

## REGENERAÇÃO DA POLPA DENTAL – VARIÁVEIS ENVOLVIDAS NA TRANSIÇÃO DO LABORATÓRIO PARA ROTINA CLÍNICA.

JÚLIO CÁ<sup>1</sup>; BHÁRBARA MARINHO BARCELLOS<sup>2</sup>; MARCUS CRISTIAN MUNIZ CONDE<sup>3</sup>; FLÁVIO FERNANDO DEMARCO<sup>4</sup>

<sup>1</sup>UFPeI – Graduando em Odontologia – [cajulio125@hotmail.com](mailto:cajulio125@hotmail.com)

<sup>2</sup>UFPeI – Graduanda em Odontologia – [bharbarabarcellos@hotmail.com](mailto:bharbarabarcellos@hotmail.com)

<sup>3</sup>UFPeI – Programa de Pós-Graduação em Odontologia – [marcusconde82@gmail.com](mailto:marcusconde82@gmail.com)

<sup>4</sup>UFPeI - Programa de Pós-Graduação em Odontologia – [ffdemarco@gmail.com](mailto:ffdemarco@gmail.com)

### 1. INTRODUÇÃO

A Engenharia Tecidual (ET), é um campo interdisciplinar da ciência que funde princípios e inovações da Engenharia e das Ciências Biológicas (LANGER; VACANTI, 1993). Tem por objetivo o reparo ou substituição de tecidos e órgãos baseado em três pilares fundamentais: as moléculas bioativas - Fatores de crescimento (FC), moléculas de origem proteica, com capacidade de se ligarem a receptores específicos presentes na membrana celular, e a partir daí reger o comportamento dessas estruturas (MATTUELLA et al., 2007); os *scaffolds* ou *scaffolds* – estruturas tridimensionais que servem como substrato para a adesão e proliferação das células, atuando como análogos da matriz extracelular (MEC); e as células-tronco (CT) as quais possuem alta capacidade clonogênica, de proliferação e capacidade de diferenciação em uma ampla gama de tecidos (LANGER; VACANTI, 1993). Esses três pilares da ET são componentes primordiais para aplicação de terapias baseadas na utilização de células-troncos (*Stem Cell-Based Therapies* – SC-BT), as quais se baseiam na aplicação de CTs semeadas em *scaffolds* para regenerar tecidos. A polpa dental tem como função primordial de formação de dentina a partir de uma matriz orgânica secretada pelos odontoblastos. A polpa, de dentes permanentes e decíduos, possui CTs denominadas “*Dental Pulp Stem Cells* (DPSC)” e “*Stem Cells from Exfoliated Human Teeth* (SHED)”, respectivamente (GRONTHOS et al., 2000; MIURA et al., 2003). Quando o dente é acometido por lesões de rápida progressão (cárie aguda ou trauma dental) que proporcionam a destruição dos odontoblastos há uma sinalização para que as CTs migrem para o sítio da injúria (TECLES et al., 2005), se diferenciem em células semelhantes à odontoblastos para que possam secretar nova dentina e dessa forma, impedir a progressão do agente agressor. Entretanto, este processo não se dá de forma espontânea; é necessária a aplicação de materiais sintéticos que estimulem este evento biológico - terapias vitais da polpa (BJORN DAL; MJOR, 2001). As terapias vitais da polpa possuem indicações restritas e geralmente seu prognóstico em longo prazo não é promissor. Assim, a terapia endodôntica convencional é indicada devido ao seu prognóstico mais favorável. Contudo, há uma perda considerável de tecido dentinário, o que torna o dente mais suscetível a fraturas. Isto é especialmente crítico quando se trata de trauma dental em dentes permanentes de pacientes jovens (DEMARCO et al., 2011)). Assim, empregar a engenharia de tecidos para a obtenção de tecido pulpar que permita a completa formação dos tecidos e anexos radiculares é uma estratégia que se mostra cada vez mais atrativa e factível. Na ET, o *scaffold*, além de atuar como suporte para as células, deve ser capaz de reter moléculas bioativas e dessa forma otimizar a interface com as células-tronco. Considerando os desafios impostos para a regeneração de um tecido conjuntivo ricamente vascularizado em um sítio anatômico que recebe todos os vasos sanguíneos via forame apical, a interação entre CTs e *Scaffolds* é um ponto crítico

para desenvolvimento de um ambiente favorável à regeneração pulpar utilizando SB-TC. O objetivo deste estudo foi realizar uma revisão sistemática da literatura para identificar as principais técnicas aplicadas para regeneração da polpa utilizando SC-BT. Além disso, analisamos as estratégias empregadas para melhorar a interação entre os scaffolds e as células-tronco.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

Foi realizada uma busca sistematizada nas bases de dados SciVerse Scopus® (SS) e ISI Web of Science® (IWS) até março de 2013. Nós aplicamos a seguinte sequência de palavras-chave: "Pulp Dental" AND "Tissue Engineering" AND "Scaffold" AND "Stem Cells". No SS, cada uma das palavras-chave foi incluída no campo específico "Título do artigo, resumo e palavras-chave." Nos IWS, as palavras-chave foram colocados em campo específico "Tópico", que realiza a pesquisa no banco de dados de Título, Resumo, Palavras-chave de autor e palavras-chave. Três revisores independentes analisaram os títulos e resumos de todos registros retornados; então foi disponibilizado aos revisores a versão completa dos estudos julgados pertinentes por cada um. Todos os estudos que atenderam os critérios de inclusão (Artigos de originais, escritos em inglês; que utilizassem células tronco de origem dental; com objetivo de regenerar polpa ou dentina baseados em SC-BT.) foram submetidos a uma avaliação criteriosa e os dados pertinentes ao presente trabalho foram categorizados, como descrito na sessão de resultados.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A nossa busca inicial obteve resultados de 118 artigos, dos quais 32 cumpriam com os critérios de inclusão. Após a categorização dos dados pudemos observar o que segue.

■ Polímeros Sintéticos ■ Polímeros Naturais ■ A base de Cálcio ■ Peptídeos Anfífilicos

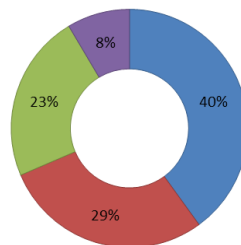


Figura 1. Materiais utilizados para a confecção dos scaffolds

**Composição química dos scaffolds sobre o comportamento das células:** Nos estudos selecionados, todos os materiais utilizados (Figura 1.) para a fabricação dos scaffolds mostraram-se hábeis para suportar a adesão, proliferação e diferenciação das CT. Além disso, chamou a atenção o potencial de novos materiais chamados peptídeos anfífilicos – PA que foram capazes de mimetizar as características de MEC devido a sua capacidade de formar nanofibras em pH e temperatura fisiológica (GALLER et al., 2012); **Caraterísticas físicas dos scaffolds sobre o comportamento das células:** As caraterísticas físicas avaliadas selecionadas foram o tamanho e a geometria dos scaffolds e porosidade. Pudemos observar que as tentativas para controlar a espessura das fibras (produzir nanofibras de polímeros) foi a estratégia que apresentou melhores resultados, já que simula de forma mais adequada a distribuição espacial das fibras da MEC; **Estratégias aplicadas para melhorar a interface CTs/Scaffolds:** a incorporação de biomoléculas (TGF- $\beta$ , BMP-2, DMP1) na estrutura dos Scaffolds ou no meio de cultivo celular sendo aquela mais efetiva que essa; **Regeneração das tecidos pulpar e dentinário:** Foi interessante

notar que a relação estabelecida entre *constructs* e o microambiente, onde são implantados, é crítica para regeneração pulpar. Estudos utilizando o modelo do *Tooth Slice/Scaffold* (DEMARCO et al., 2011) mostraram dados que comprovam a importância de fatores de crescimento solubilizados do tecido dentinário após a sua dissolução pelo ácido láctico proveniente da degradação dos *scaffolds* utilizados. Tais fatores são “fossilizados” no tecido dentinário após a odontogênese e são indispensáveis para a diferenciação de células-tronco, que foram capazes de regenerar o tecido pulpar (CORDEIRO et al. 2008; CASAGRANDE et al. 2010; DEMARCO et al 2010; SAKAI et al 2010). Além, disso outros trabalhos (HUANG et al 2010; GUO et al 2012; WANG et al., 2012) forneceram evidências adicionais sobre a influência do ambiente sobre a diferenciação CTs de origem pulpar. O pré-condicionamento da dentina com ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) pareceu ser imperativo para obter sucesso na regeneração do complexo polpa dentina. Além disso, pudemos observar que a partir da aplicação da SB-TC para regeneração de tecido pulpar é possível produzir que apresentam estruturas endoteliais, indicando que as CTs de origem pulpar possuem um potencial angiogênico inerente, e o VEGF solubilizado da MEC atua como coadjuvante nesse processo de angiogênese.

#### 4. CONCLUSÕES

*Scaffolds* fibras nanométricas se mostraram promissores no processo transitório de pesquisa laboratorial para ensaios clínicos. Os PAs demonstraram um grande potencial de aplicabilidade devido a sua facilidade de manipulação, biocompatibilidade e injetabilidade. A distribuição e tamanho dos poros de um *scaffold*, são determinantes para a fixação, proliferação e diferenciação das células com eles implantadas. Os sinais do ambiente, no qual os *constructs* são implantados, desempenham um papel crítico na formação de um novo tecido pulpar, sobrepondo, inclusive, as propriedades físico-químicas dos materiais utilizados como *scaffold*. Além disso, o pré-condicionamento da dentina é de fundamental importância e a habilidade das células-tronco de expressar VEGF e se diferenciar em estruturas endoteliais se mostraram condições indispensáveis para que se supere a “barreira anatômica” do forame apical.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BJORN DAL, L.; MJOR, I. A. Pulp-dentin biology in restorative dentistry. Part 4: Dental caries--characteristics of lesions and pulpal reactions. **Quintessence International**, v. 32, n. 9, p. 717-736, Oct 2001.
- CASAGRANDE, L.; DEMARCO, F. F.; ZHANG, Z.; ARAUJO, F. B.; SHI, S.; NOR, J. E. Dentin-derived BMP-2 and Odontoblast Differentiation. **Journal of Dental Research**, v. 89, n. 6, p. 603-608, Jun 2010.
- CORDEIRO, M. M.; DONG, Z.; KANEKO, T.; ZHANG, Z.; MIYAZAWA, M.; SHI, S.; SMITH, A. J.; NOR, J. E. Dental pulp tissue engineering with stem cells from exfoliated deciduous teeth. **Journal of Endodontics**, v. 34, n. 8, p. 962-969, Aug 2008.
- DEMARCO, F. F.; CASAGRANDE, L.; ZHANG, Z. C.; DONG, Z. H.; TARQUINIO, S. B.; ZEITLIN, B. D.; SHI, S. T.; SMITH, A. J.; NOR, J. E. Effects of Morphogen and Scaffold Porogen on the Differentiation of Dental Pulp Stem Cells. **Journal of Endodontics**, v. 36, n. 11, p. 1805-1811, Nov 2010.

- DEMARCO, F. F.; CONDE, M. C.; CAVALCANTI, B. N.; CASAGRANDE, L.; SAKAI, V. T.; NOR, J. E. Dental pulp tissue engineering. **Brazilian Dental Journal**, v. 22, n. 1, p. 3-13, 2011.
- GALLER, K. M.; HARTGERINK, J. D.; CAVENDER, A. C.; SCHMALZ, G.; D'SOUZA, R. N. A customized self-assembling peptide hydrogel for dental pulp tissue engineering. **Tissue Engineering Part A**, v. 18, n. 1-2, p. 176-184, 2012.
- GRONTHOS, S.; MANKANI, M.; BRAHIM, J.; ROBEY, P. G.; SHI, S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 97, n. 25, p. 13625-13630, Dec 5 2000.
- GUO, W.; GONG, K.; SHI, H.; ZHU, G.; HE, Y.; DING, B.; WEN, L.; JIN, Y. Dental follicle cells and treated dentin matrix scaffold for tissue engineering the tooth root. **Biomaterials**, v. 33, n. 5, p. 1291-1302, Feb 2012.
- HILTON, T. J. Keys to clinical success with pulp capping: a review of the literature. **Operative Dentistry**, v. 34, n. 5, p. 615-625, Sep-Oct 2009.
- HUANG, G. T.; YAMAZA, T.; SHEA, L. D.; DJOUAD, F.; KUHN, N. Z.; TUAN, R. S.; SHI, S. Stem/progenitor cell-mediated de novo regeneration of dental pulp with newly deposited continuous layer of dentin in an in vivo model. **Tissue Eng Part A**, v. 16, n. 2, p. 605-615, Feb 2010.
- LANGER, R.; VACANTI, J. P. Tissue engineering. **Science**, v. 260, n. 5110, p. 920-926, May 14 1993.
- LINDE, A.; GOLDBERG, M. Dentinogenesis. **Critical Reviews in Oral Biology & Medicine**, v. 4, n. 5, p. 679-728, 1993.
- MATTUELLA, L. G.; DE FIGUEIREDO, J. A. P.; NOR, J. E.; DE ARAUJO, F. B.; FOSSATI, A. C. M. Vascular endothelial growth factor receptor-2 expression in the pulp of human primary and young permanent teeth. **Journal of Endodontics**, v. 33, n. 12, p. 1408-1412, Dec 2007.
- MIURA, M.; GRONTHOS, S.; ZHAO, M.; LU, B.; FISHER, L. W.; ROBEY, P. G.; SHI, S. SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 100, n. 10, p. 5807-5812, May 13 2003.
- SAKAI, V. T.; ZHANG, Z.; DONG, Z.; NEIVA, K. G.; MACHADO, M.; SHI, S.; SANTOS, C. F.; NOR, J. E. SHED Differentiate into Functional Odontoblasts and Endothelium. **Journal of Dental Research**, v. 89, n. 8, p. 791-796, Aug 2010.
- WANG, X.; SHA, X. J.; LI, G. H.; YANG, F. S.; JI, K.; WEN, L. Y.; LIU, S. Y.; CHEN, L.; DING, Y.; XUAN, K. Comparative characterization of stem cells from human exfoliated deciduous teeth and dental pulp stem cells. **Archives of Oral Biology**, Mar 26 2012.