

Joaquim Fernando Grilo Ferreira

Visão do futuro da Endodontia: Células estaminais pluripotentes na regeneração tecidual.
Revisão narrativa

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade Ciências da Saúde

Porto, 2023

Joaquim Fernando Grilo Ferreira

Visão do futuro da Endodontia: Células estaminais pluripotentes na regeneração tecidual.
Revisão narrativa

Universidade Fernando Pessoa
Faculdade Ciências da Saúde

Joaquim Fernando Grilo Ferreira

Visão do futuro da Endodontia: Células estaminais pluripotentes na regeneração tecidual.

Revisão narrativa

*Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa como
parte dos requisitos para obtenção do grau de mestre em Medicina Dentária*

(Joaquim Fernando Grilo Ferreira)

Resumo

O tratamento do canal radicular em ápices maduros, a apexificação em ápices imaturos ou a extração têm sido as abordagens técnicas mais consensuais, nos casos de necrose pulpar. Equacionar uma abordagem regenerativa pode ser o tratamento ideal, remove-se a polpa necrótica e substitui-se por tecido pulpar regenerado revitalizando o dente.

A endodontia regenerativa inclui técnicas de revascularização pulpar, terapia com células estaminais, implantação pulpar e scaffolds, impressão tridimensional celular e terapia genética. Continuam a existir barreiras legais e éticas que atrasam a evolução de futuros protocolos pelo que a investigação neste sentido tem sido feita devagar.

Esta monografia pretende sumariar os métodos e requisitos necessários para a endodontia regenerativa com as diversas populações de células estaminais dentárias, bem como analisar perspectivas futuras.

Palavras-chave: células estaminais dentárias, regeneração pulpar, scaffold, fatores de crescimento, células de pluripotência induzidas, polpa.

Abstract

Root canal treatment in mature apices, apexification in immature apices, or extraction have been the most consensual technical approaches in cases of pulp necrosis. Considering a regenerative approach may be the ideal treatment, removing the necrotic pulp and replacing it with regenerated pulp tissue revitalizing the tooth.

Regenerative endodontics includes pulp revascularization techniques, stem cell therapy, pulp implantation and scaffolds, three-dimensional cell printing, and gene therapy. There are still legal and ethical barriers that delay the evolution of future protocols, so research in this direction has been done slowly.

This monograph aims to summarize the methods and requirements necessary for regenerative endodontics with the various populations of dental stem cells, as well as to analyze future perspectives.

Keywords: dental stem cells, pulp regeneration, scaffold, growth factors, induced pluripotency cells, pulp.

Agradecimentos

Queridos amigos, familiares e colegas,

Hoje, ao olhar para trás e refletir sobre minha jornada durante este curso, sinto-me profundamente grato por ter tido o apoio inestimável de cada um de vocês. Esta jornada acadêmica não teria sido a mesma sem o encorajamento, o amor e a orientação que recebi ao longo do caminho. A cada desafio que enfrentei, vocês estiveram ao meu lado, incentivando-me a persistir e acreditar em mim mesmo. Nos momentos em que duvidei das minhas capacidades, vocês sempre estiveram lá para me lembrar do meu potencial e me motivar a continuar. As palavras de incentivo, os conselhos sábios e o apoio prático que me proporcionaram foram inestimáveis. Cada mensagem de encorajamento, cada conversa inspiradora e cada gesto de solidariedade fizeram uma diferença real na minha jornada acadêmica.

Gostaria de expressar a minha gratidão aos professores e mentores que compartilharam todo o seu conhecimento comigo e me guiaram ao longo do curso. O Seu comprometimento e paixão pelo ensino foram fundamentais para o meu sucesso especialmente ao professor Duarte Nogueira. À minha família e minha namorada quero agradecer por todo o apoio constante e amor incondicional. Vocês foram a minha base sólida durante este percurso e sou profundamente grato por tudo o que fizeram por mim.

Aos meus amigos e colegas de curso, obrigado por compartilharem esta jornada comigo. As nossas trocas de experiências e colaboração foram enriquecedoras e moldaram a nossa compreensão do mundo. Às vezes, pode ser fácil subestimar a importância do apoio de pessoas próximas em momentos desafiadores. No entanto, sei que sem vocês, essa realização não teria sido possível.

À medida que avançamos nas nossas vidas, que estejamos sempre prontos para enfrentar novos desafios e alcançar novos objetivos, saibam que o apoio que recebi durante este curso continuará a inspirar e a motivar-me. Mais uma vez, do fundo do meu coração, obrigado por fazerem parte desta jornada e por torná-la tão significativa.

Com gratidão, Joaquim Ferreira

Índice

I. Introdução.....	1
1. Metodologia materiais e métodos.....	4
II. Desenvolvimento	5
1. Regeneração na Endodontia	5
1.1. Definição	5
1.2. Hipóteses terapêuticas	9
2. Células estaminais (Adultas e Embrionárias).....	10
2.1. Células estaminais mesenquimais (CEM).....	11
2.2. Células estaminais de origem não dentária	13
3. Células estaminais (mesenquimais) dentárias	14
3.1. DPSC.....	16
3.2. SHED	18
3.3. PDLSC	20
3.4. DFSC.....	21
3.5. SCAP.....	23
3.6. TGPC.....	25
3.7. GMSC	27
3.8. ABMSC.....	27
4. <i>Scaffolds</i>	28
4.1. <i>Scaffold</i> biológica/natural.....	29
4.2. <i>Scaffold</i> artificial:	30
5. Fatores de crescimento	32
III. Discussão.....	35
IV. Conclusão.....	40
V. Bibliografia.....	41

Lista de abreviaturas

BMSC - Células estaminais da medula óssea

CEE- Célula estaminal embrionária

CEM- Célula estaminal mesenquimal

CEP- Célula estaminal pluripotentes

CPP - Polifosfato de cálcio

DESC- Célula estaminal do epitélio dental (dental epithelial stem cell)

DFSC - Células estaminais precursoras do folículo dentário (dental follicle stem cell)

DPSC- Célula estaminal da polpa dentária (dental pulp stem cell)

ECM - Matriz extracelular

EGF - Fator de crescimento epidérmico

FDA- Administração de alimentos e fármacos

GMSC- Células estaminais localizadas na gengiva humana

iPS -Célula estaminal pluripotente induzida (do inglês *induced pluripotent stem cell*)

JAC - Junção amelocementária

JAD - Junção amelodentinária

MTA - Agregados minerais de trióxidos

NaOCl - Hipoclorito de sódio

PDLSC - Células estaminais do ligamento periodontal

PEG – Polietilenglicol

PGA - Ácido poliglicólico

PLA - Ácido poliláctico

PLGA - Ácido poli láctico-co-glicólico

PRP - Plasma rico em plaquetas

PRF - Plasma rico em fibrina

RGD - Ácido aspártico

SCAP - Células estaminais da papila apical

SHED - Células estaminais de dentes decíduos esfoliados

TCP - Fosfato tri-cálcio

TGPC - Células progenitoras do gérmen dentário

TGF β - Fator de transformação do crescimento beta

I. Introdução

Problemas de saúde oral, como cáries, diagnósticos de pulpite e presença de lesões periapicais, podem levar à perda precoce de dentes, tendo impacto direto na qualidade de vida do ser humano. Para abordar esses problemas, a regeneração do complexo pulpo-dentinário surgiu como uma alternativa à remoção completa da polpa, graças aos avanços na terapia de regeneração pulpar com células estaminais (Nakashima e Akamine, 2005).

Quando os sintomas indicam que estamos perante uma lesão reversível o tratamento de proteção pulpar indireta ou direta (hidróxido de cálcio ou MTA) está indicado, tendo como objetivo reparar a polpa que apresenta vitalidade e completar com a restauração de um material biocompatível, contudo, nunca serão alcançadas as propriedades mecânicas, fisiológicas, biológicas e a vitalidade do tecido original (Schmalz e Goldberg, 2011) (Sharma *et al.*, 2015).

A área da endodontia regenerativa concentra-se em explorar a viabilidade de utilizar células estaminais para restaurar dentes com polpa necrosada, com o objetivo de criar uma polpa nova (Cavalcanti, Zeitlin e Nör, 2013).

Um dos principais desafios da bioengenharia está em reconstruir tanto a estrutura como a função da polpa e dentina em dentes adultos. O uso de células estaminais é particularmente intrigante neste contexto, devido ao seu potencial. Isso ocorre porque, nos dentes adultos, as células estão em um estágio mais avançado de diferenciação, mas as células estaminais ainda oferecem viabilidade, flexibilidade e produzem menos matriz extracelular (Pikula *et al.*, 2015).

No tratamento da polpa dentária de dentes adultos, ainda não existe um tratamento regenerativo amplamente aceite. Os estudos incluem na sua metodologia o transplante de células estaminais cultivadas em laboratório e o recrutamento de células endógenas do paciente por moléculas específicas (He *et al.*, 2017).

O objetivo é usar células e fatores de crescimento para promover a revascularização da polpa, preenchendo o canal com sangue coagulado. Alguns casos, no entanto, não mostram resposta aos testes de vitalidade após esse tratamento, apesar de regenerar tecido periodontal e reduzir a lesão apical (Saghiri *et al.*, 2016).

De acordo com o seu potencial de diferenciação, as células estaminais são pluripotentes (CEP) e multipotentes (CEM) e juntamente com fatores de crescimento e scaffolds constroem um conjunto de estratégias eficazes na regeneração e restauração da função e estrutura dos tecidos (Discher, Mooney e Zandstra, 2009; Kwon *et al.*, 2018).

Para a regeneração do complexo dentina-polpa, as células estaminais mesenquimais (CEM) têm sido as mais utilizadas por produzirem citocinas importantes para o “*homing*”, proliferação e diferenciação de outras populações celulares. Exemplo das CEM mais frequentes nos estudos de regeneração tecidual dentária são as células estaminais de polpa de dente (DPSCs), de papila apical (SCAPs), de ligamento periodontal (PDLSCs), do folículo dentário (DFSCs), de dentes decíduos esfoliados (SHEDs), e do epitélio dentário (DESCs) (Charbord, 2010; Bakhtiar *et al.*, 2018; Hu, Liu e Wang, 2018).

As CEMs apresentam problemas quanto à sua utilização tais como o aparecimento de células tetraplóides após o transplante e anomalias cromossômicas após longos períodos em cultura, quantidade insuficiente e difícil acesso e alguns casos onde favoreceram o aparecimento de tumores em transplantes (Spees *et al.*, 2003; Bobis *et al.*, 2006; Yin *et al.*, 2017; Jeong *et al.*, 2011).

Por terem capacidade imunossupressora, favorecem o aparecimento de infecções virais. Como as células estaminais pluripotentes (CEP) são capazes de gerar populações de CEMs, passou-se a procurar a solução através do uso de CEPs (Bobis, Jarocha e Majka, 2006).

Os principais tipos de CEPs são as células estaminais embrionárias (CEE) e de pluripotência induzidas (iPS). É cada vez maior o recurso às iPS em medicina dentária pela alta capacidade

proliferativa, por não apresentarem limitações éticas e religiosas relacionadas com uso das CEE e por manter as características genéticas dos doadores. Desta forma poderemos vir a alcançar uma medicina dentária personalizada de acordo com ferramentas de diagnóstico por medida e de acordo com a especificidade de cada paciente (Malhotra, 2016).

iPS derivam de SCAP, DPSCs, SHED, fibroblastos da mucosa oral, fibroblastos do ligamento periodontal e células estaminais dos 3^o molares. A estética nos dentes endodonciados, e a integridade do dente em si sai prejudicada na pulpectomia, embora a taxa de sucesso do tratamento seja elevada. Os dentes perdem a sensibilidade à perda de estrutura, por isso torna-se difícil a deteção de lesões de cárie pelo paciente, lesões apicais devido a micro infiltrações na coroa e fratura vertical da raiz, o que leva também ao aumento da incidência de extração dentária (Tamaoki *et al.*, 2010; Oda *et al.*, 2010; Yan *et al.*, 2010; Miyoshi *et al.*, 2010; Wada *et al.*, 2011; Nakashima *et al.*, 2017).

Por estas razões, o desenvolvimento de uma alternativa biológica de tratamento endodôntico nomeadamente a regeneração de tecido pulpo-dentinário para revitalizar o dente torna-se extremamente importante de forma a restaurar a defesa imune do dente e também levar à regeneração da dentina perdida, algo que se demonstra difícil, arriscando mesmo afirmar impossível com o uso de materiais restauradores (Sharma *et al.*, 2015; Fouad e Verma, 2014; Saoud *et al.*, 2016).

Os estudos que analisam o potencial das células estaminais permitem ao Médico Dentista idealizar a regeneração do complexo dentina-polpa como um protocolo terapêutico. Tendo por base esta premissa, este trabalho tem como objetivo realizar uma revisão bibliográfica sobre a utilização das diversas populações de células estaminais dentárias num futuro protocolo clínico endodôntico com o fim de reverter o processo degenerativo da polpa dentária.

1. Metodologia materiais e métodos

Para elaboração deste trabalho de revisão narrativa, foi realizada uma pesquisa bibliográfica de artigos publicados em revistas científicas indexadas, através dos motores de busca MEDLINE/Pubmed, Science Direct e B-on. As palavras-chave utilizadas assim como a sua combinação para executar a procura foram: “stem cell” “endodontic treatment teeth”, “induced pluripotent stem cell”, “root fracture”, “pulp regeneration”, “adult teeth”, “dentistry”. Como critérios de inclusão foram incluídos artigos escritos em língua inglesa e portuguesa. Tendo em conta a complexidade do tema e a bibliografia dispersa, selecionados artigos publicados a partir de 1990 até à atualidade, que apresentam como objetivo de estudo técnicas e procedimentos de regeneração dentária assim como artigos no âmbito da classificação e estudo das células estaminais, os artigos foram apenas selecionados após a leitura do seu resumo e respetivos materiais e métodos. Foram excluídos livros, documentos e *edition letters* assim como artigos que não obedeciam aos critérios de inclusão. Da pesquisa bibliográfica realizada obtiveram-se 143 artigos, após aplicação dos critérios de inclusão e exclusão foram utilizados 71 artigos.

II. Desenvolvimento

1. Regeneração na Endodontia

1.1. Definição

A endodontia regenerativa é uma terapia endodôntica que consiste na remoção na sua totalidade da polpa dentária necrótica de forma a possibilitar a sua substituição por tecidos pulparens saudáveis. Quando se fala do conceito de endodontia regenerativa temos que entender que o complexo dentina-polpa que tem um papel importante na homeostase e defesa imunitária e tem também uma estrutura funcional no dente, dinâmica, tornando-se difícil mimetizar devido à sua natureza fisiológica única (Kim, 2017).

A polpa dentária é um tecido conjuntivo laxo diferente de outros tecidos conjuntivos pela presença de odontoblastos que se relacionam com a dentina. Um dos objetivos da endodontia regenerativa é tentar restaurar a polpa e a dentina de forma a funcionarem como uma unidade fisiológica a que chamamos complexo pulpo-dentinário (Kim, 2017).

A matriz extracelular (ECM) é essencial para o funcionamento do tecido conjuntivo pulpar, fornecendo suporte estrutural, mantendo as células no lugar e facilitando a comunicação entre as células. Os glicosaminoglicanos e os proteoglicanos desempenham um papel importante na regulação do ambiente extracelular, enquanto as moléculas de adesão como a fibronectina e a laminina ajudam na ancoragem das células à matriz. A presença de fibras de colágeno tipo III principalmente ao redor dos vasos e nervos sugere um papel na organização e na manutenção da estrutura dessas regiões sensíveis da polpa dentária (Adanir *et al.*, 2022).

A descrição das diferentes camadas celulares, desde os odontoblastos na periferia até o núcleo pulpar, refletem a organização complexa e a diversidade de células presentes no tecido conjuntivo pulpar. A camada de odontoblastos é crucial na produção da dentina e na interação com a polpa, enquanto a camada basal de Weil e a zona rica em células desempenham funções específicas na manutenção da polpa dentária. (Suchánek *et al.*, 2016).

A zona rica em células e o núcleo pulpar têm uma estrutura muito parecida, são compostas por vasos largos, nervos e muitas células, mais especificamente: fibroblastos, células do sistema imunitário, e células mesenquimais indiferenciadas (Suchánek *et al.*, 2016).

O "complexo pulpo-dentinário" refere-se à unidade estrutural formada pela polpa dentária e a dentina que a envolve. A polpa dentária está "enclausurada" pela dentina, o tecido duro que compõe a maior parte da estrutura do dente. A função primária da polpa dentária é de fato a produção de dentina, que é o tecido mineralizado que compõe grande parte do dente e fornece suporte estrutural. (Sharma *et al.*, 2015).

Não menos importante é o facto de a polpa dentária ter funções secundárias importantes, como nutrição, defesa (participando na resposta imune) e sensibilidade sensorial. As moléculas presentes na matriz da dentina, incluindo fatores de crescimento, proteínas não colágenas e glicosaminoglicanos, são vitais para a formação e a integridade da dentina. Essas moléculas desempenham um papel crucial na organização da estrutura da dentina e na sua resistência. (Han *et al.*, 2019).

A resistência do dente é influenciada pelo comportamento viscoelástico das proteínas da matriz. Quando essas proteínas são danificadas ou desnaturadas, isso pode comprometer a resistência global do dente. (Arola *et al.*, 2017).

Os odontoblastos são células altamente especializadas que desempenham um papel central na formação e manutenção da dentina. Eles estão localizados na periferia da polpa dentária, formando uma camada justaposta à dentina. Como você mencionou, são responsáveis por um processo chamado dentinogênese, no qual secretam a matriz orgânica da dentina, que posteriormente é mineralizada, formando a substância dentinária. Os processos odontoblásticos são prolongamentos celulares que se estendem a partir do corpo das células (odontoblastos) em direção à dentina mineralizada. Esses processos penetram na dentina e estão em contato direto com a mesma. A estrutura dos processos odontoblásticos é fundamental para a comunicação entre as células (odontoblastos) e a dentina, permitindo a

transferência de materiais e a coordenação da deposição da matriz dentinária. Além disso, o alinhamento dos processos odontoblásticos com a dentina é crucial para a interação eficaz entre as células e a matriz dentinária. Esse alinhamento permite que os odontoblastos monitorizem as mudanças na matriz dentinária e respondam apropriadamente, regulando a deposição e a mineralização da dentina durante o desenvolvimento do dente e em situações de reparação (Arana-Chavez e Massa, 2004).

Na dentinogênese o odontoblasto sintetiza e secreta os constituintes da matriz extracelular, que formam a dentina e que por fim vão ser mineralizados (Smith *et al.*, 2003).

Após a dentinogênese os odontoblastos vão depositando novas camadas de dentina ao longo da vida e podem formar um tipo de dentina reacionária/reparadora como resposta a qualquer fator externo que possa danificar o dente (descrito mais à frente) (Arana-Chavez e Massa, 2004).

Durante o desenvolvimento inicial do dente, o tecido dentário é formado por meio de interações entre células epiteliais e células mesenquimais na papila dentária. Essas interações estimulam células mesenquimais a se transformarem em odontoblastos, que são responsáveis pela criação da dentina primária (Smith *et al.*, 2003).

O odontoblasto é uma célula que não pode se dividir, sendo pós-mitótica, o que significa que não possui a capacidade de proliferação ou regeneração. Após a morte dos odontoblastos, é necessário recrutar células estaminais/progenitoras para manter o tecido da polpa. Essas células diferenciam-se em odontoblastos, garantindo a continuidade do tecido (Simon e Smith, 2014).

O comportamento do complexo pulpo-dentinário em resposta a um estímulo de agressão, seja traumática ou por cárie, dependendo da sua extensão, tem influência na resposta celular subsequente. Em lesões iniciais, a polpa responde com maior atividade secretora dos odontoblastos, levando à deposição de dentina reativa, uma variante da dentina terciária. Essa resposta celular pode ser vista como uma defesa, fortalecendo a barreira contra bactérias, ou como regeneração, restaurando a integridade estrutural. A dentina reacionária é originada de

odontoblastos existentes, possui estrutura tubular semelhante à dentina primária e se comporta de maneira similar (Simon e Smith, 2014).

A dentinogênese reacionária é um processo mais rápido e simples em comparação com a dentinogênese reparadora, mencionada posteriormente. No entanto, é desafiador distinguir clinicamente entre esses dois processos (Femiano *et al.*, 2014).

A dentina primária contém túbulos dentinários que possuem diferentes tamanhos, com os menores na junção amelodentinária (JAD) e os maiores na porção coronal. Esses túbulos formam um trajeto para os odontoblastos, que são as células que os ocupam. A densidade dos túbulos aumenta em direção à câmara pulpar. Cada túbulo tem uma zona de baixo colágeno cercada por dentina peritubular hipermineralizada (Shah *et al.*, 2019).

Em lesões extensas, uma resposta normal de cicatrização ocorre na polpa, onde células-tronco se diferenciam em novos odontoblastos. Esses novos odontoblastos secretam dentina reparadora na área afetada. Essa dentina reparadora pode ter uma estrutura variada, incluindo tubos normais, desorganizados ou ausentes, refletindo diferenças patológicas em relação ao processo fisiológico de dentinogênese (Simon e Smith, 2014).

A dentinogênese reparadora é um processo mais complexo em relação à dentinogênese reacionária. Ela envolve o recrutamento, proliferação e diferenciação de células estaminais no local da lesão, resultando em novos odontoblastos com atividade secretora aumentada. A diferença entre os dois tipos: a dentina reacionária é secretada por odontoblastos sobreviventes ao estímulo, enquanto a dentina reparadora é secretada por uma nova geração de odontoblastos após a morte dos originais (Smith *et al.*, 2003).

Em lesões extensas com inflamação descontrolada, moléculas inflamatórias e imunitárias podem inibir a cicatrização, levando eventualmente à morte celular (Sharma *et al.*, 2015).

A regeneração do tecido pulpar após uma pulpectomia, que envolve a remoção total da polpa, tem sido desafiadora devido à falta de revascularização. A ausência de vascularização lateral na dentina, além da limitada vascularização apenas no ápice, dificulta a diferenciação das

células-tronco em odontoblastos e o seu arranjo espacial. A revascularização através de um coágulo sanguíneo é uma técnica para dentes imaturos com ápice aberto. Para dentes maduros, as engenharias de tecidos com células estaminais têm potencial para a regeneração pulpar. Substituir os tecidos pulpares é um objetivo dos estudos atuais. A engenharia de tecidos envolve células estaminais, fatores de crescimento e um suporte estrutural. Essa abordagem visa alcançar a formação de novo tecido pulpar (Sharma *et al.*, 2015).

Atualmente, alguns pesquisadores estão expandindo e atualizando a abordagem conhecida como "tríade". Eles incluem três componentes essenciais: células estaminais mesenquimais, fatores de crescimento ou citocinas para diferenciação, e um ambiente de suporte (*scaffold* ou matriz extracelular) (Nakashima *et al.*, 2017).

1.2. Hipóteses terapêuticas

Revascularização pulpar consiste em permitir o sangramento no interior dos canais através da abertura do ápice do dente (1mm) com grande risco de reinfeção e necrose, mas com baixo risco de imuno-rejeição e transmissão de patologias. A terapia com células estaminais autólogas ou alogênicas é uma hipótese terapêutica rápida, provoca menos dor, a colheita e a colocação é mais fácil, a colocação no dente é feita através de matriz injetável, no entanto não se consegue obter uma nova polpa funcional devido à elevada morte celular. Outra alternativa com baixa taxa de sobrevivência celular é o implante de *scaffold*, através de uma bem suportada estrutura de polímeros a que chamamos *scaffold 3D*, onde são colocadas as células pulpares e de seguida implantadas cirurgicamente, é necessário planejar a estrutura para que o ajuste ao canal seja o adequado. Esta técnica promove uma boa vascularização. Os *scaffolds* injetáveis de fácil colocação promovem a regeneração aquando da substituição da matriz extracelular, no entanto a taxa de morte celular é elevada e ausência de resultados conclusivos. Uma melhor opção terapêutica é a implantação pulpar, por ter na sua base uma estrutura organizada (papel), trabalho de cultivo de tecido pulpar em laboratório e posteriormente implantado cirurgicamente. Esta técnica é de fácil controlo, no entanto não promove vascularização. Uma alternativa bastante ambiciosa e interessante é a terapia

genética uma vez que transfere genes mineralizadores para células pulpares vitais de dentes necrosados e sintomáticos. A terapia genética ainda não aprovada pela FDA possivelmente pelo risco de ter problemas de saúde, esta alternativa pode evitar a instrumentação e limpeza do canal radicular. Por último a impressão celular 3D que consiste em diversas camadas de células que são colocadas sobre um hidrogel para implantação cirúrgica, permite posicionar vários tipos de células de forma estratégica e planeada, faltando apenas resultados conclusivos *in vivo* para sustentar esta terapêutica (Murray, Garcia-Godoy, e Hargreaves., 2007).

2. Células estaminais (Adultas e Embrionárias)

Células estaminais são células não especializadas reconhecidas pela sua habilidade de se proliferarem e diferenciarem em diversos tipos celulares, variando conforme a localização e as células que podem formar (Egusa *et al.*, 2012).

Há duas principais fontes de células estaminais: células estaminais adultas e células estaminais embrionárias. As células estaminais embrionárias, sendo pluripotentes, podem diferenciar-se numa ampla gama de tipos celulares das três camadas germinativas. Em contraste, as células estaminais adultas são multipotentes, capazes de diferenciar-se apenas em um número limitado de tipos celulares da mesma camada germinativa (Egusa *et al.*, 2012).

Na engenharia de tecidos pulpares, as células estaminais desempenham um papel fundamental. Em comparação com a alternativa de transplantar diversos tipos celulares da polpa e organizá-los espacialmente de forma correta para reproduzir a arquitetura original, o uso de células estaminais é mais simples e lógico (Sharma *et al.*, 2015).

As células estaminais embrionárias, como mencionado, são pluripotentes e desempenham um papel vital no desenvolvimento embrionário, dando origem a tecidos como osso, cartilagem, tendões, ligamentos e tecido conjuntivo (Caplan, 1991).

As células estaminais embrionárias, apesar de possuírem um alto potencial de reparação e regeneração de tecidos, apresentam preocupações éticas e de segurança. Como alternativa, às células estaminais adultas, como as células estaminais mesenquimais (CEMs), são mais práticas devido à ausência dessas preocupações. Elas são encontradas em diversos tecidos, como tecido adiposo, medula óssea, pele, certos tecidos dentários e no cordão umbilical. As CEMs são vantajosas para a engenharia de tecidos, pois são auto-renováveis e podem se diferenciar em outros tipos celulares em ambientes distintos (Sharma, 2015).

Essas células estaminais adultas e as suas progenitoras dividem-se e diferenciam-se com base nos fatores de crescimento presentes no microambiente onde estão localizadas, conhecidos como nichos de células estaminais. A terapia regenerativa busca recriar esses microambientes para promover a regeneração (Marí-Beffa, Segura-Egea e Díaz-Cuenca, 2017).

2.1. Células estaminais mesenquimais (CEM)

As células estaminais adultas, também conhecidas como células estaminais somáticas ou pós-natais, são um tipo de célula especial que está presente nos tecidos do corpo após o nascimento e ao longo da vida. O que as torna especiais é a sua capacidade única de se auto renovar, ou seja, de se dividirem e produzirem cópias de si mesmas, e também a sua capacidade de se diferenciarem em diferentes tipos de células especializadas encontradas nos tecidos onde estão localizadas (Cervelló *et al.*, 2013).

Essas células estaminais desempenham um papel importante na manutenção e reparo dos tecidos do corpo. Quando o corpo sofre lesões ou danos, as células estaminais adultas podem ser ativadas para se dividirem e se diferenciarem em células específicas necessárias para reparar o tecido danificado. Isso faz com que as células estaminais adultas sejam consideradas uma fonte valiosa para a regeneração de tecidos e para o desenvolvimento de terapias médicas (Gurusamy *et al.*, 2018).

Ao contrário das células estaminais embrionárias, que são encontradas nos embriões em desenvolvimento e têm a capacidade de se diferenciarem em qualquer tipo de célula no corpo, as células estaminais adultas são multipotentes, o que significa que geralmente só podem se diferenciar em tipos celulares específicos relacionados com o tecido onde estão localizadas. As células estaminais adultas podem ser encontradas em diversos tecidos, como medula óssea, sangue periférico, tecido adiposo, pele, fígado e muitos outros. Elas são alvo de extensa pesquisa na área da medicina regenerativa, visando utilizar seu potencial para tratar lesões, doenças e condições médicas diversas (Gurusamy *et al.*, 2018).

As células estaminais adultas possuem um grau limitado de plasticidade, o que significa que têm a capacidade de se diferenciarem em tipos celulares além daqueles normalmente encontrados no tecido onde estão localizadas. Embora não possuam a mesma amplitude de potencial de diferenciação que as células estaminais embrionárias, as células estaminais adultas podem ser estimuladas em certas condições a diferenciarem-se em tipos celulares diferentes dos esperados. Essa plasticidade celular pode ter implicações importantes na área da medicina regenerativa. Por exemplo, em situações que as células de um tecido específico estão danificadas ou não são suficientes, as células estaminais adultas de outro tecido podem ser direcionadas para se diferenciarem em células desejadas para o reparo ou substituição de tecidos danificados (Dulak *et al.*, 2015).

Entretanto, é importante notar que a plasticidade das células estaminais adultas não é tão ampla quanto a das células estaminais embrionárias. As células estaminais adultas geralmente têm uma maior propensão a diferenciar-se em tipos celulares relacionados com tecido de origem. A plasticidade pode variar dependendo do tipo de célula estaminal e das condições do ambiente em que são cultivadas. Portanto, enquanto a plasticidade é uma característica das células estaminais adultas, ela é mais limitada em comparação com as células estaminais embrionárias. CEM estão presentes em tecidos mesenquimais e podem ser encontradas em vários locais na cavidade oral, incluindo nichos de células estaminais específicas. Elas possuem a característica de poder se dividir indefinidamente, e seu destino de diferenciação é influenciado por fatores internos e externos (Dulak *et al.*, 2015).

Quando as CEM entram em um caminho específico de diferenciação, o seu potencial de se diferenciar numa variedade de tecidos é comprometido, e elas são direcionadas para se tornarem um tipo particular de células com funções características. A diferenciação das CEM depende de sinais emitidos por células vizinhas e por elas próprias, ou seja, regulação parácrina e autócrina (parácrina, o mensageiro biológico passa de célula para a célula vizinha por difusão no tecido intercelular; autócrina, o processo ocorre dentro da mesma célula ou células de tipo idêntico). As CEM podem ser isoladas e cultivadas em laboratório, onde têm a capacidade de aderir a superfícies tratadas para cultura celular. Estudos anteriores, como o de Pittenger em 1999, classificaram células da medula óssea da crista ilíaca como CEM e demonstraram sua capacidade de se diferenciar em várias linhagens celulares sob condições controladas *in vitro*. Além disso, essas células também têm sido associadas aos tecidos dentários, visto que os tecidos periodontais e pulpares têm a capacidade de se regenerar naturalmente em resposta a lesões ou tratamentos dentários, sugerindo a presença de células estaminais envolvidas nesse processo (Pittenger., 1999; Egusa *et al.*, 2012).

2.2. Células estaminais de origem não dentária

Células estaminais de origem não dentária, também conhecidas como células estaminais não odontogênicas ou células estaminais mesenquimais de fontes não dentárias, são um tipo de células multipotentes que não são derivadas diretamente de tecidos dentários. Em vez disso, são obtidas de diversos tecidos e órgãos do corpo que não estão relacionados aos dentes. Essas células possuem a capacidade de se diferenciarem em vários tipos celulares, como células ósseas, cartilagosas, adiposas e de outros tecidos conjuntivos (Lagarkova, 2019).

As células estaminais de origem não dentária têm sido amplamente estudadas devido ao seu potencial para aplicações clínicas e terapêuticas na medicina regenerativa. Elas oferecem várias vantagens, como facilidade de obtenção e isolamento, além de não levantarem questões éticas, como é o caso das células estaminais embrionárias (Egusa *et al.*, 2012).

As fontes não dentárias mais comuns para a obtenção dessas células incluem:

Medula Óssea: As células estaminais da medula óssea, muitas vezes referidas como células-tronco mesenquimais da medula óssea (BMSC), são multipotentes e podem diferenciar-se em várias linhagens de tecidos conjuntivos. Elas são frequentemente usadas em estudos e terapias de regeneração óssea (Comazetto *et al.*, 2021).

Crista Ilíaca: A crista ilíaca é uma das principais fontes de BMSC. Essas células têm sido amplamente investigadas devido à sua capacidade de diferenciação em diversas linhagens celulares e são utilizadas em pesquisas e tratamentos regenerativos (Ogawa *et al.*, 2021).

Medula Óssea Orofacial: Além da crista ilíaca, as células estaminais da medula óssea provenientes da região orofacial, como maxila e mandíbula, têm sido consideradas para aplicações em odontologia e regeneração de tecidos faciais (Comazetto *et al.*, 2021).

Tecido Adiposo: As células estaminais derivadas do tecido adiposo, conhecidas como células estaminais mesenquimais do tecido adiposo (ADSC), têm a capacidade de se diferenciarem em várias linhagens, incluindo células adiposas, osteogênicas e condrogênicas (Al-Ghadban, Bunnell, 2020).

Cordão Umbilical: As células-tronco obtidas do cordão umbilical são uma fonte valiosa para pesquisas e terapias regenerativas. Essas células têm o potencial de se diferenciarem em vários tipos celulares e são coletadas de maneira não invasiva após o nascimento (Ding *et al.*, 2015).

Placenta: A placenta também pode ser uma fonte de células-estaminais com capacidade de diferenciação em diferentes tipos celulares (Antoniadou e David, 2015).

Estas células estaminais de origem não dentária têm sido exploradas para uma variedade de aplicações clínicas, incluindo regeneração de tecidos ósseos, cartilagosos e outros tipos de tecidos conjuntivos, além de terapias para condições degenerativas e lesões. Seu potencial de

diferenciação e seu amplo espectro de fontes tornam-nas uma opção promissora na busca por tratamentos regenerativos (Egusa *et al.*, 2012)

3. Células estaminais (mesenquimais) dentárias

As células estaminais mesenquimais de origem dentária são um tipo especial de células encontradas em tecidos dentários, que possuem características únicas e um grande potencial para aplicações médicas e regenerativas. Estas células têm a capacidade de se transformar em vários tipos de células, como as que formam osso, cartilagem, gordura e outros tecidos conjuntivos. Elas são chamadas "mesenquimais" devido à sua origem na camada mesenquimal, que é uma das camadas embrionárias a partir da qual se desenvolvem vários tipos de tecidos no corpo (Sharma *et al.*, 2015)

Uma das principais fontes de células estaminais mesenquimais de origem dentária é o tecido da polpa dentária, que está localizado no interior do dente. Outra fonte importante é o ligamento periodontal, que é o tecido que liga o dente ao osso. Além disso, as células-tronco também podem ser isoladas da papila apical, que é uma região na ponta da raiz do dente, e do folículo dentário, que envolve o dente em desenvolvimento (Sui *et al.*, 2020).

A grande vantagem dessas células é que elas podem ser obtidas a partir de resíduos de procedimentos dentários, como extrações de dentes do siso, por exemplo. Isso torna o processo menos invasivo e mais ético em comparação com outras fontes de células-tronco (Sui *et al.*, 2020).

As células estaminais mesenquimais de origem dentária têm um potencial significativo para regenerar e reparar tecidos danificados. Elas têm sido estudadas para uma variedade de aplicações médicas, incluindo regeneração óssea e cartilaginosa, tratamento de doenças periodontais, lesões na medula espinhal, doenças autoimunes e até mesmo regeneração de tecidos nervosos (Huang, Gronthos e Shi, 2009).

Além disso, estas células também têm a capacidade de modular o sistema imunológico, o que as torna interessantes para o desenvolvimento de terapias para doenças autoimunes e inflamatórias (Weng *et al.*, 2021).

Em resumo, as células estaminais mesenquimais de origem dentária são uma fonte valiosa de células com potencial terapêutico em várias áreas da medicina regenerativa. A sua capacidade de diferenciação em vários tipos de tecidos, a facilidade de obtenção e o baixo risco ético tornam-nas uma opção promissora para o futuro tratamento de várias condições médicas. (Suchánek *et al.*, 2016).

3.1. DPSC

As células estaminais da polpa dentária são um tipo de células com características especiais, encontradas no interior dos dentes, na área conhecida como polpa dentária. A grande vantagem das células estaminais da polpa dentária é que elas podem ser facilmente obtidas a partir de dentes que são extraídos, como dentes do siso ou dentes decíduos que caem naturalmente. Isso torna o processo de obtenção mais simples e ético em comparação com outras fontes de células estaminais. Essas células estaminais têm sido objeto de muita pesquisa devido ao seu potencial terapêutico em várias áreas da medicina. Elas têm sido estudadas para aplicações como regeneração óssea, tratamento de lesões na medula espinhal, doenças neurodegenerativas, lesões em tecidos conjuntivos e até mesmo para o tratamento de certas doenças autoimunes. As células estaminais da polpa dentária têm mostrado a capacidade de se multiplicar e se diferenciar em diferentes tipos celulares em condições de laboratório. No entanto, é importante ressaltar que ainda existem muitas pesquisas em andamento para entender completamente o seu potencial e desenvolver aplicações clínicas eficazes. Em resumo, as células estaminais da polpa dentária são uma fonte promissora de células com grande potencial para regeneração e tratamento de várias condições médicas. A sua obtenção relativamente fácil e a sua capacidade de diferenciação em diversos tipos celulares fazem delas uma área de pesquisa promissora na medicina regenerativa (Sui *et al.*, 2020).

Em 2000, foram identificadas pela primeira vez células estaminais na polpa dentária, conhecidas como DPSC (Células Estaminais da Polpa Dentária). Essas células apresentam características semelhantes às células estaminais encontradas na medula óssea (Shi, Robey e Gronthos, 2001).

Apesar de termos um bom entendimento do desenvolvimento dos dentes, ainda há poucos conhecimentos sobre as células precursoras existentes no organismo após o nascimento. Sugere-se que os odontoblastos, as células responsáveis pela formação da dentina, derivam da proliferação de uma população precursora presente no tecido pulpar. A qualidade e características das linhagens de células estaminais na polpa dentária variam conforme o tipo de dentição (decídua, primária, permanente) e o nível de maturação dos dentes (Hosoya *et al.*, 2020).

Os dentes mais comumente utilizados para isolar DPSC são os primeiros pré-molares e os terceiros molares, pois normalmente são extraídos em idades jovens. Os primeiros pré-molares são removidos por razões ortodônticas logo após a erupção, em torno dos 12 anos, quando os tecidos dentários ainda são jovens e as raízes não estão totalmente desenvolvidas. Os terceiros molares, também conhecidos como dentes do siso, são extraídos para evitar complicações ou por razões ortodônticas entre os 16 e 30 anos. Nesse momento, esses dentes já estão em grande parte desenvolvidos. (Suchánek *et al.*, 2016).

- Extração da Polpa Dentária Intacta

Para preservar a integridade do tecido pulpar durante a extração, é crucial adotar um método que cause o mínimo de destruição possível, sendo que a escolha varia conforme o estágio de desenvolvimento do dente. A polpa dentária, composta por tecido conjuntivo e odontoblastos, está contida na câmara pulpar. À medida que o dente se desenvolve, a polpa fica progressivamente aprisionada nas paredes da câmara pulpar, restando apenas um pequeno orifício (0,25-0,35 mm) no ápice radicular, conhecido como forame apical fisiológico, pelo qual passam os nervos e vasos sanguíneos. Extrair pela abertura apical; dividir o dente com uma broca; dividir o dente com fórceps. O primeiro método é considerado o mais simples e eficaz. No entanto, só pode ser aplicado

a dentes com o forame apical aberto (cerca de 2 mm), sendo reservado para dentes em desenvolvimento (polpa dentária imatura na primeira e segunda dentição) ou com reabsorção radicular (polpa dentária na primeira dentição). Para o primeiro método, a polpa é cuidadosamente separada da dentina (geralmente com uma agulha) e depois puxada com uma pinça de aço inoxidável modelo ADSON (Suchánek *et al.*, 2016).

Quando o forame apical é muito estreito, recorre-se a métodos que envolvem a desintegração do tecido duro ao redor da polpa. Nos métodos que dividem o dente em dois pela junção amelocementária, são utilizados fórceps (esmagando a junção) ou uma broca diamantada de 200,000 rpm em um contra ângulo de alta rotação. Após o corte, a polpa é removida conforme descrito no primeiro método. É importante salientar que os métodos que utilizam broca podem aquecer excessivamente a polpa durante o corte. Apesar desses métodos mecânicos serem mais complexos, demorados e menos eficazes na obtenção de tecido (em comparação com o primeiro método), oferecem aos investigadores acesso a uma gama mais ampla de doadores e tecidos disponíveis (Suchánek *et al.*, 2016).

3.2. SHED

As células estaminais presentes nos dentes decíduos (também conhecidos como dentes de leite) esfoliados naturalmente têm despertado interesse na pesquisa médica e regenerativa. Os dentes decíduos são substituídos pelos dentes permanentes durante o processo de crescimento, e à medida que caem naturalmente, levantam a possibilidade de recolher células estaminais do tecido dentário remanescente (Egusa *et al.*, 2012).

As células estaminais dos dentes decíduos têm semelhanças com as células estaminais mesenquimais encontradas noutras fontes, como a medula óssea. No entanto, a coleta dessas células é menos invasiva e mais eticamente aceitável, uma vez que os dentes são naturalmente eliminados e a coleta não requer procedimentos cirúrgicos adicionais. Além disso, as células estaminais dos dentes decíduos podem ser isoladas a partir de dentes que não estão totalmente desenvolvidos, como os dentes decíduos imaturos (Egusa *et al.*, 2012).

Essas células estaminais podem ser isoladas da polpa dentária e preservadas para uso futuro em potenciais tratamentos regenerativos. Acredita-se que essas células possuam a capacidade de se diferenciar em várias linhagens celulares, incluindo osteoblastos (responsáveis pela formação óssea), adipócitos (células de gordura) e condroblastos (responsáveis pela formação de cartilagem). Isso torna-as candidatas promissoras para aplicações médicas, como regeneração de tecidos, tratamento de lesões e doenças (Miura *et al.*, 2003).

Embora ainda seja uma área de pesquisa em desenvolvimento, as células estaminais provenientes de dentes decíduos esfoliados naturalmente mostram potencial para serem usadas em terapias regenerativas e tratamentos médicos inovadores (Suchánek *et al.*, 2016).

Em comparação com as BMSC e as DPSC, as SHED mostraram uma taxa de proliferação maior e uma população final duplicada (Miura *et al.*, 2003).

As células estaminais provenientes dos dentes decíduos humanos, conhecidas como SHED (*Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous Teeth*), têm a sua origem na crista neural embrionária e são células estaminais mesenquimais da camada ectodérmica. Estas células são isoladas a partir dos dentes decíduos e apresentam os mesmos marcadores celulares que as Células Estaminais Embrionárias (ESCs), tais como OCT4 e NANOG, o que as torna de grande importância para aplicações clínicas. As SHED têm taxas de multiplicação mais elevadas, uma atividade telomerase mais intensa, maior capacidade de duplicação celular, formam aglomerados em forma de esferas e podem diferenciar-se em vários tipos de células de forma versátil e ainda imatura. Esta grande versatilidade faz das SHED uma das fontes mais populares de células estaminais para a engenharia biomédica (Ko, Chen e Su, 2020).

É importante considerar que a quantidade de células estaminais presentes nos dentes decíduos esfoliados naturalmente diminui à medida que a polpa retrocede, sendo substituída por gengiva. Para garantir uma população adequada de células estaminais para isolamento, geralmente são selecionados dentes decíduos que possuam pelo menos 1/3 do comprimento original da raiz após o início da reabsorção da dentição primária. No caso de dentes

multirradiculares, é preferível isolar células estaminais a partir de dentes com a furca ainda presente. A faixa etária ideal para a extração dos dentes decíduos visando o isolamento de células estaminais da polpa é entre 5 e 9 anos. Além disso, é importante verificar se existem lesões de cárie, pois dentes com tais lesões não são adequados para esse propósito (Suchánek *et al.*, 2016).

3.3. PDLSC

As células estaminais do ligamento periodontal (PDLSCs) são um tipo de células estaminais presentes no ligamento periodontal, que é o tecido que conecta o dente ao osso alveolar que o rodeia. Essas células estaminais têm a capacidade de se diferenciar em vários tipos de células, incluindo células ósseas, células de cartilagem e células de tecido conjuntivo. Isso as torna potencialmente valiosas para a regeneração e reparação de tecidos periodontais danificados devido a doenças periodontais, traumas ou procedimentos dentários (Tomokiyo, Wada e Maeda, 2019).

Para obter células estaminais do ligamento periodontal, geralmente são realizados procedimentos cirúrgicos mínimos, como a extração de dentes impactados ou a remoção de dentes do siso. Durante esses procedimentos, é possível coletar uma amostra do ligamento periodontal, que contém as células estaminais. Essas células são isoladas a partir da amostra coletada e depois cultivadas em laboratório para aumentar seu número. (Suchánek *et al.*, 2016).

A obtenção de células estaminais do ligamento periodontal é menos invasiva do que em algumas outras fontes, como a medula óssea, e possui potencial para aplicações em terapias de regeneração periodontal e reconstrução óssea. No entanto, é importante respeitar as normas éticas e de segurança ao realizar procedimentos cirúrgicos para a coleta dessas células. Após algumas experiências em animais verificou-se que estas células têm a capacidade de regenerar os tecidos periodontais (Egusa *et al.*, 2012).

As células estaminais do ligamento periodontal (PDLSCs) são geralmente obtidas a partir do tecido mole que está localizado próximo à raiz do dente, abaixo da junção amelocementária (JAC). Essas células são isoladas dos primeiros pré-molares e terceiros molares de doadores que possuem gengivas e tecidos periodontais saudáveis. Este tecido é uma fonte rica em células estaminais e pode ser obtido de forma relativamente acessível durante procedimentos odontológicos. (Suchánek *et al.*, 2016).

De acordo com estudos recentes, há a sugestão de que as propriedades das células estaminais do ligamento periodontal (PDLSCs) possam variar com base na sua localização. Isto significa que as PDLSCs localizadas mais perto da superfície da raiz dentária podem não ter a mesma capacidade de promover a regeneração óssea como aquelas que estão mais próximas do osso alveolar. (Wang *et al.*, 2011).

Após a extração de um dente, uma parte do ligamento periodontal fica ancorada à superfície da raiz dentária, enquanto o restante permanece na cavidade do alvéolo. Vários estudos investigaram o potencial estaminal do ligamento periodontal da superfície radicular, porém, até certo ponto, o potencial estaminal do ligamento que permanece no alvéolo ainda é desconhecido (Wang *et al.*, 2011)

3.4. DFSC

As células estaminais localizadas no folículo dentário são conhecidas como Células Estaminais do Folículo Dentário (DFSC, do inglês Dental Follicle Stem Cells). O folículo dentário é uma estrutura que rodeia o germe dentário em desenvolvimento e está presente na região próxima à coroa do dente ainda não erupcionado. Essas células têm despertado interesse na pesquisa devido ao seu potencial regenerativo e capacidade de diferenciação em diversos tipos celulares (Suchánek *et al.*, 2016).

O folículo dentário é uma estrutura composta por tecidos conjuntivos que envolve o germe dentário em desenvolvimento. A sua principal função é fornecer suporte e nutrição para o germe dentário enquanto ele se desenvolve e se prepara para a erupção na cavidade oral. O

folículo dentário desempenha um papel crucial na formação dos tecidos que constituem o dente, como o esmalte, a dentina e o ligamento periodontal (Bastos *et al.*, 2022).

Composição do folículo dentário:

Tecido Conjuntivo: O folículo dentário é predominantemente composto por um tecido conjuntivo especializado que envolve o germe dentário. Esse tecido é rico em fibras colágenas e outros componentes extracelulares que fornecem estrutura e suporte à estrutura (Wali, Sridhar e Shyla, 2012).

Células: O folículo dentário contém diversas células, incluindo fibroblastos, osteoblastos (que formam osso), células epiteliais, células imunológicas e células estaminais. Essas células desempenham papéis essenciais no desenvolvimento e na regeneração dos tecidos relacionados ao dente (Wali, Sridhar e Shyla, 2012).

Vasos Sanguíneos e Nervos: O folículo dentário é vascularizado, o que significa que ele contém vasos sanguíneos que fornecem nutrientes e oxigênio às células em desenvolvimento. Além disso, também contém nervos que contribuem para a sensação e nutrição da região (Suchánek *et al.*, 2016).

Ligamento Periodontal Inicial: O folículo dentário também é responsável por contribuir para a formação do ligamento periodontal, que é o tecido conjuntivo que conecta o dente ao osso alveolar (Suchánek *et al.*, 2016).

Células Estaminais: Como mencionado anteriormente, o folículo dentário contém células estaminais que têm o potencial de se diferenciarem em diversos tipos de células, incluindo as envolvidas na formação de dentes e tecidos de suporte (Suchánek *et al.*, 2016).

A função do folículo dentário é essencial para o desenvolvimento adequado dos dentes e dos tecidos circundantes. Ele desempenha um papel na formação de diferentes componentes do dente, bem como na regeneração de tecidos relacionados, como osso alveolar e ligamento

periodontal. Além disso, o folículo dentário também está envolvido na erupção dentária, ajudando o dente a se mover da sua posição de formação para a posição funcional na cavidade oral. (Suchánek *et al.*, 2016).

As DFSC são consideradas um tipo de células estaminais mesenquimais (CEM), o que significa que elas têm a capacidade de se transformar em diferentes tipos de células presentes em tecidos conjuntivos, como osso, cartilagem e tecido adiposo. Além disso, essas células também demonstram um potencial significativo para regeneração de tecidos periodontais, incluindo osso alveolar, ligamento periodontal e gengiva. Para isolar as DFSC, os folículos dentários são geralmente obtidos a partir de dentes extraídos para fins ortodônticos ou cirúrgicos. Após a extração, o folículo é cuidadosamente removido e as células estaminais são isoladas do tecido através de técnicas de cultivo celular em laboratório. Essas células podem ser expandidas em cultura e posteriormente induzidas a diferenciarem-se em diferentes tipos celulares, dependendo das condições de cultivo e fatores de diferenciação utilizados. As DFSC têm sido estudadas principalmente no contexto de regeneração óssea e periodontal, devido à sua capacidade de formar novo osso e tecidos de suporte dental. Elas têm o potencial de serem utilizadas em terapias regenerativas para tratar defeitos ósseos, recessão gengival e outras condições relacionadas ao periodonto (Li *et al.*, 2016).

Em suma, as Células Estaminais do Folículo Dentário (DFSC) são células estaminais mesenquimais encontradas no folículo dentário, que rodeia o dente em desenvolvimento. Elas possuem potencial regenerativo e capacidade de diferenciação em vários tipos celulares, tornando-as promissoras para aplicações clínicas em regeneração óssea e periodontal. A fonte mais comum de células estaminais do folículo dentário é geralmente associada aos terceiros molares, também conhecidos como dentes do siso. Esses dentes são frequentemente extraídos, e o folículo dentário remanescente pode ser uma fonte rica de células estaminais do folículo dentário (DFSCs) (entre 10-14 anos de idade). Isso ocorre porque os terceiros molares muitas vezes são extraídos para prevenir complicações e problemas de espaço na mandíbula. Portanto, eles são uma fonte acessível de células estaminais do folículo dentário para pesquisa e aplicações clínicas em regeneração de tecidos orais (Suchánek *et al.*, 2016).

3.5. SCAP

As células estaminais da Papila Apical, conhecidas como SCAP, são um tipo especial de células estaminais que podem ser encontradas na papila apical, uma parte localizada na ponta da raiz de um dente em crescimento. As SCAP estão se destacando na pesquisa biomédica devido à sua habilidade promissora de regenerar e reparar tecidos na área da boca e dos dentes. (Egusa *et al.*, 2012).

Tanto as SCAP como as DPSC têm a capacidade de se diferenciar em células produtoras de dentina e osso, mas são menos eficazes na diferenciação em células de gordura. Comparativamente às DPSC, as SCAP crescem melhor em cultura e têm uma maior capacidade de regeneração da matriz dentinária quando transplantadas para ratos com sistema imunológico comprometido. (Egusa *et al.*, 2012).

De acordo com estudos, as SCAP têm uma taxa de crescimento de 2 a 3 vezes superior à das células da polpa dentária imatura adjacente, contêm menos células e vasos sanguíneos, e também células estaminais mesenquimais. Uma vez que a papila apical tem origem na crista neural, as suas células estaminais possuem marcadores relacionados ao sistema nervoso (Chalisserry *et al.*, 2017).

Sabe-se que a papila dentária desempenha um papel crucial na formação do dente e, mais tarde, transforma-se em tecido pulpar. Após o início do desenvolvimento da raiz, a papila dentária divide-se em polpa dentária e papila apical. A localização da papila apical na área de crescimento da raiz, separada da polpa dentária por uma zona rica em células apicais, permite a identificação e isolamento dessas células-tronco. Para obter as SCAP, é possível coletá-las de dentes que ainda não estão completamente desenvolvidos, como os primeiros pré-molares até os 12 anos de idade e os terceiros molares entre os 12 e os 16 anos. Embora as características histológicas destas ainda não estejam totalmente definidas, são distintas em termos de morfologia, sendo que a papila apical tem menos células e vasos sanguíneos do que a polpa. (Suchánek *et al.*, 2016)

Embora seja possível obter SCAP e DPSC (células-tronco da polpa dentária) de dentes imaturos, é importante observar que é raro encontrar dentes decíduos imaturos adequados para extração que estejam livres de cárie. Portanto, as SCAP e as DPSC são consideradas linhagens de células-tronco associadas à dentição permanente (Smeda *et al.*, 2022).

A recente descoberta das células-tronco na papila apical, localizada na extremidade da raiz de dentes em desenvolvimento, tem implicações significativas na odontologia. Essas células-tronco, conhecidas como SCAP, têm o potencial de explicar um fenômeno observado em alguns casos clínicos, nos quais dentes permanentes ainda não completamente desenvolvidos podem continuar a formar suas raízes, mesmo quando estão infectados com doenças periodontais ou abscessos. Acredita-se que as SCAP sobrevivam à necrose da polpa devido à sua proximidade com o sistema vascular dos tecidos ao redor. Após o tratamento endodôntico e sob a influência da bainha de Hertwig, essas células podem gerar odontoblastos primários, que são essenciais para a conclusão da formação da raiz. (Suchánek *et al.*, 2016).

3.6. TGPC

As Células Progenitoras do Germe Dentário, conhecidas como TGPC (*Tooth Germ Progenitor Cells*), são células-tronco que têm sua origem no próprio germe dentário. A diferenciação e calcificação dessas células ocorrem no final da fase de campânula do desenvolvimento dentário. Nesse estágio, o germe dentário consiste em três distintos: o órgão do esmalte, o mesênquima dentário (também chamado de papila dentária) e o folículo dentário, (Ikeda *et al.*, 2008).

Essas TGPC representam um campo promissor na pesquisa biomédica e odontológica, pois têm o potencial de se diferenciar em uma variedade de tipos celulares e podem ser aplicadas em terapias regenerativas e tratamentos odontológicos inovadores (Aydin e Şahin, 2019).

Para obter essas valiosas células estaminais, os terceiros molares são considerados a fonte mais adequada, especialmente quando as raízes ainda não estão completamente formadas. É importante notar que esse procedimento deve ser realizado antes dos 14 anos. A extração do germe dentário, conhecida como germectomia, segue um processo semelhante ao utilizado na obtenção do tecido do folículo dentário (DFSC) (Suchánek *et al.*, 2016).

3.7. GMSC

As Células-Tronco Mesenquimais do Tecido Gengival, ou GMSCs (do inglês *Gingival Mesenchymal Stem Cells*), são um tipo específico de células estaminais que podem ser encontradas no tecido gengival, que é a mucosa oral que reveste as estruturas ósseas dos maxilares e a base dos dentes. Essas células estaminais têm a capacidade de se diferenciar em várias linhagens celulares, incluindo células ósseas, células de gordura, células musculares e células do tecido conjuntivo (Kim *et al.*, 2021).

Origem no Tecido Gengival: As GMSCs são encontradas no tecido gengival, tornando a coleta dessas células relativamente acessível e menos invasiva do que outras fontes de células estaminais, como a medula óssea (Kim *et al.*, 2021).

Potencial de Diferenciação: Assim como outras células estaminais mesenquimais, as GMSCs têm a capacidade de se diferenciar em diferentes tipos celulares, o que as torna valiosas para aplicações terapêuticas e de pesquisa (Gao e Cao, 2020).

Aplicações Clínicas: As GMSCs têm sido estudadas e utilizadas em várias aplicações clínicas e de pesquisa, incluindo regeneração óssea, regeneração de tecidos orais, tratamento de doenças periodontais e até mesmo aplicações fora do contexto odontológico, como na medicina regenerativa (Gao e Cao, 2020).

Papel na Regeneração Periodontal: Devido à sua origem no tecido gengival, as GMSCs têm um papel potencialmente importante na regeneração dos tecidos periodontais, o que é relevante no tratamento de doenças periodontais, como a periodontite (Gao e Cao, 2020).

Colheita e Isolamento: As GMSCs podem ser isoladas de amostras de tecido gengival obtidas durante procedimentos dentários, como extrações dentárias, cirurgias periodontais ou biópsias (Kim *et al.*, 2021).

Estas células já foram diferenciadas com sucesso em osteoblastos, condrócitos e adipócitos (Suchánek *et al.*, 2016).

Um estudo realizado em 2009 descobriu que as GMSCs, que foram retiradas de tecido gengival extraído, mantiveram a expressão de um marcador chamado Octamer-4 (Oct-4). Além disso, essas células foram capazes de se renovar por conta própria e formar tecido conectivo contendo colágeno tipo I. Esses resultados sugerem que as GMSCs representam uma nova categoria de células estaminais. (Zhang *et al.*, 2009).

No entanto, é importante observar que nem todos os dentes extraídos possuem uma quantidade suficiente de tecido gengival para fins de pesquisa. Quando disponível, esse tecido gengival geralmente está aderido à superfície das raízes dentárias e é removido juntamente com o ligamento periodontal que também está preso. A pesquisa sobre GMSCs está em andamento, e os cientistas continuam a explorar seu potencial terapêutico em diversas áreas da medicina e odontologia (Suchánek *et al.*, 2016).

3.8. ABMSC

A medula óssea de adultos contém células progenitoras multipotentes raras geralmente designadas por CMEs. Apesar da sua heterogeneidade, as CMEs possuem uma elevada capacidade replicativa e a capacidade de se diferenciar em vários tipos de células do tecido conjuntivo. Além disso, as CMEs formam osso de forma robusta *in vivo*, o que as torna uma fonte apropriada de células estaminais para terapia de regeneração óssea (Suchánek *et al.*, 2016).

Embora a crista ilíaca tenha sido a principal fonte de CMEs até hoje, as CMEs humanas também podem ser isoladas a partir de aspirados de medula óssea orofacial (maxila e mandíbula) obtidos durante procedimentos cirúrgicos dentários, como tratamento com implantes dentários, extração de dentes do siso, extirpação de cistos e osteotomia ortodôntica. As CMEs derivadas de osso orofacial podem ser obtidas não apenas de pacientes mais jovens (6 a 53 anos), mas também de indivíduos relativamente mais velhos (57 a 62 anos), e a idade do doador parece ter pouco efeito no padrão de expressão genética das CMEs (Suchánek *et al.*, 2016).

4. Scaffolds

Scaffolds, também conhecidos como estruturas tridimensionais ou matrizes, são materiais projetados e usados em engenharia de tecidos e regeneração de tecidos para fornecer um suporte físico temporário para o crescimento, diferenciação e desenvolvimento de células e tecidos em culturas celulares *in vitro* ou no corpo humano (Loh e Choong, 2013).

A principal função de um scaffold é atuar como um arcabouço tridimensional que pode ser colonizado por células estaminais, células do tecido alvo ou outras células específicas para regenerar um tecido ou órgão danificado. Essas estruturas temporárias servem como um guia para a regeneração, fornecendo um ambiente tridimensional que permite que as células adiram, proliferem e migrem para formar o novo tecido (Loh e Choong, 2013).

Os *scaffolds* podem ser feitos de uma variedade de materiais, incluindo polímeros biodegradáveis, cerâmicas, metais e combinações desses materiais. A escolha do material depende das características específicas do tecido ou órgão que se deseja regenerar, bem como da aplicação clínica. O ideal seria que os *scaffold* conseguissem ter o mesmo papel *in vitro* que a matriz extracelular tem *in vivo*. Além disso, a porosidade e a arquitetura do *scaffold* também são fatores críticos, pois afetam a capacidade das células se infiltrarem, crescerem e se diferenciarem dentro da matriz tridimensional. A *scaffold* pode ser implantada sozinha ou em combinação com células estaminais e fatores de crescimento para reproduzir um ambiente

tridimensional físico-químico e biológico de diferenciação celular e construção tecidual (Ma *et al.*, 2005).

Os *scaffolds* são uma parte essencial da engenharia de tecidos e têm sido utilizados em várias aplicações clínicas, como regeneração óssea, cartilagem, pele e até mesmo na criação de órgãos artificiais. Eles desempenham um papel importante na medicina regenerativa, permitindo o desenvolvimento de terapias que visam reparar ou substituir tecidos danificados ou disfuncionais no corpo humano (Gao e Cao, 2020).

Uma boa *scaffold* deve ser porosa para permitir a incorporação de células e fatores de crescimento. Deve facilitar o transporte eficaz de nutrientes, oxigênio e resíduos, garantindo um ambiente propício para o crescimento celular. Deve ser biodegradável, degradando-se ao longo do tempo sem deixar quaisquer subprodutos tóxicos. Deve ser substituível pelo tecido regenerado, mantendo a morfologia da estrutura final do tecido. Deve ser biocompatível, ou seja, não deve causar reações adversas no organismo e deve ser bem tolerado pelas células e tecidos circundantes. Deve possuir resistência mecânica e física adequada para suportar as demandas do ambiente em que será implantada (Loh e Choong, 2013).

Essas características são essenciais para que as *scaffolds* desempenhem eficazmente o papel de fornecer suporte e direcionamento para a regeneração de tecidos em aplicações de engenharia de tecidos e medicina regenerativa.

Podem ser de dois tipos:

4.1. Scaffold biológica/natural:

Esses *scaffolds* são feitos de polímeros naturais, como colágeno e glicosaminoglicanos, que têm a vantagem de serem altamente compatíveis com o corpo humano e têm atividade biológica benéfica. Além disso, o alginato também é mencionado como um material usado para a criação de estruturas (Chaudhari *et al.*, 2016).

O colágeno é destacado como um componente principal da matriz extracelular, que é uma rede tridimensional que fornece suporte e estrutura aos tecidos do corpo. Quando o colágeno é usado como *scaffold*, ele pode fornecer uma boa estrutura temporária para regenerar tecidos. Ele permite a aderência de células e a liberação de fatores de crescimento para estimular a regeneração de tecidos danificados. Uma vez que o colágeno é biodegradável, ele eventualmente se degrada no corpo após cumprir seu papel, deixando para trás o novo tecido regenerado (Zhao *et al.*, 2021).

No entanto, há observações de que, em algumas situações, as células pulpares (células encontradas na polpa dentária) podem sofrer uma contração significativa quando cultivadas em matrizes de colágeno. Essa contração pode afetar negativamente o processo de regeneração do tecido pulpar, limitando a capacidade das células de se espalharem e se desenvolverem de maneira adequada (Zhang *et al.*, 2019)

Além disso, também foi observado que, após a proliferação celular, a *scaffold* pode se compactar, o que significa que ela pode encolher ou se tornar mais densa. Essa compactação pode levar à falta de contato das células com a dentina, um dos componentes dos dentes. Esse contato é importante para a regeneração eficaz do tecido dentário. Em resumo, enquanto os *scaffolds* de colágeno e outros polímeros naturais têm vantagens na engenharia de tecidos, é importante entender e abordar os desafios, como a contração celular e a compactação da *scaffold*, para garantir resultados eficazes na regeneração de tecidos, especialmente na região da polpa dentária (Paduano *et al.*, 2016).

4.2. Scaffold artificial:

Polímeros Sintéticos e Hidrogéis: São materiais artificiais que podem ser projetados com características específicas, como taxa de degradação, microestrutura e resistência mecânica controladas. Exemplos incluem ácido polilático (PLA), ácido poliglicólico (PGA), seus copolímeros (PLGA) e hidrogéis à base de polietilenoglicol (PEG). Eles são frequentemente usados na engenharia de tecidos para criar *scaffolds*. Alguns *scaffolds* são modificados com péptidos, como o RGD (arginina, glicina, ácido aspártico), para melhorar a adesão celular e

a síntese de matriz na rede tridimensional. Outras incorporam componentes inorgânicos, como hidroxiapatita (HA), fosfato tricálcico (TCP) e polifosfato de cálcio (CPP), para melhorar a condução de tecido ósseo. Isso é útil em aplicações de engenharia de tecidos que envolvem células estaminais da polpa dentária (DPSC). A projeção de micro cavidades nas *scaffolds* é feita de forma a aumentar a adesão celular (Cavalcanti, Zeitlin e Nör, 2013).

Conclui-se que as *scaffolds* biológicas, podem oferecer benefícios significativos em comparação com materiais sintéticos. Relatórios indicam que células da polpa dentária podem ser isoladas, cultivadas em laboratório e depositadas em uma *scaffold*, onde podem formar um novo tecido semelhante à polpa original. No entanto, em canais sem polpa que possuem apenas uma pequena zona de vascularização (ápex), pode ser necessário aumentar a vascularização para sustentar a vitalidade das células e da *scaffold* implantada, o que pode ser otimizado com o uso de fatores de crescimento (Gathani e Raghavendra, 2016; Moussa e Aparicio, 2019).

Com o uso de técnicas modernas, como designs computacionais e impressão 3D, é possível fabricar *scaffolds* com formas geométricas específicas e superfícies bioativas com capacidade de criar ambientes que promovem o crescimento de células e a ação de fatores de crescimento específicos (Matai *et al.*, 2020).

As células estaminais, como as células estaminais pluripotentes induzidas humanas, têm revolucionado a regeneração de tecidos e a modelagem de doenças humanas, representando uma fonte ilimitada de células para regeneração de tecidos e estudo de doenças humanas. A capacidade de reprogramar células específicas do paciente promete melhorar a nossa compreensão dos mecanismos das doenças e da variabilidade fenotípica. A impressão 3D de tecidos tem sido bem-sucedida com vários tipos de células estaminais de diferentes linhagens e potencialidades, utilizando várias técnicas, desde a micro extrusão até a impressão por jato de tinta e a impressão a laser. Esta revisão discute os avanços atuais, aplicações, limitações e o futuro da impressão 3D de tecidos utilizando células estaminais, segmentando por sistemas de órgãos (Ong *et al.*, 2018).

Resumidamente, a engenharia de tecidos com *scaffolds* oferece a possibilidade de regenerar e reconstruir tecidos, como a polpa e a dentina dentária, e as tecnologias avançadas estão melhorando cada vez mais a precisão e a eficácia desse processo (Gathani e Raghavendra, 2016).

5. Fatores de crescimento

Os fatores de crescimento são proteínas biologicamente ativas que desempenham um papel fundamental na regulação do crescimento, desenvolvimento e reparo de células e tecidos no corpo. Eles são secretados por várias células e têm a capacidade de interagir com recetores específicos nas superfícies das células, desencadeando uma série de respostas celulares que podem incluir a proliferação celular, a diferenciação celular e a sobrevivência celular. Aqui estão alguns aspectos importantes sobre os fatores de crescimento (Raj *et al.*, 2021):

Diversidade: Existem muitos tipos diferentes de fatores de crescimento no corpo humano, cada um com funções específicas. Alguns exemplos incluem o fator de crescimento epidermal (EGF), o fator de crescimento transformador beta (TGF-beta), o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) e o fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) (Pikula *et al.*, 2015).

Papel na Regeneração e Reparo: Os fatores de crescimento desempenham um papel crucial na regeneração e reparo de tecidos danificados. Eles ajudam a atrair células estaminais e outras células envolvidas no processo de cicatrização para o local da lesão, estimulando a proliferação e a diferenciação dessas células para formar novo tecido (Yasa *et al.*, 2018).

Desenvolvimento e Crescimento: Durante o desenvolvimento embrionário e o crescimento pós-natal, os fatores de crescimento desempenham um papel importante na organização e crescimento de tecidos e órgãos. Eles coordenam a formação de estruturas complexas e a expansão de órgãos (Du, Du e Yu, 2018).

Cancro: Em algumas circunstâncias, os fatores de crescimento podem contribuir para o desenvolvimento de cancro. Por exemplo, a super expressão de fatores de crescimento ou a ativação anormal de seus recetores podem levar à proliferação celular descontrolada (Presta *et al.*, 2017).

Aplicações Terapêuticas: Devido à sua capacidade de promover o crescimento e a reparação de tecidos, os fatores de crescimento têm aplicações terapêuticas significativas. Eles são usados em medicina regenerativa para promover a regeneração de tecidos danificados e também são utilizados em tratamentos médicos, como a administração de fatores de crescimento para estimular a cicatrização de feridas (Pikula *et al.*, 2015).

Terapias com Fatores de Crescimento: Algumas terapias envolvem a administração de fatores de crescimento específicos para tratar condições médicas. Por exemplo, o fator de crescimento neural (NGF) tem sido estudado como um potencial tratamento para distúrbios neurológicos, como a doença de Alzheimer (Pikula *et al.*, 2015).

Pesquisa em Engenharia de Tecidos: Na engenharia de tecidos, os fatores de crescimento são frequentemente utilizados em combinação com *scaffolds* para criar ambientes propícios para a regeneração de tecidos. Eles desempenham um papel essencial na diferenciação e na promoção do crescimento celular em *scaffolds* implantadas em áreas que requerem reparo ou regeneração. (Zeng *et al.*, 2016).

Os fatores de crescimento desempenham um papel vital na endodontia regenerativa, onde o objetivo é regenerar o complexo pulpo-dentinário. Eles são proteínas que se conectam a recetores nas células e desencadeiam a divisão celular e/ou a diferenciação. Alguns são versáteis, estimulando a divisão de diferentes tipos celulares, enquanto outros são específicos. Essas proteínas desempenham diversas funções essenciais, incluindo o recrutamento, migração, proliferação e diferenciação celular. Eles podem ser encontrados em fontes como o coágulo sanguíneo, plasma rico em plaquetas (PRP) e plasma rico em fibrina (PRF) (Zeng *et al.*, 2016).

Em resumo, os fatores de crescimento são moléculas vitais que regulam uma ampla variedade de processos biológicos no corpo humano. A sua compreensão, o seu entendimento e uso adequado têm implicações significativas em medicina, pesquisa biomédica e terapias para doenças e lesões (Pikula *et al.*, 2015).

Então, os fatores de crescimento desempenham um papel crucial na regeneração de tecidos na endodontia, influenciando a proliferação e a diferenciação celular, mas ainda há perguntas sobre sua disponibilidade e atividade durante o processo de revascularização (Xi *et al.*, 2021).

Em terapias de regeneração pulpar, questionamo-nos se, após a preparação químico-mecânica os fatores de crescimento ainda podem ser liberados da matriz dentinária para o canal radicular. Estudos mostraram que quando ocorre o sangramento apical, as células-tronco são arrastadas para dentro da câmara pulpar, juntamente com algumas *scaffolds*. No entanto, permanece a incerteza quanto à presença dos fatores de crescimento nesse processo de revascularização (Rosa, Botero e Nör, 2011).

III. Discussão

Os estudos atuais, dão uma perspectiva otimista em relação ao futuro da regeneração pulpar com células estaminais, continuando a ser uma área de pesquisa ativa e desenvolvimento na medicina dentária regenerativa, existindo atualmente algumas perspectivas para o futuro que passam por variantes como:

- a) **Terapias Personalizadas:** os estudos estão a direcionar o seu foco em terapias mais personalizadas, utilizando abordagens baseadas em recetores de antígenos quiméricos para a remoção de células resistentes à quimioterapia remanescentes, numa abordagem terapêutica personalizada. onde as células estaminais do próprio paciente podem ser usadas para regenerar o seu tecido pulpar danificado. Isso pode reduzir os riscos de rejeição ou reações adversas (Walcher *et al.*, 2020).
- b) **Biomateriais:** O desenvolvimento de *scaffolds* mais avançados e biomateriais aprimorados permitirá uma melhor manipulação e regeneração do tecido pulpar. A incorporação de fatores de crescimento, proteínas e materiais biocompatíveis aprimorados será uma tendência importante (Nakashima *et al.*, 2017).
- c) **Tecnologia de Impressão 3D:** A impressão 3D está a tornar-se uma ferramenta poderosa na criação de *scaffolds* personalizados e complexos. Isso permitirá a fabricação à medida de *scaffolds* para a regeneração pulpar (Matai *et al.*, 2020).
- d) **Terapias com Células Induzidas:** Além das células-tronco, as terapias com células induzidas (como as células-tronco pluripotentes induzidas, ou iPSCs) podem ser usadas para gerar células específicas para a regeneração do tecido pulpar (Nakashima *et al.*, 2017).
- e) **Abordagens Combinadas:** Terapias que combinam diferentes tipos de células estaminais, *scaffolds* e fatores de crescimento podem ser mais eficazes na regeneração do tecido pulpar, abordando diversas necessidades do processo (Nakashima *et al.*, 2017).

- f) **Compreensão dos Mecanismos Moleculares:** Com uma melhor compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos na regeneração pulpar, os pesquisadores poderão desenvolver terapias mais direcionadas e eficazes (Pikula *et al.*, 2015).
- g) **Vascularização:** A vascularização é crucial para a sobrevivência das células implantadas. Estratégias para promover a vascularização na região pulpar estão sendo estudadas (Moussa e Aparicio, 2019).
- h) **Ensaios Clínicos e regulamentação:** Conforme a pesquisa avança, mais ensaios clínicos serão conduzidos para avaliar a segurança e eficácia dessas terapias. A aprovação regulatória para tratamentos de regeneração pulpar pode ser uma realidade futura (Rombouts *et al.*, 2017).

Existem vários obstáculos técnicos e éticos que precisam ser superados para avançar com sucesso na regeneração pulpar com células estaminais. Aqui estão alguns dos desafios mais significativos (Pikula *et al.*, 2015; Rombouts *et al.*, 2017):

Vascularização: Garantir a adequada vascularização do tecido regenerado é um dos maiores desafios técnicos. Os vasos sanguíneos são essenciais para fornecer nutrientes e oxigênio às células, bem como para remover resíduos. A falta de vascularização adequada pode levar à morte das células e ao insucesso da terapia (Rombouts *et al.*, 2017).

Controlo da Diferenciação Celular: As células estaminais devem ser direcionadas de forma eficaz para se diferenciarem em tipos celulares específicos, como odontoblastos e células pulpares. A precisão desse processo é fundamental para a formação de tecido dentário funcional (Pikula *et al.*, 2015).

Biocompatibilidade dos Materiais: Os materiais usados para criar *scaffolds* e carregar as células estaminais devem ser biocompatíveis e não induzir reações adversas no corpo. Isso é crucial para evitar inflamação ou rejeição (Loh e Choong, 2013).

Longevidade do Tecido Regenerado: Garantir que o tecido regenerado seja duradouro e capaz de funcionar ao longo do tempo é um desafio técnico importante. O tecido deve resistir ao desgaste diário e às forças mastigatórias (Sharma *et al.*, 2015).

Uso de Células Estaminais: A fonte das células estaminais, sejam elas de origem embrionária, adulta ou induzida, é frequentemente um tópico de debate ético. A pesquisa com células estaminais embrionárias, por exemplo, levanta questões sobre a utilização de embriões humanos (Zheng, 2016).

Consentimento Informado: O processo de obter consentimento informado dos pacientes para participar de ensaios clínicos ou tratamentos experimentais é crítico. É necessário garantir que os pacientes compreendam os riscos, benefícios e alternativas (Zheng, 2016).

Equidade no Acesso: Garantir que as terapias de regeneração pulpar estejam disponíveis e acessíveis a todos os pacientes é uma preocupação ética. Questões de equidade no acesso à saúde podem surgir (Swelstad e Kerr, 2009).

Segurança: A segurança dos pacientes é uma preocupação ética fundamental. Antes de qualquer terapia ser amplamente adotada, deve ser demonstrado que ela é segura e eficaz (Zheng, 2016).

Regulamentação: A regulamentação de terapias de regeneração pulpar, incluindo a aprovação de órgãos reguladores, é uma consideração ética importante para garantir que os tratamentos sejam seguros e eficazes (Swelstad e Kerr, 2009).

Superar esses obstáculos requer uma combinação de avanços científicos, pesquisa rigorosa, considerações éticas cuidadosas e regulamentação adequada. À medida que a pesquisa avança e novas descobertas são feitas, é importante abordar esses desafios de maneira responsável e ética para garantir o sucesso e a segurança das terapias de regeneração pulpar (Swelstad e Kerr, 2009; Zheng, 2016).

A pesquisa na área de regeneração pulpar com células estaminais é de extrema importância e está associada à busca de alternativas de tratamentos odontológicos. Vamos analisar as vantagens e desvantagens dessa pesquisa e da busca por alternativas de tratamento:

a) Vantagens:

Conservação dos dentes: Terapias de regeneração pulpar podem permitir a conservação de dentes naturais danificados que, de outra forma, seriam extraídos. Isso é benéfico para a saúde bucal a longo prazo e a qualidade de vida do paciente (Sui *et al.*, 2020).

Tratamentos Personalizados: A pesquisa nessa área pode levar a tratamentos mais personalizados, nos quais as células estaminais do próprio paciente são usadas, minimizando os riscos de rejeição ou reações adversas (Walcher *et al.*, 2020).

Redução da Necessidade de Tratamentos Invasivos: A regeneração pulpar pode eliminar a necessidade de tratamentos de canal tradicionais, que podem ser invasivos e demorados (Nakashima e Akamine, 2005).

Potencial para Recuperação Funcional: Terapias bem-sucedidas podem permitir a recuperação da função dentária, como a capacidade de mastigar e falar normalmente (Nakashima e Akamine, 2005).

.

b) Desvantagens:

Complexidade Técnica: As terapias de regeneração pulpar são técnicas avançadas que exigem uma compreensão aprofundada da biologia celular e do desenvolvimento tecidual. Isso torna esses tratamentos complexos e, em alguns casos, de difícil aplicação (Murray, Garcia-Godoy e Hargreaves, 2007).

Custos Elevados: Terapias de regeneração pulpar podem ser dispendiosas devido à necessidade de materiais biomédicos personalizados e técnicas avançadas. Isso pode limitar o acesso a esses tratamentos (Zheng, 2016).

Tempo de Desenvolvimento: A pesquisa nessa área pode levar tempo, e os tratamentos ainda estão em estágios experimentais. Pacientes que buscam soluções imediatas podem não estar dispostos a esperar pela disponibilidade de terapias de regeneração pulpar (Zheng, 2016).

Requisitos de Regulamentação: A aprovação regulatória de novas terapias odontológicas é um processo rigoroso e demorado. Isso pode atrasar a disponibilidade de tratamentos no mercado (Zheng, 2016).

A temática abordada neste trabalho, alerta-nos para as possíveis vantagens que uma pesquisa em regeneração pulpar com células estaminais oferece novas perspectivas de tratamentos mais eficazes e menos invasivos para problemas médico-dentários. No entanto, esses tratamentos ainda enfrentam desafios técnicos e regulamentares, bem como questões de custo e acessibilidade. A busca por alternativas é importante porque pode levar a avanços significativos na odontologia e melhorar a qualidade de vida dos pacientes, mas também requer um compromisso de longo prazo com a pesquisa e o desenvolvimento.

Este trabalho tem como principal objetivo definir e explicar as diferentes fontes dentárias de recolha de células estaminais, descrever diversas técnicas terapêuticas, relacionar o impacto de uma nova opção de tratamento menos invasiva no futuro próximo na área da medicina dentária e estimular a investigação científica sobre este tema, de forma a existir estudos, análises de dados e artigos científicos suficientes que permitam definir e estabelecer no futuro protocolos clínicos bem definidos com este tipo de opção terapêutica.

IV. Conclusão

A regeneração tecidual visa criar novos tecidos que funcionem como os originais no corpo. Na endodontia regenerativa, o objetivo é regenerar a polpa dentária para tornar o dente funcional e duradouro. Isso envolve a tríade de células estaminais, *scaffolds* e fatores de crescimento.

Estudos mostraram a viabilidade desse procedimento, mas questões legais e éticas dificultaram a pesquisa em humanos. Atualmente, existem desafios, incluindo custo, eficácia e a busca por *scaffolds* ideais.

A endodontia regenerativa evoluiu com técnicas como a revascularização pulpar, mas a endodontia convencional ainda é comum. No entanto, a busca por alternativas conservadoras é importante para manter os dentes na boca por mais tempo.

É teoricamente possível produzir polpa vital a partir de células estaminais, e estudos piloto em humanos mostram que isso é possível. A transição da pesquisa para a prática clínica levará tempo, mas é uma realidade em desenvolvimento.

Em resumo, a endodontia regenerativa é uma realidade em evolução que oferece uma alternativa à desvitalização dentária, embora haja desafios a serem superados antes de se tornar amplamente adotada na prática clínica. É importante enfatizar que ainda há muito a ser descoberto e que levará algum tempo para que as pesquisas saiam do laboratório e sejam aplicadas na prática clínica. No entanto, devemos continuar a contribuir para esse campo de pesquisa e esperar que, como muitas outras realizações possíveis, isso se torne uma realidade. É crucial que as técnicas sejam precisamente definidas, de fácil aplicação e que os protocolos sejam minuciosamente avaliados.

V. Bibliografia

Adanir, N., Khurshid, Z. e Ratnayake, J. (2022). The Regenerative Potential of Decellularized Dental Pulp Extracellular Matrix: A Systematic Review. *Materials (Basel)*, 15(18), p. 6386.

Al-Ghadban, S. e Bunnell, BA. (2020). Adipose Tissue-Derived Stem Cells: Immunomodulatory Effects and Therapeutic Potential. *Physiology (Bethesda)*, 35(2), pp. 125-133.

Antoniadou, E. e David, AL. (2016). Placental stem cells. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 31, pp. 13-29.

Arana-Chavez, E. e Massa, F. (2004). Odontoblasts: the cells forming and maintaining dentine. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 36(8), pp. 1367–1373.

Aydin, S. e Şahin, F. (2019). Stem Cells Derived from Dental Tissues. *Adv Exp Med Biol*, 1144, pp. 123-132.

Bastos, C., Gomez, S. e Gomes, C. (2022). Revisiting the human dental follicle: From tooth development to its association with unerupted or impacted teeth and pathological changes. *Dev Dyn*, 251(3), pp. 408-423.

Botelho, J. *et alii* (2017). Human ex vivo dentin-pulp complex preservation in a full crown model. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*, 7(1), pp. 19–22.

Caplan, I. (1991). Mesenchymal stem cells. *Journal of Orthopaedic Research*, 9(5), pp. 641–650.

Cavalcanti, N., Zeitlin, D. e Nör, E. (2013). A hydrogel scaffold that maintains viability and supports differentiation of dental pulp stem cells. *Dent Mater*, 29(1), pp. 97-102.

Cervelló, I. *et alii* (2013). Somatic stem cells in the human endometrium. *Semin Reprod Med*, 31(1), pp. 69-76.

Chalisserry, P. *et alli* (2017). Therapeutic potential of dental stem cells. *J Tissue Eng*, 8.

Chaudhari, A. *et alii* (2016). Future Prospects for Scaffolding Methods and Biomaterials in Skin Tissue Engineering: A Review. *Int J Mol Sci*, 17(12), p. 1974.

Ding, C. *et alii* (2015). Human umbilical cord mesenchymal stem cells: a new era for stem cell therapy. *Cell Transplant*, 24(3), pp. 339-47.

Du, W., Du, W. e Yu, H. (2018). The Role of Fibroblast Growth Factors in Tooth Development and Incisor Renewal. *Stem Cells Int*, 2018, p. 7549160.

Dulak, J. *et alii* (2015). Adult stem cells: hopes and hypes of regenerative medicine. *Acta Biochim Pol*, 62(3), pp. 329-37.

Egusa, H. *et alii* (2012). Stem cells in dentistry - Part I: Stem cell sources. *Journal of Prosthodontic Research*, 56(3), pp. 151–165.

Femiano, F. *et alii* (2014). Reactionary and reparative dentinogenesis: a review. *International Journal of Dental Clinics*, 6(4), pp. 17–19.

Gao, X. e Cao, Z. (2020). Gingiva-derived Mesenchymal Stem Cells and Their Potential Applications in Oral and Maxillofacial Diseases. *Curr Stem Cell Res Ther*, 15(1), pp.43-53.

Gathani, M. e Raghavendra, S. (2016). Scaffolds in regenerative endodontics: A review. *Dent Res J (Isfahan)*, 13(5), pp. 379-386.

Gronthos, S. *et alii* (2000). Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(25), pp. 13625–13630.

Gurusamy, N. *et alii* (2018). Adult Stem Cells for Regenerative Therapy. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 160, pp. 1-22.

Hosoya, A. *et alii* (2020). Sonic Hedgehog Signaling and Tooth Development. *Int J Mol Sci*, 21(5), p. 1587.

Huang, T., Gronthos, S. e Shi, S. (2009). Mesenchymal stem cells derived from dental tissues vs. those from other sources: their biology and role in regenerative medicine. *J Dent Res*, 88(9), pp. 792-806.

Ikeda, E. *et alii* (2008). Multipotent cells from the human third molar: feasibility of cell-based therapy for liver disease. *Differentiation*, 76(5), pp. 495–505.

Kim, G. (2017). Biological molecules for the regeneration of the pulp-dentin complex. *Dental Clinics of North America*, 61(1), pp. 127–141.

Kim, D. *et alii* (2021). Gingiva-Derived Mesenchymal Stem Cells: Potential Application in Tissue Engineering and Regenerative Medicine – A Comprehensive Review. *Front Immunol*, 12, p. 667221.

Ko, S., Chen, H. e Su, T. (2020). Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous Teeth: A Concise Review. *Curr Stem Cell Res Ther*, 15(1), pp. 61-76.

Lagarkova, A. (2019). Such Various Stem Cells. *Biochemistry (Mosc)*, 84(3), pp. 187-189.

Li, H. *et alii* (2016). Isolation and characterization of primary bone marrow mesenchymal stromal cells. *Ann N Y Acad Sci*, 1370(1), pp. 109-18.

Loh, L. e Choong, C. (2013). Three-dimensional scaffolds for tissue engineering applications: role of porosity and pore size. *Tissue Eng Part B Rev*, 19(6), pp. 485-502.

Ma, Z. *et alii* (2005). Potential of nanofiber matrix as tissue-engineering scaffolds. *Tissue Engineering*, 11(1–2), pp. 101–109.

Mari-Beffa, M., Segura-Egea, J. e Díaz-Cuenca, A. (2017). Regenerative endodontic procedures: a perspective from stem cell niche biology. *Journal of Endodontics*, 43(1), pp. 52–62.

Matai, I. *et alii* (2020). Progress in 3D bioprinting technology for tissue/organ regenerative engineering. *Biomaterials*, 226, p.119536.

Miura, M. *et alii* (2003). SHED: Stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(10), pp. 5807–5812.

Moussa, G. e Aparicio, C. (2019). Present and future of tissue engineering scaffolds for dentin-pulp complex regeneration. *Tissue Eng Regen Med*, 13(1), pp. 58-75.

Murray, P. E., Garcia-Godoy, F., & Hargreaves, K. M. (2007). Regenerative endodontics: a review of current status and a call for action. *Journal of Endodontics*, 33(4), pp. 377–390.

Nakashima, M. e Akamine, A. (2005). The application of tissue engineering to regeneration of pulp and dentin in endodontics. *Journal of Endodontics*, 31(10), pp. 711–718.

Nakashima, M. *et alii* (2017). Pulp regeneration by transplantation of dental pulp stem cells in pulpitis: a pilot clinical study. *Stem Cell Research & Therapy*, 8(1), p. 61.

Ogawa, T. (2021). Does the Radius Contain Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells? A Comparison between Cells of the Iliac Crest and Radius in Kienböck's Disease. *J Hand Surg Asian Pac Vol*, 26(3), pp. 445-450.

Ong, S. *et alii* (2018). 3D bioprinting using stem cells. *Pediatr Res*, 83(1-2), pp. 223-231.

Paduano, F. *et alii* (2016). Odontogenic Differentiation of Human Dental Pulp Stem Cells on Hydrogel Scaffolds Derived from Decellularized Bone Extracellular Matrix and Collagen Type I. *PLoS One*, 11(2), p. 148225.

Pikuła, M. *et alii* (2015). Komórki macierzyste i czynniki wzrostu gojeniu ran [Stem cells and growth factors in wound healing]. *Postepy Hig Med Dosw*, 69, pp. 874-85.

Pittenger, F. (1999). Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*, 284(5411), pp. 143-147.

Presta, M. *et alii* (2017). Fibroblast growth factors (FGFs) in cancer: FGF traps as a new therapeutic approach. *Pharmacol Ther*, 179, pp. 171-187.

Pulyodan, K. *et alii* (2020). Regenerative Endodontics: A Paradigm Shift in Clinical Endodontics. *J Pharm Bioallied Sci*, 12(1), pp. S20-S26.

Raj, T. *et alii* (2021). The Growth Factors and Cytokines of Dental Pulp Mesenchymal Stem Cell Secretome May Potentially Aid in Oral Cancer Proliferation. *Molecules*, 26(18), p. 5683.

Rombouts, C. *et alii* (2017). Pulp Vascularization during Tooth Development, Regeneration, and Therapy. *J Dent Res*, 96(2), pp. 137-144.

Rosa, V., Botero, M. e Nör, E. (2011). Regenerative endodontics in light of the stem cell paradigm. *Int Dent J*, 61(1), pp. 23-28.

Schmalz, G. e Goldberg, M. (2011). Toward a strategic plan for pulp healing: From repair to regeneration. *Clinical Oral Investigations*, 15(1), pp. 1-2.

Shah, R. e Bajaj, M. (2019). Comparative analysis of cpp-acp, tricalcium phosphate, and hydroxyapatite on assessment of dentinal tubule occlusion on primary enamel using sem: an in vitro study. *Int J Clin Pediatr Dent*, 12(5), pp. 371-374.

Sharma, A., Sharma, A. e Dias, J. (2015). Advances in regeneration of dental pulp – a literature review. *Journal of Investigative and Clinical Dentistry*, 6(2), pp. 85-98.

Shi, S., Robey, G. e Gronthos, S. (2001). Comparison of human dental pulp and bone marrow stromal stem cells by cDNA microarray analysis. *Bone*, 29(6), pp. 532-539.

Simon, S. e Smith, J. (2014). Regenerative endodontics. *British Dental Journal*, 216(6), pp. 1–4.

Smeda, M. (2022). Molecular Biological Comparison of Dental Pulp- and Apical Papilla-Derived Stem Cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(5), p. 2615.

Smith, J. *et alii* (2003). Reactionary dentinogenesis. *International Journal of Developmental Biology*, 39(1), pp. 273–280.

Sonoyama, W. *et alii* (2008). Characterization of the apical papilla and its residing stem cells from human immature permanent teeth: a pilot study. *Journal of Endodontics*, 34(2), pp. 166–171.

Suchánek, J. *et alii* (2016). Protocols for dental-related stem cells isolation, amplification, and differentiation. In: B. Zavan & E. Bressan (Eds.). *Cham: Springer International Publishing*.

Sui, B. *et alii* (2020). Dental Pulp Stem Cells: From Discovery to Clinical Application. *Journal of Endodontics*, 46(9S), pp. S46-S55.

Swelstad, B. e Kerr, L. (2009). Current protocols in the generation of pluripotent stem cells: theoretical, methodological and clinical considerations. *Stem Cells Cloning*. 22(3), pp. 13-27.

Tomokiyo, A., Wada, N. e Maeda, H. (2019). Periodontal Ligament Stem Cells: Regenerative Potency in Periodontium. *Stem Cells Dev*, 28(15), pp. 974-985.

Tomson, P., Berdal, A. e Stéphane, S. (2014). Regenerative endodontics : regeneration or repair? *American Association of Endodontics*, 40(4), pp. 4–9.

Walcher, L. *et alii* (2020). Cancer Stem Cells-Origins and Biomarkers: Perspectives for Targeted Personalized Therapies. *Frontiers in Immunology*, 11, p. 1280.

Wali, G., Sridhar, V. e Shyla, N. (2012). A study on dentigerous cystic changes with radiographically normal impacted mandibular third molars. *Journal of Maxillofacial and Oral Surgery*, 11(4), pp. 458–65.

Wang, L. *et alii* (2011). Characterization of stem cells from alveolar periodontal ligament. *Tissue Engineering Part A*, 17(7–8), pp. 1015–1026.

Xie, Z. *et alii* (2021). Functional Dental Pulp Regeneration: Basic Research and Clinical Translation. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(16), p. 8991.

Yassa, E. *et alii* (2018). The impact of growth factors on human induced pluripotent stem cells differentiation into cardiomyocytes. *Life Sciences*, 196, pp. 38-47.

Zeng, Q. *et alii* (2016). Release of growth factors into root canal by irrigations in regenerative endodontics. *Journal of Endodontics*, 42(12), pp. 1760–1766.

Zhang, L. *et alii* (2019). *Effects of electrospun collagen nanofibrous matrix on the biological behavior of human dental pulp cells*. Beijing, Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban, 51(1), pp. 28-34.

Zhang, Q. *et alii* (2009). Mesenchymal stem cells derived from human gingiva are capable of immunomodulatory functions and ameliorate inflammation-related tissue destruction in experimental colitis. *The Journal of Immunology*, 183(12), pp. 7787–7798.

Zhao, C. *et alii* (2021). Structure of Collagen. *Methods in Molecular Biology*, 2347, pp. 17-25.

Zheng, L. (2016) Some Ethical Concerns About Human Induced Pluripotent Stem Cells. *Sci Eng Ethics*, 22(5), pp. 1277-1284.