FACULDADE INTEGRADA DE PERNAMBUCO - FACIPE

BACHARELADO EM ODONTOLOGIA

Edson Fróes Pereira

Viviane Kelma Rocha de Santana

REGENERAÇÃO TECIDUAL DO COMPLEXO DENTINO-PULPAR COM CÉLULAS TRONCO ADULTAS: REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA

Recife

2017

Edson Fróes Pereira
Viviane Kelma Rocha de Santana

REGENERAÇÃO TECIDUAL DO COMPLEXO DENTINO-PULPAR COM CÉLULAS TRONCO ADULTAS: REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito para a obtenção da graduação de Bacharel em Odontologia, pela Faculdade Integrada de Pernambuco -FACIPE, sob orientação da Profa. Dra. Ana Paula Veras Sobral.

Recife
2017

Edson Fróes Pereira
Viviane Kelma Rocha de Santana

REGENERAÇÃO TECIDUAL DO COMPLEXO DENTINO-PULPAR COM CÉLULAS TRONCO ADULTAS: REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito para a obtenção da graduação de Bacharel em Odontologia, pela Faculdade Integrada de Pernambuco -FACIPE, sob orientação da Profa. Dra. Ana Paula Veras Sobral.

Banca Examinadora:

_____

Orientador
(Ana Paula Veras Sobral, Profa. Dra. da disciplina de Biologia Molecular da FACIPE)

_____

1o Examinador (Vinicius Holanda, Prof. Dr. da disciplina endodontia da FACIPE)

_____

2o Examinador (Rebeca Ferraz, Prof.(a) da disciplina endodontia da FACIPE)

AGRADECIMENTOS

Agradecemos primeiramente a **Deus**, nosso pai amado, que nos sustentou em todos os momentos de nossa vida, nos fortalecendo e cuidando, à cada etapa deste sonho realizado.

A nossa querida e atenciosa orientadora **Prof.a. Dra. Ana Paula Veras Sobral**, que nos inspirou ao longo de nossa jornada acadêmica e nos conduziu excelentemente neste trabalho, fazendo assim, este trabalho ser concluído.

A nossos pais, irmãos, irmãs, sobrinhos e sobrinhas, enfim, toda nossa família. Especialmente aos nossos filhos **Gabriel Pereira e Mateus Pereira**, que curtiram cada momento desta graduação, compreendendo nossa limitação de pais estudantes/trabalhadores, e nos encheram de amor e alegria.

As nossas queridas amigas **Ivancy Correia** e **Taciana de Menezes** por estarem presentes em todos os momentos, nos apoiando, crescendo e sonhando juntos. E também nosso querido **Jobson Lucena**, que esteve sempre presente, sonhando conosco.

A nossa querida preceptora **Dra. Gilcélia Silveira**, por repassar seus conhecimentos e experiências vividas, orientando e nos guiando. Nosso carinho pelo ser humano que é.

Aos nossos **mestres professores**, que pacientemente nos conduziram, no saber e no agir. E a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para nossa formação.

“Até aqui nos ajudou o Senhor”.
1 Samuel 7:12

RESUMO

A polpa dental é um tecido conjuntivo altamente especializado, bem organizado e com restrita capacidade de reparo. Injurias a este tecido podem causar a perda parcial ou total desta capacidade. Quando há perda total da capacidade de reparo, o tratamento indicado é radical e consiste na remoção total da polpa, seguida da desinfecção do canal radicular e seu preenchimento com material inerte, isso proporciona a perda de uma significante quantidade de dentina deixando como sequela um dente não vital e enfraquecido. Todavia, a endodontia regenerativa é um campo de evolução da engenharia tecidual, que demonstrou resultados promissores utilizando células-tronco associadas à “scaffolds” e fatores de crescimento. À vista disso, o presente artigo revisa os novos avanços obtidos na regeneração do tecido pulpar através da engenharia tecidual e fornece informações sobre os diferentes aspectos envolvidos neste tipo de abordagem. Através de busca eletrônica nas bases Medline / PubMed, Cochrane e Bireme de 2012 a 17 de setembro 2017, utilizando os unitermos “Endodontic”, “Stem Cells”, “Tissue Engeneering” e “Pulp regeneration” foram obtidos os artigos. O levantamento dos dados nesta revisão demonstraram que é possível regenerar o tecido do complexo dentino/pulpar através da terapia regenerativa com células tronco. Porém, para se tornar um procedimento válido, protocolos bem delimitados e padronizados devem ser definidos através de ensaios pré-clínicos juntamente com ensaios clínicos controlados.

Descritores: Células-Tronco, Regeneração Tecidual Guiada, Endodontia, Polpa Dentária e Dentina.

ABSTRACT

The dental pulp is a highly specialized connective tissue, well organized and with limited capacity for rapair. Injury to this tissue can cause partial or total loss of this ability. When rapair capacity it´s not possible, the ideal procedure is radical treatment, witch consist in total removal of the pulp, followed by canal root disinfection and its filled with inert material, this results in a significant loss of dentin, leaving as a sequela a non-vital and weakened tooth. However, regenerative endodontics is an evolutionary field of tissue engineering, which has shown promising results using stem cells associated with scaffolds and growth factors. Therefore, this article reviews new advances in the regeneration of pulp tissue through tissue engineering and provides information on the different aspects involved in this approach. The studies were obtained through an electronic search on the Medline / PubMed, Cochrane and Bireme databases from 2012 to September 17, 2017 using the "Endodontic", "Stem Cells", "Tissue Engeneering" and "Pulp regeneration" terms. The data collection in this review showed that it is possible to regenerate the tissue of the dentin–pulp complexes through regenerative stem cell therapy. However, to become a valid procedure, well-delimited and standardized protocols should be defined through previously preclinical testing and controlled clinical trials.

Keyword: Stem Cells, Guided Tissue Regeneration, Endodontics, Dental Pulp and Dentin.

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma dos estudos selecionados e excluídos..... 5

LISTAS DE TABELAS

Tabela 1. Resumo dos principais resultados obtidos.....7

Tabela 1. (Continuação) Resumo dos principais resultados obtidos.....8

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS I
LISTA DE TABELAS II
1. INTRODUÇÃO 1
2. METODOLOGIA 3
2.1 Critérios de elegibilidade 3
2.2 Fontes de informação 3
2.3 Busca 4
2.4 Processo de coleta de dados 4
3. RESULTADOS 6
3.1 Itens de dados 6
3.2 Delineamento experimental 9
3.3 Seleção de paciente para coleta de células tronco 9
3.4 Etapa Isolamento da Célula tronco 10
3.5 Tipo de célula tronco, Tipo de Scaffold e período de acompanhamento 11
3.6 Fator de crescimento e Análise da reconstituição pulpar 16
4. DISCUSSÃO 19
5. CONCLUSÃO 22
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 23

1. INTRODUÇÃO

A polpa dental é rica em células tronco que tem como principal função promover a manutenção e a vitalidade do dente, desta forma, quando a polpa sofre um estimulo agressivo intenso, ela fica impossibilitada de realizar esta manutenção. Logo, o tratamento atualmente indicado para este tipo de situação é a substituição do tecido agredido por um material sintético inerte, isolando esta área de suprimento sanguíneo e qualquer possibilidade de regeneração tecidual (DIAS *et al.,* 2013). Wang *et al*. (2013), enfatiza que o resultado deste tratamento é vinculado a possível fragilidade dental, por falta do suprimento sanguíneo.

No panorama atual, onde a regeneração tecidual com uso de células tronco é real e cada vez mais estudada, adentrou-se no universo de terapia endodôntica, com a possibilidade de induzir a regeneração do complexo dente/polpa com uso de células tronco de origem dental, na expectativa de gerar o retorno da vitalidade pulpar e sua capacidade de reparo (DHILLON *et al*., 2016; CHREPA *et al*., 2015; FERRONI *et al*., 2015; GARZÓN *et al*., 2013; NA *et al.,* 2013; WANG *et al.,* 2013; LUI *et al*., 2015; NORSRAL *et al*., 2014; SONG *et al*., 2017; SRISUWAN *et al*., 2012; TRAM e DOAN, 2015).

A partir destas considerações, pesquisas vêm sendo realizadas para identificar o protocolo ideal de regeneração tecidual do complexo dentino/pulpar e ensaios pré-clínicos demonstram a viabilidade desta terapia, alguns requisitos básicos são encontrados, o principal é o composto da tríade de elementos, a célula tronco, o “scaffold” e os fatores de indução de crescimento (DHILLON *et al*., 2016; CHREPA *et al*., FERRONI *et al*., 2015; GARZÓN *et al*., 2013; NA *et al*., 2013; WANG *et al*., 2013 LUI *et al*., 2015; NORSRAL *et al*., 2014; SONG *el al*., 2017; SRISUWAN *et al*., 2012; TRAM e DOAN, 2015).

As células tronco são compreendidas por dois tipos, células tronco embrionárias e células tronco adultas, a primeira, originadas da massa blastocística embrionária, são totipotente, podem se diferenciar em mais de 200 tipos de célula do corpo humano, mas devido à sua plasticidade, há possibilidade de formação de teratomas (MACHADO *et al*., 2015; GOLDBERG *et al*., 2013), por isso, há restrições éticas e legais para seu uso em pesquisas e terapias regulamentadas pelo Decreto nº 5.591/05 e pela Portaria nº 2.526/05 (ANVISA, 2005). Já as células tronco

adultas, também conhecidas como somáticas, que podem ser multipotente, oligopotente ou unipotente, têm sua plasticidade limitada, desta forma, com menor risco de formação de teratomas, e podem ser encontradas em diversos locais do corpo humano (ARAGÃO *et al*., 2012; DO CARMO et al. 2012).

As células-tronco adultas localizam-se em diversos tecidos como a medula óssea, sangue de cordão umbilical, tecido adiposo, cérebro, vasos sanguíneos, músculo esquelético, osso, tecido epitelial, fígado, tecido adiposo, ligamento periodontal e na polpa dental dos dentes permanentes e decíduos (SEGUNDO *et al*., 2012; MACHADO *et al*., 2015; CORDEIRO *et al*., 2015). As células tronco residentes na polpa dental funcionam para apoiar a reparação de agressões ao complexo. Essas células são: células-tronco da polpa dentária (DPSCs), células-tronco de dentes decíduos esfoliados humanos (SHEDs) e células-tronco da papila apical (SCAPs), que são derivadas do tecido da polpa ou do precursor do tecido pulpar e demostraram ser capazes de regenerar o complexo dentina-polpa (HUANG *et al*., 2014; KAUSHIK *et al*., 2016; GONG *et al*., 2016).

Com base no exposto, o objetivo deste trabalho é realizar uma revisão sistemática da literatura acerca do uso de células tronco adultas mesenquimais de origem dental na regeneração do complexo dentino/pulpar.

2. METODOLOGIA

Esta revisão sistemática segue critérios estabelecidos pelo guia PRISMA. E foi elaborado resposta para o quesito PICO. Além de seguir a padronização das revisões publicadas da atualidade.

2.1 Critérios de elegibilidade

O índice PICO foi utilizado como critério de seleção para análise dos estudos:

1. **P**opulação: Dentes que precisam de tratamento endodôntico.
2. **I**ntervenção: Regeneração do complexo dentino-pulpar através das células tronco adultas de origem dental.
3. **C**omparação: Tratamento pulpar com o uso de células tronco adultas com diferentes tipos de arcabouços(“scaffolds”).
4. **D**esfecho (Outcome): Efetividade da regeneração do complexo dentino-pulpar através de células tronco adultas de origem dental.

Os critérios de inclusão foram determinados da seguinte forma:

1. Estudos publicados em língua Inglesa.
2. Estudos publicados nos últimos 5 anos.
3. Estudos clínicos, pré-clínico: *in vitro, ex vivo e in vivo*, estudos observacionais, estudos prospectivos, estudos laboratoriais, e estudo de revisão.

2.2 Fontes de informação

Foi realizado a busca nas bases de dados através dos descritores indexados pelo Mesh (MEDLINE/PubMed), BIREME e Cochrane Central Register of Controlled Trials. Na busca foi utilizado os unitermos “Endodontic”, “Stem Cells”, “Tissue

Engeneering” e “Pulp regeneration”. A busca foi realizada para publicações entre 2012 e 17 de setembro 2017. Todos os estudos identificados pelos critérios de inclusão foram analisados.

2.3 Busca

De acordo com os índices indexados MeSH, foram utilizado com os operadores booleanos os seguintes unitermos: "endodontics"[MeSH Terms] OR "endodontics"[All Fields]) AND ("stem cells"[MeSH Terms] OR ("stem"[All Fields] AND "cells"[All Fields]) OR "stem cells"[All Fields])) AND (("dental pulp"[MeSH Terms] OR ("dental"[All Fields] AND "pulp"[All Fields]) OR "dental pulp"[All Fields] OR "pulp"[All Fields]) AND ("regeneration"[MeSH Terms] OR "regeneration"[All Fields]))) AND ("tissue engineering"[MeSH Terms] OR ("tissue"[All Fields] AND "engineering"[All Fields]) OR "tissue engineering"[All Fields]).

Os autores não realizaram busca manual.

2.4 Processo de coleta de dados

O estudo foi realizado independente por dois revisores (VKRS e EFP) para avaliação da busca da base de dados, e as resoluções de discordâncias, quando houve, foram resolvidas após a decisão do terceiro avaliador. (APVS).

Após o rastreamento e identificação de todos os títulos e resumos de trabalhos apreciados como elegíveis foram selecionados e analisados na integra. Os detalhes da pesquisa encontram-se no fluxograma de busca e seleção dos artigos na figura 1.

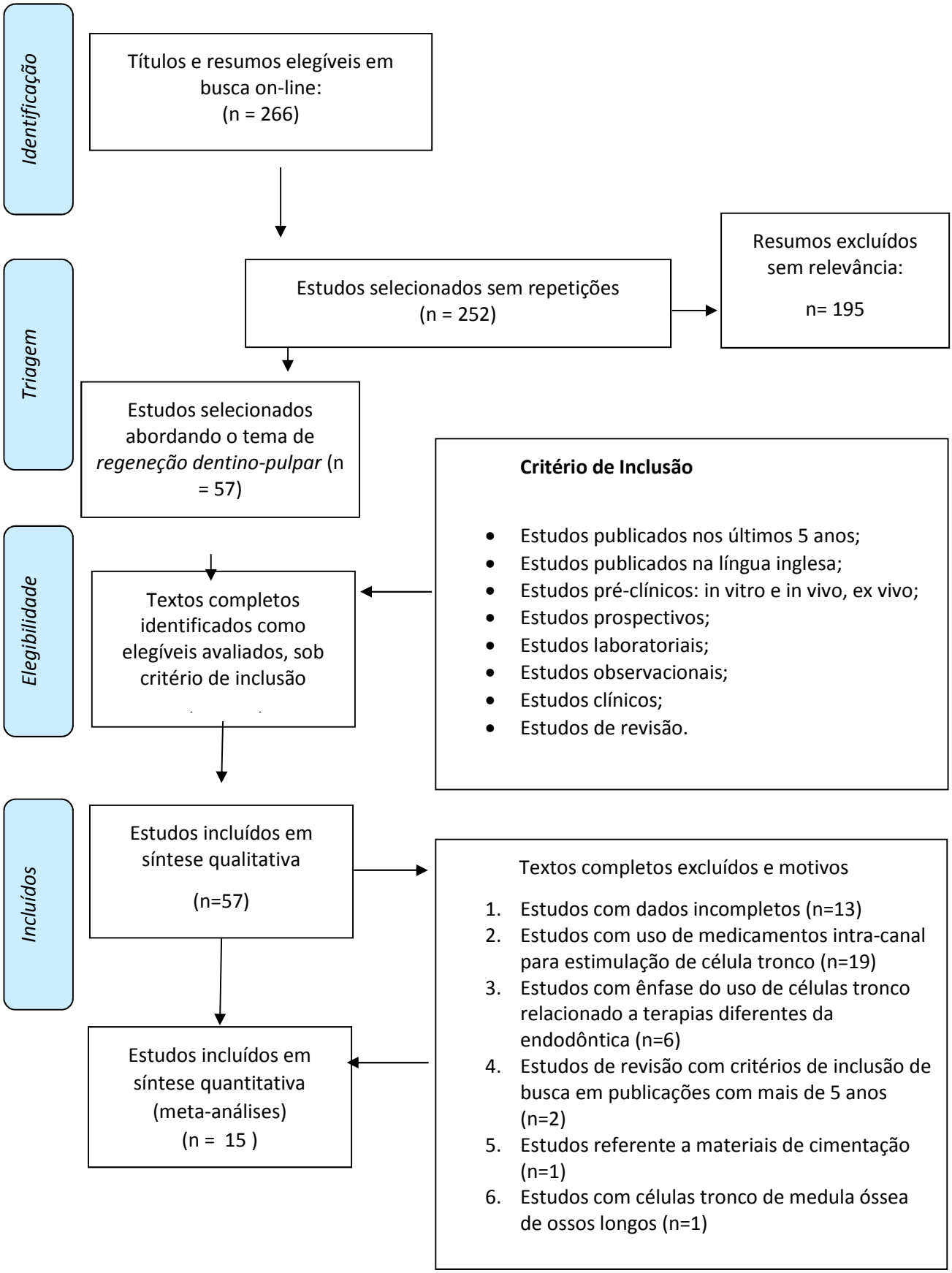

Figura 1. Fluxograma dos estudos selecionados e excluídos para revisão sistemática.

3. RESULTADOS

As pesquisas nas bases de dados revelaram 266 trabalhos, na base de dado Medline/PubMed foram 63 trabalhos, a Cochrane 195 trabalhos, e a Bireme 8. Dos 266 trabalhos, 14 foram duplicados (Medline/PubMed foram 10 trabalhos, Cochrane 1 trabalhos, e a Bireme 3), restaram 252. Uma revisão detalhada dos resumos e títulos permitiu a seleção de 57 artigos. De acordo com o critério de elegibilidade 42 estudos foram excluídos. A amostra final consistiu de 15 trabalhos.

3.1 Itens de dados

Os dados extraídos de cada estudo foram agrupados da seguinte forma: 1) Ano da publicação; 2) Autor; 3) Tipo de estudo; 4) Tipo célula tronco utilizada; 5) Tipo de scaffold utilizado; 6) Fator de crescimento; 7) Tipo de análise realizada e 8) Tempo de acompanhamento. Os principais resultados adquiridos estão resumidos na tabela 1.

Tabela 1 - Informações coletadas dos estudos

Ano de estudo	Autores	Tipo de estudo	Tipo de célula-tronco	Tipo de scaffold	Fator de crescimento	Tipo de analise realizada	Tempo de acompanhamento
2012	Srisuwan et al.	in vivo	DSCs	Gelatina Microesferas	Fator de crescimento(FGF2) Angiogenico(VEGF) Fator crescimento plaquetário (PDGF)	Imunohistoquímica/ Histologico	8 semanas
2013	Wang et al.	in vivo	DPSCs, cDPSCs	Gelfoam	Não está claro	Imunohistoquímica/ Histologico/ Radiografia	24 semanas
2013	Na et al.	in vivo	SCAPs	hDTMF(matriz de dentina humana tratada)	Sialofostatase dentinária (DSPP)/ Odontoblasto	Histológica/ Imunohistoquímica/ Western Blotting	6 semanas
2014	Huang et al.	Revisão	DPSCs, SCAPs, DHDPs	Scaffold 3D	Triade com Scaffold e Microparticulas	Vascular Fobroblasto Neural e Proteína morfogenêtica	Não está claro
2014	Nosrat et al.	Revisão	DPSCs, SCAPs	Colageno	Beta-Fibroblasto(bFGF) Vascular endotelial(VEGF) Neural(NGF) Proteína Morfogenetica Ossea(BMP7)	Não está claro	6 semanas
2015	Tram e Doan	in vivo	DPSCs	hTD(dentina humana tratada) e MTA Scaffold	Odontoblasto Osteoblasto, Colageneno tipo I (COLIAI)	Imunohistoquímica/ Histologico	8 semanas
2015	Ferroni et al.	in vivo	DPSCs, SCAPs	3d Hialuranano	Osteocalcin, Osteonectin, Fator de Von Willebrand	Imunoflorescencia	3 semanas
2015	Dias et al.	Revisão	DPSCs, SCAPs	Scaffold e Micropartículas	Fibroblasto(FGFs) Matriz de dentina (TGF, BMP, DMP, DPP, BPS, Dentinin	Histológica	Não está claro

DPSCs: Células tronco polpa dental; SCAPs: Células tronco polpa apical; DHDSCs: Células tronco derivada polpa humana

cDPSCs: células tronco de polpa dental de origem canina

PLGA: poli(L-ácido lático-co-ácido glicólico); PLLA: poli(L-ácido lático)

Tabela 1 - Informações coletadas dos estudos - continuação

Ano de estudo	Autores	Tipo de estudo	Tipo de célula-tronco	Tipo de scaffold	Fator de crescimento	Tipo de analise realizada	Tempo de acompanhamento
2015	Chrepa et al.	in vitro	DPSCs	Não usou	Osteocalcin (ONC) Nestin (NGS) Colageno tipo I (COLIAI)	ImunoHistoquímica	Não está claro
2015	Qu et al.	in vivo	DPSCs	3D Nano-estrutura gelatinosa	Col I, Osteoclacin (OCN), Odontoblasto(DMP1), OdontoblastoDSPP Fosfatase alcalina (ALP)	Histologico/ Western blotting/ ImunoFluorescencia	4 semanas
2016	Kaushik et al.	Revisão	DPSCs, SCAPs	3D Fibrina	Osteogenico	Histológica	Não está claro
2016	Dhillon et al.	Revisão	DPSCs	Puramatrix™	Osteocalcin(OCN) Osteonectin(ON) Ostepontin (OPN)	Histológica	6 semanas
2016	Gong et al.	Revisão	Celulas Mesenquimais	3D PLA, PLG, Sintético biodegradável, Natural biodegradável	Angiogenese Neurogenesi Mineralização Tecidual	Histologico/ Western Blotting	Não está claro
2017	Song et al.	in vitro	SCAPs	dHPD (dentina de humano tratado)	Não utilizaram	Imuno Histoquímica	5 semanas
2017	Garzón et al.	in vivo	DPSCs	PLLA (Micro Esferas)	Nestin, odontoblasto, Osteocalcin (ONC) Colageno tipo I COLIAI)	Imunoflorescencia/ Western Blotting	6 semanas

DPSCs: Células tronco polpa dental; SCAPs: Células tronco polpa apical; DHDSCs: Células tronco derivada polpa humana

PLGA: poli(L-ácido lático-co-ácido glicólico); PLLA: poli(L-ácido lático)

3.2 Delineamento experimental

Em uma análise dos 15 estudos selecionados, 1 foi ensaio pré-clínico *ex vivo* (HUANG *et al*., 2014), 6 ensaios pré-clínico *in vivo* (GARZÓN *et al.,* 2017; QU *et al*., 2015; FERRONI *et al*., 2015; TRAM; DOAN, 2015; NA *et al.* 2013; SRISUWAN *et al*., 2012), 2 ensaios pré-clínico *in vitro* (SONG *et al*., 2017; CHREPA *ET AL.,* 2015) e 6 estudos de revisão de literatura (GONG *et al*., 2016; DHILLHON *et al*., 2016; KAUSHIK *et al*., 2016; DIAS *et al.,* 2015; NOSRAT *et al*., 2014; HUANG *et al., 204*). Os estudos selecionados não apontaram claramente se foram realizados em apenas um único centro.

3.3 Seleção de paciente para coleta de células tronco

Os estudos analisados incluíram critérios de seleção de pacientes relacionado a coleta de células tronco, quando coletadas. Os principais critérios de inclusão para estes, foram: pacientes que apresentavam boa saúde e nenhuma contra-indicação médica. Ferroni *et al*. (2015) selecionaram pacientes entre 18 e 35 anos, com indicação de extração de terceiros molares para tratamento ortodôntico, que foram acompanhados por profissional da higiene bucal por uma semana antes da remoção dos elementos dentários. Já Song *et al*. (2017) selecionaram pacientes entre 17 e 25 anos com a mesma indicação ortodôntica. Os critérios de exclusão de Ferroni *et al*. (2015) e Song *et al*. (2017) compreenderam: pacientes que apresentavam sítios agudos de infecção; dentes careados; dentes com restaurações; pacientes com doença periodontal ou infecção oral.

Chrepa *et al*. (2015) selecionaram pacientes <18 anos de idade, com dentes indicados para tratamento endodôntico, e sistemicamente classificados pela American Society of Anesthesiologists - ASA como ASA I e ASA II, e o critério de exclusão para eles foram os pacientes que estivessem com a situação do ASA III e IV, além de pacientes que por algum motivo não quisessem participar do estudo.

Garzón *et al*. (2017), Qu *et al*., (2015) e Tram; Doan (2015) não realizaram seleção de paciente para obtenção de células tronco, porque obtiveram suas células tronco através de doações cedidas por universidades de referência. Baylor College of Dentistry, Texas A&M Health Science Center forneceram para Garzón *et al*. (2017), School of Dentisttry, The University of Southerern California gentilmente

cederam a Qu *et al*. (2015) e a Faculdade Maxilofacial (University of Science, Vietnam) doou as células para Tram; Doan (2015).

Na *et al*. (2013) não forneceram as informações de onde coletaram as células tronco. Já o Srisuwan *et al*. (2012) não utilizaram células tronco de humanos, e sim polpa dental de ratos. E Wang *et al*. (2013) utilizaram os terceiros molares impactados de um paciente jovem de 18 anos e 1º molares de cães beagles e não relataram seus critérios de elegibilidade para esta seleção.

3.4 Etapa Isolamento da Célula tronco

Os artigos que explicitaram o isolamento da célula tronco, utilizaram protocolos diferentes para a realização da extração da célula tronco da polpa dental. Ferroni *et al*. (2015) selecionaram uma população enriquecida de células tronco isoladas de 3º molares de humanos saudáveis coletadas através de cureta Gracey ou escavador, pela delicada remoção da polpa dental após a fratura mecânica do elemento dental. Song *et al*. (2017) realizaram o processo de congelamento à 80^0C dos 3º molares em uma solução salina balanceada (HBSS) da Hank´s até o momento de seu descongelamento em temperatura ambiente, logo foi submergido em Cloramina da Sigma-Aldrich por 2 horas a 4ºC e depois os tecidos do ligamento periodontal e células do cemento foram removidas com o bisturi, e os dentes foram cortados em discos de 1,5mm. Os exemplos coletados foram resfriados com o HBSS, e as células tronco da apical da polpa foram usados para este experimento.

Garzón *et al*. (2017), Qu *et al*. (2015), Tram e Doan (2015) e Na *et al*. (2013) não detalharam a coleta da célula tronco. Já Chrepa *et al*. (2015) coletaram as amostras após terem isolado os dentes selecionados com lençol de borracha e a amostra foi aspirada através de seringa 1-cc de uma paciente do sexo feminino de 35 anos de idade.

Wang *et al*. (2013) cortaram o dente na junção cemento/esmalte com broca e expuseram a polpa dental de molares e delicadamente separaram a coroa da raiz, e foram levadas à uma solução de 3mg/mL de colagenase tipo I da Sigma-Aldrich, St Louis, MO, EUA, e 4mg/mL de dipase da Sigma-Aldrich por uma hora a 37ºC.

Srisuwan *et al*. (2012), utilizaram a subpopulação de células-tronco originadas das células extraídas de polpa dental de ratos. O tecido foi cortado em fatias entre 1-

2mm e encubada na solução contendo 3mg ml^{-1} de colagenase tipo I e 4mg ml^{-1} de dipase II (Roche, Mannheim, Alemanha) em uma agitação de 37ºC por 45 minutos.

3.5 Tipo de célula tronco, Tipo de Scaffold e período de acompanhamento.

Os estudos se assemelham pelos tipos de procedimentos realizados, Song *et al*. (2017) coletaram as células tronco de dentes provenientes da UTHSCSA School of Dentistry recebidas em uma solução salina balanceada da Hank´s (HBSS) e congeladas à 80ºC, onde foram descongeladas em temperatura ambiente para sua utilização. Foram submergidas em Cloramina da (Sigma-Aldrich) por duas horas a 4ºC, depois lavadas em agua fria. Os tecidos do ligamento periodontal e células do cemento foram removidas com bisturi e os dentes cortados em discos de 1,5 mm. As amostras das células tronco coletadas foram resfriadas em HBSS. Os discos foram submetidos ao processo de descelularização para servirem como arcabouços na pesquisa, como dentina/polpa de humano descelularizada (dHDP). As células tronco de linhagem apical da polpa foram utilizadas, as de 3ª à 9ª passagem para a re-população experimental em solução basal composta pelo meio α-MEM da Sigma Aldrich contendo 10% de soro fetal bovino (IBS, Gilco, Life Technologies) e 1% da solução de L-glutamina/penicilina e estreptomicina (Gemine Bio-products) a 37ºC em 5% CO_2. A repopulação celular foi realizada pelas células tronco da região apical da polpa (SCAPs), na densidade de 1 x 170 células/ml em colágeno I (Corning) foram pipetados diretamente em cada “scaffold” (100µl) (arcabouços de dentina humana). Após uma hora, 1 ml do meio de cultura basal foi aplicado ao experimento e este meio trocado a cada três dias. Células foram cultivadas em 37ºC em 5% de CO_2 por 2/2 semanas e 5/5 semanas.

Garzón *et al*. (2017) coletaram as células tronco extraídas de 3º molares sem patologias associadas, cedidos por Baylor College od Dentistry, Texas. O meio de cultura utilizado foi o DMEM (Dulbecco's modified Eagle medium) suplementado com 10% de soro fetal bovino (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, EUA) e 1% de antibiótico e solução anti-micótica (Sigma-Aldrich) e o meio de cultura trocado a cada 3 dias. Foi realizado a subcultura e a subconfluencia com 0.5g/l de tripsina e 0.2 g/l de solução de ácido etileno-diamina tetracético (Sigma – Aldrich) a 37ºC durante 4 minutos. Os autores utilizaram células tronco da polpa dental com moldes injetáveis lisos e fibrosos, $5x10^5$ células foram colocadas em meio de cultura combinando 0,3 mg de

microesferas injetáveis de superfície fibrosa ($1x10^5$ esferas) e 3.0 mg de microesferas de superfície lisa ($1x10^5$ esferas). Então cinco dessas células tronco foram cultivadas em cada microesfera (na quantidade 5:1) nos dois tipos. Para este objetivo a suspensão das células foram misturadas com as microesferas lisas e fibrosas durante 3 horas em um sistema de agitação para favorecer o agregado das microesferas na superfície dos dois tipos de moldes. As células já anexadas à superfície do molde as Microsferas injetáveis bioativas (BIM), lisas (S-BIM) e fibrosas (F-BIM), foram obtidos e adicionados a mistura em placa de petri (10cm x 2 cm) e observados em meio de cultura por 1, 3, 7 e 14 dias com suplemento de DMEM (Dulbecco's modified Eagle medium) e 10% soro fetal bovino (Sigma-Aldrich) e 1% de antibiótico e anti-micótico da marca Sigma-Aldrich. O experimento *in vivo* procedeu na implantação de 8 segundo pré-molares superior de apenas um canal, dentes preparados em discos e lavados com hipoclorito de sódio (NaOCl) à 5,25% e instrumentados pela ProTaper Universal Rotatory (dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland), enxaguado por 5 minutos por EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético) a 17%, logo 20µl de microesferas foram implantadas dentro do canal e selados com MTA (Mineral Trioxide Aggregate, Tulsa Dental Products). A estrutura foi anexada em ratos imuno-suprimidos e acompanhados por 7, 14, e 28 dias.

Chrepa *et al*. (2015) coletaram as células através da aspiração pulpar de dente isolado com lençol de borracha, e os glóbulos vermelhos removidos com o tratamento de amônio clorido (StemCell Technologie) segundo orientações do fabricante. Logo após as células foram centrifugadas 2,500 rpm por 5 minutos, re-suspendida e levado ao meio de cultura basal a 37ºC e 5%CO_2 composta por α-minimum essencial meio de cultura da Gibco, Grande Islanda e suplementada com 10% de soro fetal bovino e L-glutamina da Gemine, e 100Um/mL de penicilina e estreotomicina (Gemini), e anfotericina B da Sigma. As colônias de células tronco da polpa foram transferidas para discos de 10 cm, mantidos e cultivados até 80% de confluência. As células de 3ª passagem foram utilizadas para citometria e diferenciação dos experimentos. Não houve o uso de arcabouço neste experimento e não está claro o tempo de acompanhamento do experimento.

Qu *et al*. (2015) utilizaram as células tronco de polpa dental (DPSCs) cedidas por Dr. Songtao Shi, da Escola de odontologia da Universidade do Sul da Califórnia. As células foram descongeladas na segunda passagem e colocadas em meio de

cultura livre de ácido ascórbico do meio α-MEM (essential meio da Gibco, Invitrogen, Carlsbad, CA), suplementadas com 10 % de soro fetal bovino (FBS – Invitrogen) e 1% de penicilina e estreptomicina (Invitrogen) e encubadas com 5% de CO_2 a 37ºC. O meio de cultura foi trocado a cada 2 dias. As células tronco utilizadas foram as da 3ª à 5ª passagem. Os "scaffolds" foram embebidos de álcool 70% por 30 minutos e foram levemente aspiradas para remoção de possíveis bolhas de ar. Os "scaffolds" 3D gelatinoso foram lavados três vezes com solução de PBS (solução salina tamponada com fosfato estéril) para remover resíduo do álcool. Após a lavagem o arcabouço foi lavado duas vezes com o α-MEM e suplementado com 10% FBS e célula tronco da polpa dental (5×10^5) foi levado ao meio de cultura. Nos arcabouços para diferenciação odontogênica foi utilizado outro tipo de meio, contendo ácido ascórbico, e foram utilizados três tipos de "scaffolds", pouco rígido, médio e muito rígido. Estes meios foram observados por 24 horas e transferidos para placa de petri. os arcabouços foram encubados com 5% CO_2. O composto célula-arcabouço foi implantado no dorso de ratos e avaliados após 4 semanas.

Tram e Doan (2015) isolaram as células tronco de 3º molares originados da Faculdade Maxilofacial (University of Science, Vietnam). Foram armazenadas em DMEM da Sigma suplementadas com penicilina 300U/ml e estreptomicina 300mg/ml também da Sigma. Partículas da polpa dental foram introduzidas em discos de 35 mm na solução DMEM/F12 adicionada de 10% de soro fetal bovino (FBS, Sigma), mantidos em 5% CO_2 a 37ºC. As células da quarta passagem foram utilizadas neste estudo. As células tronco de polpa dental (DPSCs) foram desagregadas e identificadas pela citometria. Após a transferência das células marcadas, foram fixadas durante 15 minutos em 4% de paraformaldeido. Eles foram encubados em 3% de soro bovino. As células foram lavadas e secas para serem adicionadas anticorpos por 45 minutos em temperatura ambiente. Finalmente foram lavadas e re-avalidadas. Este estudo aplicou arcabouço s diferentes, o MTA (Mineral Trioxide Aggregate, Tulsa Dental Products) como controle, e o hTD (dentina de humano tratada) agregado com células tronco de polpa dental (DPSCs), todos foram levados em meio de cultura basal de um dia para o outro a 37ºC. Então as células tronco foram adicionadas ao arcabouço em uma densidade de 3×10^4 células/molde, e encubadas por três dias em 5% CO_2 em 37ºC. Ratos foram utilizados para este experimento, onde foi implantado no dorso do rato este composto. Após 4,6 e 8

semanas os ratos foram sacrificados sob anestesia geral e as estruturas removidas para análise.

Ferroni *et al*. (2015) isolaram as células tronco de terceiros molares lavados com 0,3% clorexidina gel e extraídos e mantiveram em meio basal. Então foram imergidas em uma solução contendo 3mg/ml de colagenase tipo I da *Clostridium histolyticum* (Worthington Biochemical Corporation, Lakewood, NJ, USA) e 4 mg/mL Dispase II da *Bacillus polymyxa* (Roche Applied Science, Basel, Switzerland). Depois, a solução foi filtrada por 70-µm filtros Falcon (BD Biosciences, Mississauga, ON, Canadá). As células foram colocadas em meio de cultura basal comercial a DMEM (Lonza S.r.l., Milano, Italy) suplementado com 10% soro bovino fetal (FBS) (Bidachem S.p.A., Milano, Italy) e 1% penicilina/estreptomicina (EuroClone, Milan, Italy). Um dia após as células tronco de polpa dental foram se diferenciando em diversas colônias. Três dias após as células apresentaram forma cuboide e fusiforme. As células tronco foram implantadas dentro do arcabouço de ácido hialurônico previamente embebido fatores de crescimento neural e glial e então cultivado em osteo-endotelial meio por 21 dias.

Wang *et al*. (2013) realizaram com solução de as células tronco tanto humanas como as de cães, em 3mg/ml colagenase tipo I e 4mg/ml de dipase a filtragem por 70-µm filtros Falcon (BD Biosciences, Mississauga, ON, Canadá) e foram levados a meio de cultura contendo α-MEM meio de cultura da Gibco, suplementada com 15% de soro fetal bovino e 100U/ml de penicilina e 100mg/ml de estreptomicina e encubados a 37ºC em 5% CO_2. Após 7 dias de cultura foi fixado em formalina e corada com 0,1% azul de toluidina para visualizar a proliferação entra as diferentes células-tronco. O experimento utilizou cães para implantar dentro do canal de dentes despolpados previamente, em estágio de Nolla anterior 7-8, o arcabouço de gel de esponja absorvível e o composto de células tronco de cães (cDPSCs) e fatores de crescimento. Todos os dentes envolvidos nas experiências, um coágulo de sangue foi produzido ao nível da junção cemento-esmalte para fornecer um ambiente nutritivo para o crescimento do tecido novo, seguido por selamento de agregado de trióxido mineral na área cervical e um agregado resina (Z250; 3M ESPE, St Paul, MN) e a restauração coronal acima dela. Todos foram acompanhados por 24 semanas.

Na *et al*. (2013) isolaram as células tronco da apical do dente (SCAPs) e adicionadas em uma solução de 3mg/ml de colagenase tipo I e 4mg/ml de dipase (Gibco BRL, Gaithersburg, MD, EUA) por uma hora a 37ºC. Depois esta mistura foi filtrada por filtro 70-µm para obter as suspensões. As células foram cultivadas dentro de pratos com alfa-minimum essencial meio da α-MEM (Gibco BRL, Gaithersburg, MD, EUA), suplementada por 10% soro fetal bovino, penicilina-G 100U/ml, estreptomicina 100mg/ml e ácido ascórbico 100mg/ml, mantidos em 5% CO_2 a 37ºC. As colônias de SCAPs foram usadas em cultura com fatores de crescimento e trocado a cada dois dias. Depois foram encubadas por sete dias e observadas através de estereomicroscópio. utilizaram a matriz de dentina humana tratada (hTDMF) coletada de um pré-molar. Foram acompanhados por 6 semanas.

Srisuwan *et al*. (2012) utilizaram como protocolo, a centrifugação das células isoladas a (1500 rpm) em temperatura ambiente por 5 minutos, lavado em solução PBS (solução salina tamponada com fosfato estéril) por 5 minutos e re-suspendida em Alpha MEM (Gibco, Grand Island, NY, USA) suplementada com 20% de FCS e 100 *u*mol1^{-1} de ácido ascórbico, 2 mM de glutamine, 100 unidade -1 de Penicilina e Estreptomicina e 1% de piruvato de sódio da Sigma, St Louis, MO, EUA. Logo as células foram incubadas em um composto em 37ºC, 5% de CO_2 e este composto trocado a cada 3-5 dias. Marcadores de células dental com subpopulação de células tronco da polpa dental Tracker CM-DiI (Molecular Probles, Eugene, OR, EUA) foram utilizados. Os meios de cultura foram monitorados regularmente utilizando microscópio. As células da 3-4 passagem foram as células utilizadas no experimento. A solução corante de estoque foi preparada com a concentração de 1 µg $µl^{-1}$ utilizando o sulfóxido de dimetilo (DMSO). As células foram desagregadas do disco de cultura e contadas, e re-suspendidas em solução PBS (solução salina tamponada com fosfato estéril). Então o corante foi adicionado nas células finalizando com DMSO concentrado em <0,1% e encubado por 5 minutos a 37ºC. E este concentrado celular foi transferido para o gelo por mais 15 minutos e lavados por mais três vezes com a solução PBS e centrifugado por 1200 rpm por 5 minutos cada. A uniformidade celular foi confirmada através de um pingo da suspensão celular em lamina histológica e visualizado em microscópio de imunofluorescência. Os “scaffolds” utilizados foram preparados com microesferas gelatinosas.

3.6 Fator de crescimento e Análise da reconstituição pulpar

Song *et al*. (2017) observaram que SCAPs semeadas em arcabouços de polpa dental (dHDP), sem fatores de crescimentos exógenos, conseguiram formar estruturas parecidas com fibroblastos em todo o molde, e mudando sua morfologia perto das paredes da dentina, com células mais achatadas e projeções em túbulos dentinários. Os autores afirmam que fatores de crescimento não se faz necessário para diferenciação das células-tronco, se o arcabouço for de origem de dentina humana para a regeneração do complexo dentino/pulpar.

Garzón *et al*. (2017) realizaram experimentos *in vitro* e *in vivo*, utilizaram microesferas PLLA com células tronco de polpa dental, a análise do *in vitro* conseguiu-se avaliar que as esferas conseguem sintetizar colágeno tipo I e apresenta positivo para Nestin. Já o experimento *in vivo* apresenta células agregadas a parede de dentina parecidas com odontoblastos, matriz extra-celular e alongamento de túbulos dentinários.

Chrepa *et al*. (2015) utilizaram o kit StemPro Osteogenesis da Life Technologies, conforme instruções do fabricante, para induzir e avaliar os fatores de crescimento, como Osteocalcin (ONC), Nestin (NGS) e Colágeno tipo I (COLLIAI). Observaram que as células-tronco isoladas da polpa dental conseguiram expressar positivo para todos os marcadores e demonstraram diferenciação de mineralização.

Qu *et al*. (2015) conseguiram observar que o “scaffold” excretou perfeitamente a matriz extra-celular quando trabalhada em um meio de cultura de diferenciação celular. O molde 3D mais rígido obteve melhores resultados, mostrando tecido mineralizado perifericamente nos experimentos *in vitro* e *in vivo*. As expressões foram alta para Col I (Colageno), OCN (Osteocalcin), DMP1 (Odontoblasto), ALP (Fosfatase alcalina) e DSPP (Odontoblasto). Pode-se visualizar excreção de matriz extra-célular nos experimentos e vasos sanguíneos.

Tram; Doan (2015) visualizaram proliferação das células tronco a partir do sétimo dia, e diferenciação em odontoblastos e adipócitos a partir do 14º dia, e células arranjadas em túbulos dentinários podem ser visualizadas. A análise histológica das células tronco implantadas no hTD “scaffold” mostraram que os tecidos recém-formados eram positivos para matriz dentinária (DMP-1 e DSPP), sintetizando proteínas colágenas e que acreditam-se desempenhar o papel regulador na mineralização da dentina reparadora.

Ferroni *el al*. (2015) conseguiram obter resultados indicativos para regeneração tecidual do complexo dentino/pulpar, quando seu coquetel cultivados meio de cultura diferenciado, com fatores de osteocalcin, osteonectin, osteopontin, fator de Vol Willebrand, endotelial, neural e glial foram estimulados em arcabouço de ácido hialurônico previamente embebidos de fatores de crescimento foram expressados. Histologicamente as células foram bem distribuídas preenchendo o espaço do molde entre as fibras. As células tronco da polpa dental, junto com o "scaffold" de ácido hialurônico e fatores de crescimento estimularam produção de matriz extracelular e através da Imunofluorescência puderam confirmar que as células tronco de polpa dental conseguem sintetizar componentes da matriz com as fibras de ácido hialurônico.

Wang *et al*. (2013) utilizaram arcabouço Gelforam e células tronco de polpa dental (DPSCs) e transplantaram para canais despolpados,(em seu experimento *ex vivo* em dentes de cães) que levaram à regeneração da polpa, resultando em alongamento radicular e deposição dentinária. Além disso, uma análise histológica mostrou que essas células demonstraram uma excelente capacidade de formar dentina e vasos sanguíneos.

Na *et al*. (2013) utilizaram a matriz de dentina humana tratada (hTDMF) coletada de um pré-molar, o complexo de células tronco tratadas foram inseridas dentro do espaço do canal e o conteúdo foi implantado subcutâneo em ratos. Fatores de crescimento como odonto/osteogênico, neurogênico, adipogênico e fatores complementares de indução do complexo dentino/pulpar. Após seis semanas os fragmentos foram examinados e avaliados histológica e imuno-histoquimicamente e visualizou que a camada de dentina regenerada foi mais espessa que a matriz que a circundava, células odontoblásticas foram detectadas, os marcadores de dentina sialofosfoproteína dentinária (DSPP), sialoproteína óssea (BSP) e fosfatase alcalina (ALP) e odontoblastos foram positivos em imuno-histoquímica.

Srisuwan *et al*. (2012) utilizaram as células tronco dental, com arcabouço de microesfera de colágeno foram adicionadas a fatores de crescimento fibroblásticos (FGF-2), (VEGF) e (PDGF) em 100 ng ml^{-1} cada conjugado da gelatina foi encubada de um dia para o outro a 4ºC. No dia da cirurgia, 700µl de purificada solução de pepsina do colágeno I foi misturado com 200µl colágeno e as células suspensas em colágeno I de $2x10^6$ células por 200µl de colágeno. Os pesquisadores selecionaram

dois tipos de experimentos, um foi a implantação alógena do composto com células tronco, fatores de crescimento dentro de um canal radicular preparado mecanicamente, implantado dentro de um fêmur de um rato, e outro foi a auto re-implantação do dente de um rato do composto para dentro do canal radicular e o dente re-implantado no seu local de origem e suturado com fio 6-0 de nylon. Os dois experimentos foram acompanhados por 8 semanas. Visualizaram revascularização se tratando da implantação alógena da polpa dental dentro do fêmur, as fibras estavam bem conectadas dentro da matriz, conseguiram detectar formação de tecido que ocupou mais de 60% do espaço durante 8 semanas. Foram detectados odontoblastos, e tecido similar ao de dentina. Ao contrário do experimento de auto-reimplantação, onde as células não conseguiram sobreviver, mesmo em meio preparado com fatores de crescimento.

4. DISCUSSÃO

Atualmente, tem-se pesquisado bastante sobre células tronco encontradas na polpa dental, por seu fácil acesso e sua estabilidade (SILVA *et al*., 2016). Devido a essa facilidade, vários estudos estão sendo conduzidos com este grupo de células tronco, na área de regeneração do complexo dentino/pulpar (GONG *et al*., 2016; QU *et al.*,2015; CHERPA *et al.,* 2015; FERRONI *et al.,* 2015).

Gong *et al*. (2016), Huang *et al*. (2015) e Dias *et al*. (2013) concordam que é realmente difícil re-criar um microambiente parecido com a estrutura que ocorre durante o desenvolvimento do complexo dentino/pulpar. Porém, é possível e se faz necessário o planejamento bem estruturado para ocorrer a revitalização deste complexo.

Os autores Garzón *et al.* (2017) e Nosrat *et al*. (2014) concordam com a importância da estrutura básica necessária para a regeneração do complexo dentino/pulpar, os elementos constituintes são: célula-tronco adultas, arcabouço e fatores de crescimento. Diferentemente de Song *et al.* (2017), que concordam que apenas as células-tronco com arcabouço de dentina humana proporciona a proliferação e diferenciação celular devida para a regeneração do complexo dentino pulpar.

Garzon *et al*. (2017), Qu *et al.,* (2015), Tram; Doan (2015), Ferroni *et al*. (2015), Na *et al*. (2013) e Srisuwan *et al*. (2012) utilizaram células tronco de polpa dental para seus experimentos *in vivo*, por sua facilidade à coleta e/ou obtenção destas. Song *et al.* (2017) e Qu *et al*. (2015) também utilizaram as células tronco de origem dental, no seu estudo *in vitro*.

Quanto aos “Scaffolds”, que são estruturas tridimensionais, que servem como guia de auxílio para o desenvolvimento do tecido, por prover suporte mecânico e regulação molecular (SONG *et al*., 2017; GARZÓN *et al*., 2017; GONG *et al*., QU *et al*., 2015; TRAM; DOAN, 2015). Os diversos tipos de materiais utilizados para criar os “scaffolds” que incluem polímeros sintéticos biodegradáveis, como por exemplo ácido polilláticos (PLA), ácido poliglicóligo (PGA) e seus co-polímeros ácido polilático-co-glicólico (PLGA), Ácido Poli-L-Láctico (PLLA) e os naturais polímeros biodegradáveis como hydrogel, colágeno, fibrina, ácido hialurônico e celulose, (DIAS

et al., 2013; NOSRAT *et al*., 2014; GONG *et al*., 2016) e materiais inorgânicos como a hidroxiapatita (HA) e fosfato tricálcio (TCP) (DIAS *et al*., 2013).

Dias *et al*. (2013) acreditam que os polímeros naturais oferecem vantagens por sua boa resistência estrutural, bioatividade e biodegradabilidade, concordando com Ferroni *et al.* (2015). Porém Dias *et al*. (2013) diferentemente de Ferroni *et al*. (2015) acreditam que esses polímeros são difíceis de processar podendo causar uma reação imune. Os polímeros sintéticos fornecem vantagens como a facilidade de fabricação e excelentes propriedades mecânicas com características físico-químicas modificáveis, enquanto as desvantagens, incluem a falta de bioatividade e resposta aguda do hospedeiro.

Song *et al*. (2017) defendem que os scaffolds originados de dentina humana tradada (hTD) são ideias para a regeneração do tecido do complexo dentino/pulpar, e ressaltaram que 10 milhões de 3º molares são extraídos por ano nos Estados Unidos, mesmo sabendo que esses dentes serão descartados, na expectativa de se tornar possível fonte para arcabouços de dentina humana tradada. Os autores optaram em utilizar os arcabouços de dentina humana tradada, bem como Tram; Doan (2015) e suas respostas foram semelhantes, puderam observar tecido dentinário na periferia, com projeções em túbulos dentinários e marcação para odontoblasto positiva.

Garzón *et al*. (2017) utilizaram *arcabouços* PLLA e em seus resultados, puderam observar respostas semelhantes quanto a síntese de colágeno tipo I, além da estrutura dentina está bem organizada em sua periferia e células semelhantes a odontoblastos presentes. Wang *et al*. (2013) e Swisuwan *et al*. (2012) utilizaram arcabouços gelatinosos, e todos obtiveram os mesmos resultados, quanto a fibras conectadas de forma organizada dentro de matriz.

Múltiplos fatores de crescimento têm implicação direta no processo de regeneração pulpar, como o fator de crescimento ósseo (BMP), Vascular (VEGF), Neural (NGF) e Beta-Fibroblasto (bFGF) (NOSRAT *et al*.,2014). Dias *et al*. (2013) também pontua a importância dos fatores de crescimento de matriz de dentina (Dentonin, DMP e DPP), fator de transformação de crescimento (TGF), fator de crescimento ósseo (BMP) e de fator de crescimento fibroblástico (FGF-2).

Os fatores de crescimento são elementos indispensável para Garzón *et al*.,(2017), Kaushik *et al*. (2016), Dhillon *et al*. (2016), Chrepa *et al*. (2015) e Wang *et*

al. (2013) que identificam a importância dos fatores angiogênico (VEGF), Neural (NGF), Fibroblasto (FGFs), Osteocalcin (ONC) e COL I. Em contrapartida, Song *et al*. (2017) concluem que se uma estrutura for bioarquitetada e originada do arcabouço de dentina tradada, o ambiente será pré-programado para a estimulação destes fatores, sem a necessária indução dos mesmos.

Terapia regenerativa com uso de células tronco adultas é um campo dinâmico e amplo (MACHADO *et al*. ,2015; CORDEIRO *et al*., 2015). Este tipo de tratamento, no ambiente da endodontia, apresenta grande potencial para renovação do complexo dentino/pulpar que sofreram danos (SONG *et al*., 2017; SILVA *et al*., 2016). No entanto, os protocolos randomizados atuais ainda não estão padronizados, e não existem ensaios clínicos completos nesta linha de pesquisa (GARZÓN *et al.*, 2017, DIAS *et al*., 2015; HUANG *et al*., 2014). Os estudos em terapia endodôntica com uso de células-tronco, usam etapas correspondentes quanto aos elementos de montagem, que são eles, as células tronco adultas, os moldes que podem ser absorvíveis ou sintéticos, chamados de “scaffolds” e os fatores de crescimento (SONG *et al*. 2017 e NOSRAT *et al*. 2014). Esta combinação nos experimentos avaliados oferecem a regeneração tecidual do complexo dentino/pulpar com respostas positivas, quando há suprimento sanguíneo suficiente (GARZÓN *et al*. 2017; CHREPA *et al*., 2015 e SRISUWAN *et al*., 2012). O tratamento ainda não pode ser considerado válido, outros estudos do tipo clínico, precedidos de protocolo padrão *in vitro* e *in vivo*, devem ser realizados no intuito de estabelecer um protocolo**.**

Os trabalhos demostram que células-tronco mesenquimais de origem dental são capazes de serem guiadas à diferenciação celular, quando induzidas, através de fatores de crescimento, e conseguem não apenas proliferar, mas também se diferenciar, dando origem a estruturas semelhantes aos tecidos de o complexo dentino/pulpar. Por isso, arcabouços devem ser utilizados para auxiliar no processo organizacional da estrutura, agindo como facilitador a cada evento da regeneração tecidual, proporcionando suporte a tais células. Apesar de ainda não existir um protocolo padronizado deste tratamento endodôntico com o uso das células tronco, os resultados demonstram alta capacidade regenerativa na expectativa de ser possível sua aplicação clínica.

5. CONCLUSÃO

Foi possível concluir que:

- A célula tronco de origem dental é capaz de reconstruir estruturas semelhantes às que compõem o complexo dentino/pulpar;
- Os arcabouços PLLA (Ácido Poli-L-Láctico) são polímeros sintéticos, biodegradáveis e promovem a estrutura ideal para a disposição da proliferação celular dentro da polpa dental na regeneração do complexo dentino/pulpar;
- Os fatores de crescimento de Fibroblasto (FGF), Beta-Fibroblasto (bFGF), Osteogênico, Odontogênico, Matriz de dentina (Dentonin, DMP e DPP), Neural (NGF), fatores de transformação de crescimento (TGF), fatores de crescimento ósseo (BMP) e principalmente fatores de crescimento vascular (VEGF) são indispensáveis para a regeneração do complexo dentino/pulpar;
- Até a presente data o protocolo que apresenta maior viabilidade à aplicação, consiste na preparação do coquetel de células-tronco dental, implantada com fatores de crescimento no arcabouço de PLLA inseridos no canal dental previamente desbridado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Brasil. Lei n.11.105 de 24/03/2005 Regulamenta os incisos II, IV e V do § 1o do art. 225 da Constituição Federal, estabelece normas de segurança e mecanismos de fiscalização de atividades que envolvam organismos geneticamente modificados - OGM e seus derivados, cria o **Conselho Nacional de Biossegurança - CNBS,**. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2004-2006/2005/lei/l11105.htm. Acesso em: 20 set. 2017.

CORDEIRO, M.M. et al. Dental pulp tissue engineering with stem cells from exfoliated deciduous teeth. **J Endod**, Chicago, v. 34, no. 8, p.962-969, Aug. 2008.

CHREPA, V. et al. Delivery of apical mesenchymal stem cells into root canals of mature teeth. **Journal of dental research**, v. 94, n. 12, p. 1653-1659, 2015.

DIAS, George J.; SHARMA, Lavanya; SHARMA, Ajay. Advances in regeneration of dental pulp–a literature review. **Journal of investigative and clinical dentistry**, v. 6, n. 2, p. 85-98, 2015DO CARMO ARAGÃO, Maria Alzira; BEZERRA, Francisco Taiã Gomes. Brasil e as pesquisas com células-tronco: visão geral. **Revista da Biologia**, 2012.

DHILLON, Harnoor; KAUSHIK, Mamta; SHARMA, Roshni. Regenerative endodontics—creating new horizons. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 104, n. 4, p. 676-685, 2016.

FERRONI, Letizia et al. A hyaluronan-based scaffold for the in vitro construction of dental pulp-like tissue. **International journal of molecular sciences**, v. 16, n. 3, p. 4666-4681, 2015.

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**, 2017.

GOLDBERG, M. et al. Bioactive molecules and the future of pulp therapy**. Am J Dent**, San Antonio, v. 16, no. 1, p .66-76, Feb. 2003.

GONG, Ting et al. Current advance and future prospects of tissue engineering approach to dentin/pulp regenerative therapy. **Stem cells international**, v. 2016, 2016.

KAUSHIK, Sagar N. et al. Biomimetic microenvironments for regenerative endodontics. **Biomaterials research**, v. 20, n. 1, p. 14, 2016.

LIN, L. M.; RICUCCI, D.; HUANG, GT-J. Regeneration of the dentine–pulp complex with revitalization/revascularization therapy: challenges and hopes. **International endodontic journal**, v. 47, n. 8, p. 713-724, 2014.

MACHADO, Carolina Ellen Spínola et al. Células-tronco de origem dental: características e aplicações na medicina e odontologia. **Rev. Odontol. Araçatuba**, v. 36, n. 1, p. 36-40, 2015.

NA, Sijia et al. Regeneration of dental pulp/dentine complex with a three-dimensional and scaffold-free stem-cell sheet-derived pellet. **Journal of tissue engineering and regenerative medicine**, v. 10, n. 3, p. 261-270, 2016.

NOSRAT, Ali et al. Tissue engineering considerations in dental pulp regeneration. **Iranian endodontic journal**, v. 9, n. 1, p. 30, 2014.

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

SILVA, Luciano Barreto et al. The Promising Applications of Stem Cells in the Oral Region: Literature Review. **The open dentistry journal**, v. 10, p. 227, 2016.

SEGUNDO, Airton Vieira Leite; DO EGITO VASCONCELOS, Belmiro Cavalcanti. Células-tronco e engenharia tecidual: perspectivas de aplicação em odontologia. **Revista de Ciências Médicas**, v. 16, n. 1, 2012.

SONG, J. S. et al. Decellularized human dental pulp as a scaffold for regenerative endodontics. **Journal of Dental Research**, p. 0022034517693606, 2017.

SRISUWAN, Tanida et al. Revascularization and tissue regeneration of an empty root canal space is enhanced by a direct blood supply and stem cells. **Dental Traumatology**, v. 29, n. 2, p. 84-91, 2013.

TRAN, Ha Le Bao; DOAN, Vu Nguyen. Human dental pulp stem cells cultured onto dentin derived scaffold can regenerate dentin-like tissue in vivo. **Cell and tissue banking**, v. 16, n. 4, p. 559-568, 2015.

WANG, Yuanyuan et al. Preliminary Study on Dental Pulp Stem Cell–mediated Pulp Regeneration in Canine Immature Permanent Teeth. **Journal of Endodontics**, v. 39, n. 2, p. 195-201, 2013.