFICAZ APLICADA EM PACIENTES

O estudo clínico piloto de 2017 foi realizado seguindo os princípios de órgão regulador japonês de pesquisa clínica com células-tronco humanas, e o padrão de Boas Práticas de Fabricação (BPF). Os indivíduos incluídos na amostra tinham idade entre 20 e 55 anos, diagnóstico de pulpíte irreversível de canal radicular único, sem fratura, estrutura dentária remanescente higida sobre a margem do osso alveolar e sem radiolucidez periapical por raio-X. Além disso, precisou-se ter um dente descartado sem cárie profunda para fornecer tecido pulpar. Estudos como o de Sijing e colaboradores fazem testes utilizando os terceiros molares. Foram excluídos os pacientes que apresentavam comorbidades e que receberam antiplaquetários ou remédio anticoagulante com histórico de alergia a antimicrobianos, a agentes anestésicos locais e a reação intracutânea positiva para atelocolágeno. Cinco pacientes com pulpíte irreversível foram incluídos no estudo clínico piloto de maio a dezembro de 2013. Três pacientes eram homens e dois eram mulheres, com idade de 20 a 44 anos. Quatro pacientes apresentavam pulpíte ulcerosa crônica e um apresentava pulpíte supurativa aguda no momento da inscrição. O transplante dos mDPSCs

foi realizado 1 a 12 semanas após a pulpectomia. Os pacientes selecionados foram submetidos ao isolamento de soro autólogo e posterior extração de um dente descartado após assinatura novamente do consentimento informado. Dessa forma, uso de material autólogo.

5.8.1 Testes de segurança e controle de qualidade

A segurança dos mDPSCs durante o processo de transporte dentário, processamento celular, congelamento celular e transplante final foi determinada por testes de esterilidade para fungos, bactérias aeróbias e anaeróbias, testes de micoplasma, testes de endotoxinas e testes de vírus. O produto celular final, células-tronco da polpa dentária mobilizadas, foi caracterizado por citometria de fluxo após marcação imunológica com os marcadores de superfície do antígeno CD29, CD44, CD105 e CD31. Essas mDPSCs após a criopreservação e os mDPSCs combinados com colágeno e G-CSF usados para transplante na sala de cirurgia foram enviados independentemente para um laboratório de referência de controle de qualidade. Para o teste de micoplasma foi utilizado o método de RT-PCR em tempo real e coloração de DNA. As mDPSCs criopreservados foram enviados para transplante após a confirmação se atendiam aos critérios que incluíram análise de marcadores de superfície celular, viabilidade celular, esterilidade, endotoxina, micoplasma e testes de vírus [12].

Portanto, um grande número de testes são necessários levando a um custo proporcional ao desenvolvimento de uma nova técnica, espera-se que com a popularização da intenção de regenerar polpa mais investimentos sejam feitos para prover esses materiais de forma que sejam pré-disponibilizados no mercado afim de garantir avanço numa futura fase de generalização da técnica.

Antes da pulpotomia, a cárie do dente afetado foi completamente removida e em alguns casos paredes de resina foram necessárias para evitar que o grampo do dique de borracha escorregue do dente, bem como para isolar a raiz da saliva e das bactérias. A modelagem apical foi realizada até a junção cimento-dentina ou 0,5 mm abaixo da junção até o tamanho de 0,45 a 0,55 mm após medição do comprimento do canal radicular com uma lima #25 K usando Root ZX. Depois disso, foi realizado o preparo convencional do canal radicular. A irrigação foi realizada alternadamente com NaOCl 6% e H₂O 23% e posteriormente com solução salina. Um ponto absorvente umedecido com minociclina foi colocado no canal radicular antes do transplante celular como um método convencional de

tratamento de canal. A cavidade foi preenchida temporariamente com água Caviton pois é vantajosa para a aplicação de antibióticos líquidos no canal que foi bem seco com pontas de papel após irrigação com 3 ml de NaOCl a 6% e H₂O 2 a 3 % e 5 ml de solução salina, e ainda com 2 ml de solução de EDTA a 3% por 2 min e 5 ml de solução salina. Metade da suspensão celular (20 µl) foi transplantada para o canal por uma cânula prestando muita atenção para não introduzir nenhuma bolha em seu interior e uma esponja de gelatina foi colocada sobre a suspensão no orifício do canal sem pressão, a cavidade foi selada com cimento de ionômero de vidro e resina composta com um agente de ligação [12].

Os pacientes foram acompanhados 1, 2, 4, 12, 24, 28 e 32 semanas após a inserção o material no canal. Para a avaliação de segurança, foram registrados a incidência, gravidade e resultado de eventos adversos imediatos ou tardios. Como um primeiro estudo piloto clínico em humanos sob as diretrizes japonesas de pesquisa clínica com células-tronco humanas, exames químicos da urina e de sangue foram realizados em cada visita, exceto em 2 semanas. Eletrocardiograma de doze derivações foi monitorado em 4 e 24 semanas. Exames clínicos locais, incluindo dor e sensibilidade à percussão em cada visita e análises radiográficas para lesão periapical também foram realizados na primeira visita, pré-transplante, pouco antes do transplante de células, e aos 4, 12, 24, 28 e 32 semanas por dois radiologistas [12].

5.8.2 Avaliação da eficácia

Foi realizado teste de sensibilidade pulpar em cada visita de três cirurgiões-dentistas. Antes do teste pulpar elétrico (EPT), a superfície do dente foi bem seca para não fluir a corrente para os tecidos gengivais ou periodontais adjacentes. A ponta da sonda foi aplicada na estrutura natural do dente e não na parte restaurada. A pasta de dente foi usada para fazer um bom contato com a superfície do dente. A corrente foi aumentada lentamente para fornecer resultados precisos. Outro teste de sensibilidade da polpa, o teste de frio, foi realizado utilizando spray refrigerante diclorofluorometano também em cada visita. A esponja congelada foi aplicada por alguns segundos no terço gengival da parte vestibular ou em qualquer parte do dente seco para proporcionar uma boa condução do frio [12].

Ademais, uma ressonância magnética de 1,5 Tesla utilizada para imagens de tecido regenerado no início do estudo e às 12 e 24 semanas após o transplante. Essa ressonância foi

analisada por uma técnica de segmentação manual assistida por computador (delineamento) usando o software de imagem médica OsiriX, que é um programa visualizador DICOM rápido para Apple Macintosh. A SI foi expressa como o SI do tecido regenerado ao SI da dentina circundante do mesmo dente comparado com o SI da polpa normal ao SI da dentina circundante no local oposto. O SI relativo foi calculado em cortes axiais das partes apical e coronal do canal radicular, respectivamente. A avaliação da formação de dentina ao longo da parede dentinária às 16 e 28 semanas foi realizada por tomografia computadorizada de feixe cônico [12]

5.8.3 Análise estatística

DPSCs primários humanos formaram uma colônia em 7 a 15 dias, e mDPSCs humanos de grau clínico foram ainda isolados utilizando a mobilização de células-tronco induzida por G-CSF no isolador. Não houve anormalidades cromossômicas estruturais significativas no cariótipo de todas as células diplóides. No entanto, houve algumas aberrações cromossômicas nos pacientes 1 e 4. No entanto, foi possível utilizá-las com segurança para transplante celular. mDPSCs não mostraram contaminação bacteriana, fúngica, micoplasma, endotoxina ou vírus [12].

Nenhum evento adverso relacionado ao transplante celular foi observado por exame de sangue e urina e eletrocardiograma de doze derivações durante 24 semanas de acompanhamento em todos os pacientes. Os exames clínicos não demonstraram dor pós-operatória, incluindo dor e sensibilidade à percussão, em todas as consultas de acompanhamento até 24 semanas. Os exames radiográficos realizados por dois radiologistas não mostraram alterações significativas nas áreas periapicais relacionadas à terapia celular em três pacientes (pacientes 1, 3 e 5). A lesão periapical claramente diagnosticada antes do transplante foi gradualmente reduzida em tamanho e radiolucência durante 24 semanas de acompanhamento. No paciente 2 houve pequeno alargamento do espaço do ligamento periodontal às 24 semanas. Houve alargamento do espaço do ligamento periodontal às 12 semanas e radiolucência periapical às 24 semanas no paciente 4 [12].

A avaliação da sensibilidade pulpar por EPT foi realizada em todos os pacientes. O EPT demonstrou resposta negativa antes do transplante celular. Houve uma resposta positiva após 4 semanas em quatro pacientes, sugerindo reinervação funcional no tecido pulpar

regenerado. No entanto, o paciente 2 demonstrou uma resposta negativa após 24 semanas de acompanhamento, uma vez que já havia radioluscência periapical no momento do transplante celular, apesar de uma resposta positiva durante a inscrição do paciente. O canal pulpectomizado antes do transplante celular serviu como negativo, mostrando baixo IS em todo o canal. O IS da RM nos dentes afetados demonstrou uma diminuição gradual após o transplante. O SI na parte coronal às 12 semanas foi significativamente maior em comparação com o da parte coronal às 24 semanas, sugerindo regeneração pulpar incompleta na parte coronal às 12 semanas. A avaliação do SI no canal radicular aproximou-se da polpa normal nos controles não tratados após 24 semanas. Além disso, também não houve diferença significativa no IS entre a parte apical e a parte coronal do canal radicular às 24 semanas, indicando regeneração pulpar completa [12].

A radiografia dentária com 24/28 semanas mostrou obliteração da porção apical aumentada após pulpectomia em três casos. A interpretação radiográfica na tomografia computadorizada de feixe cônico às 28 semanas demonstrou formação de dentina lateral em três casos. Uma análise mais aprofundada da área de baixa densidade pelo software de imagem médica OsiriX demonstrou que os volumes da polpa dentária às 28 semanas diminuíram em comparação com 16 semanas; mas não foi determinada diminuição do volume [12].

Até onde pode-se investigar o estudo de Nakashima representa o primeiro estudo clínico de transplante de mDPSC em dentes. Os mDPSCs caninos transplantados autólogamente no dente pulpectomizado em cães não demonstraram formação de tumor em nenhum tecido ou órgão por até 3 meses. No entanto, a questão do acompanhamento dos casos precisa fazer parte dos trabalhos subsequentes para melhor avaliação a iniciativa de regeneração pulpar a longo prazo. Esse estudo com cinco pacientes utilizou o mesmo protocolo anteriormente testado de forma pré-clínica em estudo canino. Os resultados não demonstraram complicações relacionadas ao transplante de mDPSCs, consistentes com os resultados de outros estudos sobre células-tronco de uma variedade de tecidos e com o estudo pré-clínico canino [12].

Quadro 3 – Distribuição dos estudos primários segundo categoria - Brasil, 2023.

Categoria	Identificadores dos estudos
Hidrogéis e matrizes biodegradáveis (com células-tronco)	A3, A4, A5, A11, A13, A17, A19, A21, A22

Terapia livre de <i>Scaffolds</i>	A1
Terapia com Células Induzidas	A6, A7, A8, A9, A10, A11, A12, A14, A16, A20
Materiais Biomiméticos (com células-tronco)	A2, A15, A18, A22

Fonte: Silva BRG, 2023.

A técnica apresentada no estudo de Nakashima 2017 [12] e de Brizuela 2020 [14] demonstrou um protocolo eficaz e viável como alternativa para a patologia periapical. Foi observada reação positiva do SI do tecido semelhante a da RM no canal radicular de uma polpa normal, indicando que o tecido regenerado pode transmitir sinais sensoriais e recuperar o suprimento vascular [12]. A formação de dentina lateral no dente pulpectomizado foi vantajosa para prevenir a fratura dentária. No entanto, a formação excessiva é prejudicial, por formar, por exemplo, cálculos pulpares no centro do tecido regenerado, que pode levar a menor vascularização do dente e à fragilidade [2].

No estudo de Arslan e colaboradores, metade dos dentes tratados apresentaram resposta positiva ao teste de vitalidade pulpar. Embora a falta de resposta pulpar não indica necessariamente falta de vitalidade pois a evidência radiográfica de desenvolvimento radicular contínuo em dentes imaturos indica a presença de tecido vital no espaço do canal, o que não é o caso em dentes maduros. Juntamente com as possibilidades de resultados falso-positivos, a resolução dos sinais e sintomas, considerando que bactérias residuais influenciam negativamente no resultado dos procedimentos, e a observação do progresso da cicatrização das lesões periapicais poderiam ser os únicos marcos para o sucesso clínico dos REPs em dentes maduros. O desenvolvimento futuro na avaliação da vitalidade pulpar permitirá uma avaliação mais precisa do sucesso do tratamento [14]. Este pode ser um assunto para pesquisas futuras para REPs em dentes maduros e imaturos.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O objetivo final da regeneração pulpar e, conseqüentemente, do complexo dentino-pulpar é a recuperação funcional para prolongar a vida do dente. Por ter sido encontrado apenas um estudo clínico em humanos, deve ser dada atenção especial à evolução de modelos que permitam uma representação realista da situação clínica. Isso permitiria estudar com precisão diferentes fatores, como a fonte celular (células-tronco residentes versus não residentes), mecanismos de diferenciação de odontoblastos, o ambiente pulpar, o papel da inflamação, pré-tratamento da dentina para liberar moléculas de sinalização e o fornecimento de matrizes adequadas. É importante notar que, embora haja avanços significativos nessa área, a maioria das técnicas ainda estão em estágios de pesquisa e desenvolvimento. A eficácia clínica a longo prazo e a segurança dessas abordagens precisam ser cuidadosamente avaliadas antes de sua implementação generalizada na prática odontológica.

REFERÊNCIAS

- [1] Piglionico SS, Pons C, Romieu O, Cuisinier F, Levallois B, Panayotov IV. In vitro, ex vivo, and in vivo models for dental pulp regeneration. *Journal Mater Sci Mater Med*. França, 2023.
- [2] Huang GT, Liu J, Zhu X, Yu Z, Li D, Chen CA, Azim AA. Pulp/Dentin Regeneration: It Should Be Complicated. *J Endod*. Tennessee, EUA, 2020.
- [3] Xu F, Qiao L, Zhao Y, Chen W, Hong S, Pan J, Jiang B. The potential application of concentrated growth factor in pulp regeneration: an in vitro and in vivo study. *Stem Cell Res Ther*. China, 2019.
- [4] Hu L, Gao Z, Xu J, Zhu Z, Fan Z, Zhang C, Wang J, Wang S. Decellularized Swine Dental Pulp as a Bioscaffold for Pulp Regeneration. *Biomed Res Int*. China, 2017.
- [5] Hermont AP, Zina LG, Silva KD da, Silva JM da, Martins-Júnior PA. Revisões integrativas em Odontologia: conceitos, planejamento e execução. *Arq Odonto*. 15 de março de 2022. Disponível em: <https://periodicos.ufmg.br/index.php/arquiosemodontologia/article/view/25571>
- [6] Alarcón-Gil María Teresa, Osorio Toro Sonia, Baena-Caldas Gloria Patricia. A estratégia PICO de medicina baseada em evidências aplicada à odontologia usando MeSH, Emtree e DeCS. *Rev Fac Odonto Univ Antioq*, Dezembro de 2019. Disponível em: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-246X2019000200091&lng=en
- [7] MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ* 2021. Disponível em: <http://www.prisma-statement.org/>
- [8] Dissanayaka WL, Zhu L, Hargreaves KM, Jin L, Zhang C. Scaffold-free Prevascularized Microtissue Spheroids for Pulp Regeneration. *J Dent Res*. China, 2014.
- [9] Ferroni L, Gardin C, Sivoletta S, Brunello G, Berengo M, Piattelli A, Bressan E, Zavan B. A hyaluronan-based scaffold for the in vitro construction of dental pulp-like tissue. *Int Journal Mol Sci*. Italia, 2015.
- [10] Dissanayaka WL, Hargreaves KM, Jin L, Samaranayake LP, 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 Eng Part A*. China, 2015.
- [11] Neunzehn J, Pötschke S, Hannig C, Wiesmann HP, Weber MT. Odontoblast-like differentiation and mineral formation of pulpsphere derived cells on human root canal dentin in vitro. *Head Face Med*. Alemanha, 2017.
- [12] Nakashima M, Iohara K, Murakami M, Nakamura H, Sato Y, Arijji Y, Matsushita K. Pulp regeneration by transplantation of dental pulp stem cells in pulpitis: a pilot clinical study. *Stem Cell Res Ther*. Japão, 2017.
- [13] Huang CC, Narayanan R, Warshawsky N, Ravindran S. Dual ECM Biomimetic

Scaffolds for Dental Pulp Regenerative Applications. *Front Physiol.* Chicago, EUA, 2018.

[14] Arslan H, Şahin Y, Topçuoğlu HS, Gündoğdu B. Histologic Evaluation of Regenerated Tissues in the Pulp Spaces of Teeth with Mature Roots at the Time of the Regenerative Endodontic Procedures. *J Endod.* 2019.

[15] Brizuela C, Meza G, Urrejola D, Quezada MA, Concha G, Ramírez V, Angelopoulos I, Cadiz MI, Tapia-Limonchi R, Khoury M. Cell-Based Regenerative Endodontics for Treatment of Periapical Lesions: A Randomized, Controlled Phase I/II Clinical Trial. *J Dent Res.* Santiago, Chile, 2020.

[16] Zhang S, Zhang W, Li Y, Ren L, Deng H, Yin X, Gao X, Pan S, Niu Y. Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cell Differentiation Into Odontoblast-Like Cells and Endothelial Cells: A Potential Cell Source for Dental Pulp Tissue Engineering. *Front Physiol.* China, 2020.

[17] Xia K, Chen Z, Chen J, Xu H, Xu Y, Yang T, Zhang Q. RGD- and VEGF-Mimetic Peptide Epitope-Functionalized Self-Assembling Peptide Hydrogels Promote Dentin-Pulp Complex Regeneration. *Int J Nanomedicine.* China 2020.

[18] Katata C, Sasaki JI, Li A, Abe GL, Nör JE, Hayashi M, Imazato S. Fabrication of Vascularized DPSC Constructs for Efficient Pulp Regeneration. *Journal Dent Res.* Japão, 2021.

[19] Astudillo-Ortiz E, Babo PS, Reis RL, Gomes ME. Evaluation of Injectable Hyaluronic Acid-Based Hydrogels for Endodontic Tissue Regeneration. *Materials (Basel).* Portugal, 2021.

[20] Kobayashi Y, Nouet J, Baljinnyam E, Siddiqui Z, Fine DH, Fraidenraich D, Kumar VA, Shimizu E. iPSC-derived cranial neural crest-like cells can replicate dental pulp tissue with the aid of angiogenic hydrogel. *Bioact Mater.* 2021

[21] Yang T, Xie L, Zhang RT, Tian WD. Microspheres and their Potential in Endodontic Regeneration Application. *Chinese J Dent Res.* China, 2022.

[22] Yuan X, Yuan Z, Wang Y, Wan Z, Wang X, Yu S, Han J, Huang J, Xiong C, Ge L, Cai Q, Zhao Y. Vascularized pulp regeneration via injecting simvastatin functionalized GelMA cryogel microspheres loaded with stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Mater Today Bio.* China, 2022.

[23] Widbiller M, Rosendahl A, Wölflick M, Linnebank M, Welzenbach B, Hiller KA, Buchalla W, Galler KM. Isolation of Endogenous TGF- β 1 from Root Canals for Pulp Tissue Engineering: A Translational Study. *Biology (Basel).* Alemanha, 2022.

[24] Li Q, Hu Z, Liang Y, Xu C, Hong Y, Liu X. Multifunctional peptide-conjugated nanocarriers for pulp regeneration in a full-length human tooth root. *Acta Biomater.* EUA, 2022.

[25] Vu HT, Yoon JY, Park JH, Lee HH, Dashnyam K, Kim HW, Lee JH, Shin JS, Kim JB. The Potential Application of Human Gingival Fibroblast-Conditioned Media in Pulp Regeneration: An In Vitro Study. *Cells.* China, 2022.

[26] Yu S, Zheng Y, Guo Q, Li W, Ye L, Gao B. Mechanism of Pulp Regeneration Based on Concentrated Growth Factors Regulating Cell Differentiation.

Bioengineering (Basel). China, 2023.

[27] Xuan K, Li B, Guo H, Sun W, Kou X, He X, Zhang Y, Sun J, Liu A, Liao L, Liu S, Liu W, Hu C, Shi S, Jin Y. Deciduous autologous tooth stem cells regenerate dental pulp after implantation into injured teeth. *Sci Transl Med. China*, 2018.

APÊNDICES

[Digite aqui]

ANEXOS

[Digite aqui]