

# APLICABILIDADE DE CÉLULAS TRONCO NA ENDODONTIA REGENERATIVA

## APPLICABILITY OF STEM CELLS IN REGENERATIVE ENDODONTICS

<sup>1</sup> Carollyne S Campello; <sup>2</sup> Karina C. Carvalho; <sup>3</sup> Licínia M. C. M. Damasceno; <sup>4</sup> Amanda A. Marques, <sup>5</sup> Sabrina C. Brasil<sup>4</sup>.

<sup>1</sup> Graduada do curso de odontologia do UNIFESO – 2019/2; <sup>2</sup> Graduada do curso de odontologia do UNIFESO – 2019/2; <sup>3</sup> Especialista e Mestre em Odontopediatria; <sup>4</sup> Graduada do curso de odontologia do UNIFESO – 2019/2; <sup>5</sup> Professora do Programa de Pós-Graduação em Odontologia UNIGRANRIO.

### Resumo:

**Introdução:** As células-tronco dentárias tem sido alvo de inúmeras pesquisas em Odontologia por apresentarem propriedades similares às células tronco mesenquimais da medula óssea. A alta capacidade de diferenciação ou transformação em vários tipos de células no organismo, associados ao uso de fatores de crescimento conferem às células tronco a possibilidade de regenerar parte de um tecido lesado ou a reconstrução de um órgão por completo. Em Endodontia, a utilização de células tronco tem sido sugerida no intuito de minimizar sintomatologia relacionada a infecção pulpar e promover, principalmente, reparo ou espessamento das paredes do canal. **Objetivo:** O objetivo deste trabalho é demonstrar, através de uma revisão de literatura, atuais tendências, indicações e benefícios das células-tronco no tratamento endodôntico, além da análise dos protocolos aplicados para a regeneração de estruturas que compõem os tecidos pulpares. **Método:** Artigos científicos das bases de dados PubMed e Scielo foram utilizados. **Conclusão:** Embora a Odontologia possa se beneficiar sobremaneira com a utilização de células-tronco, novos estudos, em especial os clínicos randomizados são necessários para atestar a indicação desta terapia na clínica odontológica e na Endodontia.

**Descritores:** Células Tronco; Endodontia Regenerativa; Regeneração Pulpar.

### Abstract:

**Introduction:** Dental stem cells have been the subject of numerous research in Dentistry because they have properties similar to bone marrow mesenchymal stem cells. The high capacity for differentiation or transformation in various types of cells in the body, associated with the use of growth factors give stem cells the possibility to regenerate part of an injured tissue or the reconstruction of an organ completely. In endodontics, the use of stem cells has been suggested in order to minimize symptoms related to pulp infection and promote, mainly, repair or thickening of the canal walls. **Objective:** The objective of this work is to demonstrate, through a literature review, current trends, indications and benefits of stem cells in endodontic treatment, in addition to the analysis of the protocols applied for the regeneration of structures that make up pulp tissues. **Method:** Scientific articles from the PubMed and Scielo databases were used. **Conclusion:** Although dentistry can benefit greatly from the use of stem cells, new studies, especially randomized clinicians, are needed to attest to the indication of this therapy in the dental clinic and in endodontics.

**Keywords:** Stem Cells; Regenerative Endodontics; Pulp Regeneration.

## INTRODUÇÃO

Por consequência de um trauma ou pela presença de bactérias na estrutura dentária, o tecido pulpar poderá ser comprometido, sendo necessário nesses casos que o sistema de canais radiculares seja tratado através da terapia endodôntica, a fim de evitar a necrose de tal tecido. Contudo, após a instrumentação e a obturação, os tecidos dentários são fragilizados, perdendo minerais e consequentemente alterando sua estrutura<sup>1</sup>.

Em dentes imaturos a necrose pulpar é especialmente problemática, pois a mesma não irá permitir que o desenvolvimento e maturação do elemento ocorra de forma natural. Por muitos anos a opção para tratar esta condição era a realização da apicificação, e posteriormente a aplicação de hidróxido de cálcio, que estimula a formação da barreira mineralizada. Porém o alto número de sessões deixava a raiz mais fragilizada e susceptível a fratura. A outra opção era o uso de MTA, para fechar o ápice do dente. Contudo, nenhuma destas técnicas permite ao dente recuperação de sua vitalidade, induzida de forma natural<sup>2</sup>.

Visto a fragilidade dos elementos e a dificuldade dos tratamentos presentes na época, Nygaard-Ostby (1961) e Nygaard-Ostby e Hjortdal (1971), iniciaram estudos onde foi estimulada a formação de um coágulo sanguíneo no interior do conduto radicular. No exame histológico realizado nos elementos de estudos, desde 9 dias até 3 anos após o tratamento, foi observado não só a presença de células vasculares mas também tecido cementário presentes no espaço radicular. Iwaya et al. em 2001 foram os primeiros a implementar este conceito de forma clínica e foi confirmado que não só tecido pulpar foi regenerado, mas também células responsáveis pela formação do complexo dentina polpa. Clinicamente, foi retirada a sintomatologia do processo infeccioso, e radiograficamente foi observado espessamento das paredes do canal e o fechamento apical. Este tipo de procedimento mais tarde ficou conhecido como Endodontia Regenerativa. Desde então, novas técnicas estão sendo desenvolvidas com a mesma finalidade, entre elas, o uso de células tronco<sup>2</sup>.

A revitalização e revascularização deixaram de ser os termos mais adequados para expressar a ideia de reparação e organização celular. A

endodontia regenerativa, a expressão que melhor se encaixa para tal, é conceituada como todo e qualquer procedimento que visa a reparação de estruturas radiculares, diferenciação e formação de células que irão formar tecidos semelhantes a dentina e a polpa dentária<sup>3</sup>.

As células tronco são células que apresentam características específicas com poder de diferenciação. São capazes de gerar novamente células, tecidos e consequentemente órgãos a fim de devolver forma e função ao tecido dente com finalidade terapêutica<sup>4</sup>.

A endodontia regenerativa está atrelada a reprodução e secreção de novas células responsáveis pela formação do complexo dentino-pulpar<sup>5</sup>. Procedimentos relacionados a regeneração vem sendo pesquisados e estudados a fim de minimizar a sintomatologia associada a infecção pulpar, confirmando-se então que, com esse modelo de tratamento, é mantida a integridade do elemento dentário, que é essencial para a melhor saúde periodontal e integridade óssea. Consequentemente, promove uma melhor função e maior longevidade do elemento dentário<sup>6</sup>.

A escolha do tema deve-se ao interesse pelo avanço da bioengenharia e suas reais tendências. Nesta revisão de literatura foi discutida a aplicabilidade das células tronco em Endodontia, esclarecendo seus benefícios, que tendem a favorecer grandemente pacientes e a comunidade científica. Sendo assim, é importante relatar que com essa nova proposta de tratamento, que se difere de maneira significativa quando comparada a terapêutica tradicional, a mesma apresenta vantagens como a maior longevidade do elemento dentário, diminuindo os riscos de fratura, maturação do elemento e a regeneração do tecido pulpar.

O objetivo foi revisar a literatura atual e demonstrar a efetividade das células tronco como estratégia de tratamento na terapia endodôntica, avaliando as vantagens e desvantagens da utilização das células tronco em Endodontia, examinando as reais tendências, indicações e benefícios das células tronco no tratamento endodôntico e a análise dos protocolos aplicados para a regeneração de estruturas que compõe os tecidos pulpares.

## MÉTODOS

Esta revisão de literatura foi realizada através de pesquisa de artigos científicos nas bases

de dados PubMed, Scielo e Lilás, datados nos anos de 1800 até 2020.

## REVISÃO DE LITERATURA

### Estágios do Desenvolvimento

O ser humano, durante a sua vida, desenvolve dois tipos de dentição. A dentição decídua, composta por 20 elementos dentários, começa a se formar por volta da 7ª semana de vida intra uterina, e se tudo ocorrer de forma normal, sem trauma ou algum problema congênito, esses elementos dentários decíduos serão substituídos pela dentição permanente, no total de 32 dentes<sup>7</sup>.

Por volta da 7ª e 8ª semana de desenvolvimento embrionário acontece a divisão da cavidade bucal e nasal e a formação do palato definitivo e após isso se inicia o processo de formação dos elementos dentários, processo conhecido como odontogênese. Há o espessamento do ectoderma que irá dar origem aos processos maxilares e mandibulares e consequentemente a formação da lâmina dentária que irá gerar o órgão dentário e da lâmina vestibular que irá gerar o vestíbulo bucal<sup>8</sup>.

Estudos mostram que a formação de qualquer órgão é dada pela interação de tal com o tecido adjacente e as interações mais marcantes no desenvolvimento dentário é epitelial e mesenquimal. Em especial, a fase de botão é marcada pelo invaginamento do epitélio para o interior do ectomesenquima, reunindo todas as células responsáveis pela formação do futuro órgão dentários. Após a fase de botão, a fase de capuz acontece e a mesma é caracterizada por um exacerbado e desigual crescimento celular da lâmina dentária formando uma cavidade, essas células constituem o epitélio externo e interno do esmalte. Entre eles, fica localizado o retículo estrelado, que estão presentes células que vão separando-se uma das outras por conta de substância fundamental rica em proteoglicanas. Após há a união dos epitélios há a formação da alça cervical, que será responsável pela formação dos tecidos de suporte do elemento dentário (cimento, ligamento e osso alveolar). Essas células vão se proliferando até que haja a invaginação do esmalte para dentro do mesenquima. A partir disso, entra no estágio de campanula, fase de morfo e histodiferenciação. O ectomesenquima da papila dentária se torna

parcialmente envolvido pelo epitélio que se invagina, formará o saco dentário que posteriormente dará origem ao ligamento periodontal. Ainda nesta fase ocorre a diferenciação das células epiteliais em ameloblastos e das células mesenquimais em odontoblastos<sup>9</sup>.

Na fase de capuz, estabelece-se ainda a vascularização e nutrição do germe dentário através do folículo dentário que rodeia o germe<sup>10</sup>. As fibras nervosas estabelecem o plexo nervoso durante a fase de capuz e campanula, essas fibras irão inervar a região subodontoblasticas, a camada de odontoblastos presente na coroa dentária, região de pré dentina e algumas na dentina<sup>9</sup>.

A fase de coroa é marcada pela diferenciação e formação da dentina, crescimento de fora para dentro e do esmalte de dentro para fora. Quando essa formação chega a nível de alça cervical o processo de formação da raiz inicia-se e o resultado dessa proliferação celular leva a formação da estrutura conhecida como bainha epitelial radicular de Hertwing que irá induzir células do ectomesenquima a se diferenciarem em células odontoblásticas que irão estabelecer forma e comprimento radicular, em quanto as células da região de hertiwing irão depositar sobre a dentina radicular uma matriz semelhante ao esmalte dentário<sup>10</sup>.

### Polpa Dentária

A polpa dentária é um tecido conjuntivo frouxo, rico em vasos sanguíneos, nervos, células e matriz celular. Os odontoblastos, células responsáveis pela manutenção e formação da dentina, estão presentes em grande número na região de coroa e são as mais características do complexo dentino-pulpar. Além dos odontoblastos, o complexo dentina-polpa apresenta células imunes (linfócitos, macrófagos, células dendríticas), células com maior predominância na polpa, que são os fibroblastos, sendo estes, responsáveis pela produção e manutenção do colágeno e também células tronco, que tem a capacidade de se diferenciar em tecidos semelhantes ao pulpar frente a uma agressão<sup>11</sup>.

O tecido pulpar é composto por uma matriz extracelular que além de dar sustentação ao elemento também é responsável por ações reacionais do órgão pulpar. Essa matriz possui uma consistência viscosa e tem por função impedir a penetração de microorganismos e produtos tóxicos. É constituída em sua grande maioria por

proteínas, sendo a de maior importância, o colágeno, que tem por objetivo arquitetar a estrutura pulpar e fornecer também elasticidade ao órgão, e água e sais minerais que são responsáveis pela manutenção e nutrição do elemento dentário <sup>12</sup>.

O suprimento sanguíneo responsável pela oxigenação e manutenção das células e consequentemente a vitalidade do elemento dentário, é recebido via forame apical e forma o plexo capilar até a região coronária. A artéria maxilar, ramo da artéria carótida externa, se divide em diversos ramos responsáveis pela vascularização tanto dos elementos superiores quanto inferiores <sup>11</sup>.

A polpa é um dos órgãos que possui maior inervação e esta é recebida via forame apical junto as arteríolas que promovem o suprimento sanguíneo. Após passar pelo forame, os nervos vão se ramificando e entranhando-se na pré dentina e dentina, explicando-se assim a sensibilidade dentinária. Quando há um estímulo ou um corpo estranho impulsos nervosos serão transmitidos ao sistema nervoso central e a reação esperada é a dor <sup>12</sup>.

Um grande número de células está presente no órgão pulpar, são elas: células de defesa, células ectomesenquimais, fibroblastos e odontoblastos. Quando o tecido pulpar encontra-se saudável, os Linfócitos T são as células de defesa mais encontradas, responsável pela imunidade celular. As células ectomesenquimais estão em maior constituinte na polpa e por serem originadas a partir de células da crista neural, possuem o poder de diferenciação e mobilização celular. Essas células, normalmente se diferenciam em fibroblastos e odontoblastos e as mesmas não são repostas e por isso podem diminuir a resposta regenerativa do órgão quando ocorrem frequentes injúrias. Os fibroblastos estão presentes em maior número e são responsáveis pela formação das fibras e proteínas que compõem a matriz extracelular e possuem a capacidade de degradar as proteínas colágenas. E por fim, os odontoblastos que são células responsáveis pela formação da dentina e estão mais ativos na porção coronária do que na porção radicular. Possuem maior atividade em situações como a presença de cárie dentária ou produtos tóxicos que por consequência leva a formação da dentina reacional <sup>12</sup>.

Além de possuir funções defensivas, formativas e sensitivas a estrutura pulpar apresenta

uma eficiência nutritiva capaz de manter o elemento dentário vivo que em conjunto com as células responsáveis pela manutenção dentinária são capazes de formar a matriz dentinária em resposta a um comprometimento pulpar. Quando ocorre uma injúria que por consequência há a eliminação dos odontoblastos presente no constituinte pulpar, novas células semelhantes serão depositadas no elemento. Esses depósitos são provindos de células tronco que irão se diferenciar em células odontoblásticas com finalidade terapêutica, podendo então modular o tecido danificado produzindo a dentina reacional capaz de preservar a vitalidade do elemento <sup>13</sup>.

### Células Tronco

As células tronco são células não especializadas com o potencial de divisão e diferenciação, através de processo de mitose, estabelecendo assim a regeneração do tecido ou um órgão comprometido <sup>14</sup>. As células tronco podem ser classificadas como pluripotentes, células capazes de regenerar qualquer célula da endoderma, mesoderma e ectoderma, e células multipotentes que apenas serão capazes de regenerar células do tecido no qual elas são derivadas <sup>15</sup>.

Quanto a sua localização, as células tronco podem ser divididas em células embrionárias e adultas ou pós natal, ambas estão aptas a auto renovação. As células estaminais embrionárias são encontradas no estágio inicial de desenvolvimento embrionário junto à camada interna do blastocisto e esta possui uma extrema capacidade de renovação e geração de novos tecidos, por isso, tem-se questionado a sua utilidade em ambiente laboratorial e clínico. As células tronco pós natal são encontradas na medula óssea, órgão pulpar e entre outros tecidos adultos. Seu poder de diferenciação celular é diminuto quando comparada com as embrionárias <sup>14</sup>.

As células tronco pós natal podem ser encontradas em várias áreas da cavidade oral. Na região de papila apical, ligamento periodontal, glândula salivar e folículo dentário. As que estão presentes em região periapical, são as células que são mais eficazes para procedimentos regenerativos, como por exemplo, as células da polpa dentária <sup>15</sup>.

Alguns inconvenientes são citados na literatura quando o assunto são as células tronco. Existem algumas dificuldades como, o acesso



para a cultura, quantidade, qualidade das propriedades celulares e a interação da mesma com biomateriais que irão arquitetar e auxiliar na proliferação. No entanto, quando relacionado as células tronco provinda da polpa dentária, esses inconvenientes são superados. Para a cultura possui um melhor acesso, não sofrem alterações após serem coletadas e apresentam uma multiplicação celular expressiva quando em contato com biomateriais <sup>16</sup>.

As células estaminais provindas da polpa dentária são capazes de reabilitar um tecido insalubre ou gerar um novo tecido por serem células aptas a se distinguirem e se multiplicarem em células angiogênicas e células odontoblásticas. As células tronco podem ser utilizadas como uma terapia celular onde o tecido ferido será regenerado ou recuperado <sup>17</sup>.

A endodontia convencional busca a terapia do elemento traumatizado ou infectado através da instrumentação e obturação dos canais radiculares, respectivamente, com material termoplástico. A longo ou curto prazo, esse elemento pode sofrer infiltrações, promovendo uma reinfecção do canal e ainda, podendo promover a fratura do elemento dentário. Visto isso, pesquisas estão sendo realizadas para comprovar a real eficiência da endodontia regenerativa, que para tal, busca a regeneração do tecido conjuntivo infectado devolvendo a sua função natural de inervação e vascularização <sup>18</sup>.

Com o passar dos anos, a odontologia regenerativa está conquistando seu espaço, e ainda mais, no que se diz respeito as células tronco. As mesmas associadas a engenharia de tecidos, unindo a biologia e a ciência, podem gerar tecidos saudáveis frente a alguma agressão ou trauma. Para que isso ocorra de maneira adequada, é importante unir e respeitar alguns requisitos, como: célula, indicação e *scaffold* ideais e o conhecimento da ciência para o sucesso regenerativo <sup>14</sup>.

### Endodontia Regenerativa

Para obter-se êxito nos procedimentos conceituados regenerativos, é importante relatar o que é a engenharia de tecidos. Esta nada mais é que a união de ramos da ciência, biologia e da própria engenharia com um objetivo único, sendo este a recuperação, restauração e manutenção de qualquer órgão ou tecido <sup>18</sup>.

A revascularização do elemento dentário também é considerada um tipo de regeneração

endodôntica, já que nesses casos é realizado a estimulação do sangramento e formação de um coágulo a fim de alcançar a formação de novos vasos sanguíneos. Entretanto, já se sabe que essa formação não é idêntica aos componentes primários e originais da polpa dentária. Com esse procedimento, em alguns casos, é possível alcançar a resolução da sintomatologia associada a infecções endodônticas, ganhar espessura e comprimento da raiz, bem como o retorno das respostas vitais do elemento dentário <sup>19</sup>.

O sucesso da endodontia regenerativa com a utilização de células tronco está atrelada a preservação de células hospedeiras residuais, já que só irá ocorrer a regeneração com a integridade das células estaminais. Há fortes evidências demonstrando que com a utilização da pasta tri antibiótica não há se quer alguma alteração dessas células <sup>15</sup>.

Quando há o comprometimento da polpa dentária e conseqüentemente a colonização de microorganismos no espaço pulpar, esta microbiota é identificada por receptores de reconhecimento de padrões de patógenos (receptores toll-like). Estes receptores são encarregados da identificação de patógenos específicos e a partir disso, a comunidade celular da polpa dentária terá uma resposta imune ao nível dessa microbiota e tendo estudos comprovando que quando esses receptores se ligam as células tronco o poder de diferenciação e multiplicação celular é regulado <sup>19</sup>.

A endodontia regenerativa poderá ser aplicada em dois casos: o primeiro consiste em um tratamento mais conservador, sem grandes perdas e comprometimentos de estruturas e a segunda esta atrelada ao avanço da engenharia de tecidos. Essa nova modalidade de tratamento será empregada em situações de prevenção e reversão de patologias <sup>20</sup>.

D'Aquino et al., (2008) <sup>16</sup> relata que uma atenção maior deve ser dada a interação das células tronco e dos biomateriais, pois a única maneira de alcançar o sucesso do tecido em questão é com a utilização desses elementos que podem se assimilar ao volume e forma do órgão, arquitetando e organizando a regeneração, visto que toda a dinâmica do processo de formação dos órgãos está longe de ser entendido e que a única forma de estruturar uma regeneração tridimensionais é com o uso de biomaterias.

A endodontia regenerativa com a utilização de células tronco está atrelada ao isolamento de

células, seja ela autóloga ou não, que deverão ser manipuladas de maneira adequada e em condições viáveis para alcançar o sucesso e não abrir oportunidades para uma reação imunológica. Essas células deveriam ser incorporadas ao biomaterial que irá servir de esqueleto, para que após isso possa ser depositada no espaço endodôntico e consiga uma regeneração da polpa dentária 21.

#### *Biomateriais*

Na literatura atual é descrito um grande número de biomateriais que são utilizados como o “esqueleto” da regeneração pulpar. O melhor scaffold é aquele que apresenta a matriz extracelular semelhante a da polpa dentária 22. Além disso, devem possuir características que deverão promover aderência, possuir uma vida útil longa o suficiente para que o processo de regeneração ocorra por completo e consequentemente permitir a proliferação e diferenciação das células tronco, sendo capaz de sofrer uma degradação eficiente sem a liberação de subprodutos que apresentam toxicidade 21. O que irá definir sua real classificação será a sua origem (natural ou artificial), composição química e física, estrutura celular e modo de aplicação (podendo ser injetável ou não).

Os scaffolds naturais apresentam vantagens superiores aos artificiais, pois são biocompatíveis e são capazes de permitir que as células realizem sua função adequada e normal, sendo semelhantes a matriz extracelular. Porém, existem pontos negativos ao que se refere a manipulação do seu isolamento, indução da resposta imune por razão a sua origem e suas propriedades mecânicas e geométricas que dificultam ou impedem seu uso em práticas clínicas. Por isso, houve uma mudança, os cirurgiões dentistas começaram a se interessar mais pelo artificial, pois este serão construído de acordo com as condições, contudo, esses não são bioativos. Portanto, para o melhor sucesso clínico está sendo discutida a utilização de andaimes macios e injetáveis, que tenha maior facilidade de se adaptar no espaço radicular com mínima contração e que só se tornem rígidos em seu destino final. Junto ao scaffold poderá estar presente fatores de crescimento, substâncias antibacterianas e terapêuticas e nos mesmos podem estar presente as células tronco ou não 22.

Os scaffolds deverão ser tridimensionais e as características como rigidez, tamanho e volume de poros irão interferir diretamente na capacidade de diferenciação e proliferação das células. Um material que está sendo usado bastante para fabricação dessas estruturas é a Policaprolactona que apresenta uma eficiente biocompatibilidade, mas por se tratar de um composto artificial não é um material bioativo. E para superar esse inconveniente, insumos a base de cálcio como, por exemplo, o MTA, está sendo incorporado a Policaprolactona para torna-la bioativa. E com isso foi comprovado que associação dos dois materiais elevou o pH, deixando o meio mais alcalino, propiciando melhor diferenciação celular 23.

Outro material também de origem artificial que pode ser utilizado é o alginato. É um material biocompatível e suas propriedades físico-químicas auxiliam na regulação do ambiente de maneira que possa ocorrer a diferenciação em células odontoblasticas, porém, por se tratar de um material que não interage com a água, um outro material deve ser associado para promover uma adesão e proliferação celular eficiente e esse material é o colágeno desnaturado 24.

A estimulação do coágulo autólogo foi utilizada tradicionalmente como um scaffold porém estudos relatam alguns inconvenientes como a ferida de tecidos periapicais, a presença de células imunes, a falta de precisão da composição em relação aos fatores de crescimento. No presente estudo foi comparado a estimulação do coágulo sanguíneo, o plasma rico em plaquetas e o plasma rico em fibrinas a fim de analisar clinicamente a resolução da sintomatologia e radiograficamente o espessamento e desenvolvimento radicular. A estimulação do coágulo sanguíneo teve o melhor desempenho, porém, é importante ressaltar que nem todas as tentativas apresentam sucesso, não apresenta alta concentração de fatores de crescimento e podem causar obliteração do canal radicular e consequentemente prejudicar o tratamento endodôntico no futuro. No entanto, o uso de plaquetas possui um maior custo e mais dificuldade para trabalhar com pacientes pediátricos, porém, pode induzir a diferenciação e proliferação celular com menor risco de obliteração dos canais radiculares 25.

#### *Fator de Crescimento*

*[...] Os fatores de crescimento são proteínas que se ligam aos receptores de membrana celular específicos e desencadeiam uma série de vias de sinalização que coordenam todas as funções celulares, ou seja, sem esses fatores o crescimento celular e sua funcionalidade ficam inteiramente comprometidos [...] <sup>[26]</sup>.*

Para a regeneração pulpar, uma dificuldade que ainda é bem comentada, é o transporte de oxigênio e nutrição para o tecido e por isso, fatores de crescimento celular são acrescentados no material para o sucesso terapêutico. Antigamente, uma baixa concentração de oxigênio no local era o tratamento de melhor escolha, pois isto aumentava o potencial angiogênico das células tronco através do fator de crescimento endotelial vascular (FCEV). Recentemente, foi constatado que o fator de crescimento fibroblástico-2 (FCF-2) obteve uma vascularização mais significativa quando comparada com a hipóxia <sup>27</sup>.

Diogenes, Simon e Law (2017) <sup>19</sup> citam estudos que comprovam que o corticosteroide e fármacos do grupo das estatinas quando consumido em maior tempo aumenta a diferenciação das células presentes na polpa dentária em odontoblastos e que radiograficamente observa-se o estreitamento da câmara pulpar e o aumento na espessura da pré dentina. Visa a importância de combinar fatores de crescimento, visto que a união aumenta ainda mais a diferenciação e proliferação celular e que o uso do fator de crescimento endotelial e o fator de crescimento rico em plaquetas aumenta em larga escala a formação de novos vasos sanguíneos e auxilia na formação de tecido conjuntivo frouxo.

Orti (2018) <sup>22</sup> relata que as proteínas ósseas morfogênicas, por estarem presentes no desenvolvimento do elemento dentário, promovem a

diferenciação celular de fenótipo odontoblastoide. O fator de crescimento transformador  $\beta$  responsável pela diferenciação e multiplicação de células tronco da polpa dentária e por induzirem a resposta imune do hospedeiro regula a atividade celular e leva a regeneração. O FCF-2 aumenta o poder de migração e proliferação celular e por consequência há a regeneração do tecido semelhante ao órgão pulpar.

O FCF-2 além de auxiliar na proliferação celular e ser um bom reparador tecidual, faz com que haja a ocupação de células vasculares e regula a expressão de marcadores celulares da polpa dentária. Visto isso, foi associado o FCF-2 com nano partículas de hidróxido apatita e concluiu-se a regeneração tecidual e consequentemente a formação de tecido mineralizado contendo inúmeros prolongamentos de túbulos dentinários <sup>28</sup>.

#### *Desinfecção do Sistema de Canais Radiculares*

Além das células tronco, scaffold e fatores de crescimento mais um requisito deve ser acrescentado para o sucesso da endodontia regenerativa, e este é a desinfecção do canal radicular. A desinfecção deve ser biocompatível com as células presentes no sistema de canais radiculares, de maneira que não comprometa a viabilidade da mesma <sup>6</sup>.

A comunidade clínica ainda apresenta muitas dúvidas sobre o protocolo de desinfecção dos canais radiculares na endodontia regenerativa. e a mesma não se difere de maneira significativa quando comparada a terapia convencional. A instrumentação mecânica é minimamente ou nunca usada, porém, o uso de soluções químicas é primordial para o sucesso das células tronco no tratamento endodôntico. A solução química mais utilizada também é o hipoclorito de sódio, por apresentar características importantes como a dissolução de matéria orgânica e ação bactericida, no entanto, estudos demonstram que quando utilizado em concentrações altas, a solução química comprometeu a diferenciação das células estaminais em células semelhantes as células odontoblasticas <sup>29</sup>.

Martin et al. (2014) <sup>30</sup> demonstraram a diferenciação das células estaminais quando submetidas a irrigações com hipoclorito de sódio com concentrações de 0,5%, 1,5%, 3% e 6% e após isso, uma segunda irrigação com EDTA 17%. Foram utilizados 3° molares com polpa

viva com indicação de exodontia. O estudo revelou que a irrigação com hipoclorito de sódio nas concentrações de 0,5%, 1,5%, 3% causaram uma redução de 37% das células tronco da papila apical, porém esses efeitos foram revertidos quando uma segunda irrigação foi realizada com EDTA 17%. E a irrigação com hipoclorito de sódio a 6% teve um efeito negativo e impossibilitou a proliferação e diferenciação das células tronco.

As substâncias irrigadoras podem comprometer a eficácia das células tronco por mecanismos indiretos. O uso da clorexidina como irrigante compromete a viabilidade das células tronco presentes na papila apical. O EDTA 17% foi a substância que não comprometeu as células. Uso do hipoclorito de sódio 6% + EDTA 17% diminuíram a viabilidade quando comparado com o uso apenas do EDTA 17% 31.

Após a secreção de odontoblastos e consequentemente a formação da dentina, moléculas bioativas ficam entranhadas na dentina podendo ser liberadas após a dismineralização. Essas moléculas, nada mais são que fatores de crescimento que irão auxiliar e intensificar a proliferação e diferenciação celular. Estudo foi feito para analisar a melhor substância irrigadora para a desinfecção dos canais radiculares a fim da secreção desses fatores de crescimento. O uso de EDTA 10% por 20 minutos aumentou a liberação do fator de crescimento transformador  $\beta 1$ , fator de crescimento endotelial vascular e fator de crescimento fibroblástico 2, sendo em maior quantidade o fator de crescimento transformador  $\beta 1$ . A clorexidina como primeiro irrigante e depois o EDTA 10% teve um aumento significativo na liberação de fator de crescimento transformador  $\beta 1$  – semelhante ao uso apenas do EDTA. Quando irrigado com hipoclorito de sódio e após EDTA reduziu a liberação do fator de crescimento transformador  $\beta 1$ . A pasta tri antibiótica diminuiu a secreção do fator de crescimento  $\beta 1$ . O uso do hidróxido de cálcio foi melhor para liberação desse fator de crescimento 32.

Zeng et al., (2016) 33 fizeram um estudo para investigar a liberação de fatores de crescimento com concentrações diferentes de hipoclorito de sódio + EDTA 17% e uma irrigação com apenas 17% de EDTA. Nesse estudo, a irrigação com hipoclorito de sódio 1,5% + EDTA 17% e irrigação com hipoclorito de sódio a 2,5

% + EDTA 17% no primeiro dia teve uma intensa secreção de fator de crescimento transformador  $\beta 1$  (importante para mobilização celular) quando comparado com o grupo que foi usado apenas EDTA 17%. No terceiro dia, a irrigação com hipoclorito de sódio teve liberação ainda maior quando comparada só com EDTA 17%. O fator de crescimento fibroblástico 2 foi baixo em todos os grupos. E hipoclorito de sódio 1,5% + EDTA ainda promoveu a migração das células em fatores de crescimento – fatores que promovem o recrutamento das células tronco, estimula a diferenciação e consequentemente a regeneração do tecido.

O protocolo de desinfecção Associação Americana de Endodontia é a aplicação do hidróxido de cálcio ou da pasta tri antibiótica. Em estudos foi mostrado que a aplicação da pasta tri antibiótica teve um secreção menor de fatores de crescimento transformador e o hidróxido de cálcio estimulou mais essa secreção 33.

Coadjuvante ao uso do hipoclorito, a utilização de uma pasta tri-antibiótica é o protocolo mais aceito e mais comumente utilizado. Um relato de caso clínico em um 2° pré-molar imaturo comprovou que a ciprofloxacina, minociclina e o metronidazol quando combinados promoveram uma desinfecção efetiva e se obteve resposta de vitalidade pulpar positiva e fechamento apical 29.

O metronidazol é utilizado por ser um antibiótico de amplo espectro, pela capacidade de agir diretamente na parede celular da bactéria e por possuir efeito bactericida em bactérias gram – e gram +. A minociclina também possui amplo espectro, pertence ao grupo dos bacteriostáticos agindo em bactérias gram – e gram +, incluindo bactérias anaeróbicas e facultativas. A ciprofloxacina inibe a síntese do DNA e se apresenta muito potente contra gram – mas tem efeito diminuto para as gram +. Por isso é empregada em conjunto com o antibiótico metronidazol para o tratamento de infecções mistas 34.

Dubey et al. (2019) 35 chamam atenção para a minociclina, visto que esse antibiótico possui característica como alta substantividade e por isso pode prejudicar a proliferação e diferenciação de células sanguíneas. Em virtude disso, buscaram substituir a minociclina, presente na pasta tri antibiótica, pela clindamicina. A clindamicina possui um amplo espectro, é eficaz em infecções endodônticas agindo diretamente



nas bactérias *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Enterococcus faecalis*, e ainda relatam que o uso desse antibiótico pode aumentar o poder angiogênico, fator importante para a regeneração pulpar.

## DISCUSSÃO

Piva et al., (2017), Murray; Garcia-Godoy; Hargreaves (2007), Diogenes; Hargreaves (2017)<sup>17,18,6</sup> relatam que a endodontia regenerativa pode promover a resolução da sintomatologia associada a infecção endodôntica, devolvendo ao elemento dentário o seu curso de desenvolvimento normal, quando se trata de um elemento imaturo, com ganho de espessura e comprimento de raiz, devolvendo sua inervação e vascularização normal, regenerando o tecido comprometido.

As células tronco possuem um potencial inato no que se diz respeito ao reparo e regeneração de tecidos semelhantes aos dentino pulpares. Essas células podem ser extraídas da medula óssea, ligamento periodontal e polpa dentária, sendo as células do órgão pulpar as mais eficazes para a regeneração endodôntica<sup>14,15,17</sup>.

De acordo com D'Aquino et al., (2008), Ducret et al., (2017) e Orti (2018)<sup>16,21,22</sup> as células tronco deverão ser incorporadas aos biomateriais que irão servir como uma estrutura para a multiplicação e proliferação celular. Esses biomateriais podem ser semelhantes ao órgão pulpar e promover aderência para o melhor sucesso regenerativo.

A policaprolactona, por ser tratar de um material biocompatível, é bem utilizado, no entanto, por ser artificial não é um material bioativo e por isso são associados materiais a base de cálcio propiciando um meio mais alcalino e melhorando a diferenciação celular<sup>23</sup>. Em contrapartida Yu et al., (2019)<sup>24</sup> relatam que o alginato é um biomaterial de qualidade já que devido suas propriedades físico-químicas ajudam na diferenciação em células odontoblásticas, porém, por se tratar de um material que não interage com água o colágeno desnaturado deve ser associado para melhor adesão e proliferação celular.

Ulusoy et al., (2019)<sup>25</sup> alegam que a estimulação do coágulo sanguíneo foi um método utilizado como scaffold, porém as desvantagens como presença de células imunológicas e a ferida provocada no tecido periapical não compensa pois mais tarde pode-se ter a calcificação

do canal radicular dificultando um tratamento endodôntico futuro.

O fator de crescimento fibroblástico-2 aumenta o poder de migração e proliferação celular, estabelecendo células vasculares e consequentemente levando a regeneração tecidual<sup>27,22,28</sup>.

Diogenes (2013); Martin et al., (2014)<sup>15,30</sup> concluem que o hipoclorito de sódio é um dos melhores irrigantes para a desinfecção dos canais radiculares, no entanto, quando utilizado em altas concentrações causa a redução da efetividade das células tronco presentes na papila apical. Martin et al., (2014)<sup>30</sup> ainda comenta que quando utilizadas o hipoclorito de sódio em concentrações de 0,5%, 1,5%, 3% há uma queda das células tronco mas que esses efeitos podem ser revertidos quando uma segunda irrigação for feita com EDTA 17%. No entanto, Trevino et al., (2011)<sup>31</sup> informam que apenas o EDTA 17% não diminuiu a viabilidade das células tronco, enquanto a clorexina e o hipoclorito de sódio, como primeiro irrigante, e o EDTA, como segundo irrigante, apresentaram uma redução das mesmas.

O uso do EDTA 10% durante 20 minutos apresentou um aumento significativo na liberação dos fatores de crescimento  $\beta 1$ , endotelial vascular e fibroblástico-2. A clorexidina como primeiro irrigante e o EDTA 10% como segundo, também gerou a liberação dos fatores de crescimento, principalmente o B1 – semelhante ao uso apenas do EDTA. O uso de hipoclorito de sódio e após uma outra irrigação com o EDTA, comprometeu a liberação do fator  $\beta 1$ . A pasta tri antibiótica diminuiu a secreção desse mesmo fatores quando comparado ao uso do hidróxido de cálcio<sup>32</sup>. Em contrapartida Zeng et al., (2016)<sup>33</sup> concluíram que a liberação do fator de crescimento  $\beta 1$  foi maior quando comparado o uso de hipoclorito de sódio com concentrações de 1,5% e 2,5% e uma segunda irrigação com EDTA 17% do que com uma irrigação única de EDTA 17%. O hipoclorito de sódio 1,5% + EDTA ainda promoveu a migração das células em fatores de crescimento.

O hipoclorito de sódio e a pasta tri antibiótica (ciprofloxacina, minociclina e metronidazol) promoveram uma desinfecção de sucesso obtendo-se ainda o retorno da resposta da vitalidade pulpar e fechamento apical<sup>15</sup>. No entanto Dubey et al., (2019)<sup>35</sup> afirmaram que o

uso da minociclina pode prejudicar a diferenciação celular e por isso, passaram a substituir a minociclina pela clindamicina e ainda relataram que esse antibiótico aumenta o poder angiogênico, fator importante para a regeneração endodôntica.

## CONCLUSÃO

O método regenerativo atrelado as células tronco, está crescendo tanto em meio clínico como em pesquisa, já que o mesmo tem o potencial de regenerar tanto polpa como dentina, tornando-se assim um método alternativo para salvar elementos que possam estar comprometidos no que se diz respeito a integridade estrutural. Sua melhor indicação é o tratamento de dentes imaturos em pacientes jovens que apresentam necrose pulpar com o prognóstico desfavorável. A endodontia regenerativa visa a reposição da matéria orgânica do elemento dentário com a finalidade de não comprometer sua estrutura, recuperar a resposta a sensibilidade pulpar e devolver ao elemento o seu curso de desenvolvimento normal radicular. Todos esses aspectos serão obtidos através da união das células tronco, dos biomateriais, dos fatores de crescimento e da desinfecção dos canais radiculares, que são elementos imprescindíveis para o sucesso regenerativo.

## REFERÊNCIAS

1. YANG, B. et al. Application of Stem Cells in Oral Disease Therapy: Progresses and Perspectives. *Front Physio*. 2017;3(8):[197].
2. KIM, S.G. et al. Regenerative Endodontics: a comprehensive review. *Int Endod J*, 2018;51(12):[1367-1388].
3. DIOGENES, A. et al. Regenerative endodontics: a way forward. *J Am Dent Assoc*. 2016;147(5):[372-380].
4. Nicolescu, M, I. Regenerative Perspective in Modern Dentistry. *Dent J*, 2016;4(2)[10].
5. SMITH, A. J. et al. Exploiting the Bioactive Properties of the Dentin-Pulp Complex in Regenerative Endodontics. *J Endod*, 2016;42(1):[47-56].
6. DIOGENES, A.; HARGREAVES, K. M. Microbial Modulation of Stem Cell and Future Directions in Regenerative Endodontics. *J Endod*, 2017;43(9): [S95-S101].
7. BALIC, A. Biology explaining tooth repair and regeneration: a mini-review. *Gerontology*, 2018;64(4):[382-388].
8. GUEDES-PINTO, A. C.; SANTOS, E. M.; MELLO-MOURA, A. C. V. *Odontopediatria*. 8.ed. Santos; 2010.
9. HARGREAVES, K. M; COHEN, S. K. *Cohen Caminhos da Polpa*. 10.ed. Mosby, 2011.
10. KATCHBURIAN, E.; ARANA, V. *Histologia e Embriologia Oral*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.
11. SIQUEIRA, J.F. et al. *Endodontia Biologia e Técnica*. 4.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.
12. ESTRELA, C. *Ciência Endodôntica*. Artes Médicas. São Paulo, 2007.
13. LUIZ, L. M. *Células-tronco mesenquimais: isolamento e caracterização de populações derivadas de alvéolo dental humano e identificação e caracterização de populações de polpas dentais de camundongos*. Tese (Doutorado em Patologia e Estomatologia Básica e Aplicada). São Paulo: Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, 2013.
14. CASAGRANDE, L. et al. Dental pulp stem cells in regenerative dentistry. *Odontology*, 2011;99(1) [1-7].
15. DIOGENES, A. et al. An update on clinical regenerative endodontics. *Endodontics Topics*, 2013;28(1) [2-23].
16. D'AQUINO, R. et al. Dental Pulp Stem Cells: A Promising Tool for Bone Regeneration. *Stem Cell Reviews*, 2008; 4(1):[21-26].
17. PIVA, E. et al. Dental pulp tissue regeneration using dental pulp stem cells isolated and expanded in human serum. *J Endod*, 2017;43(4): [568-574].
18. MURRAY, P., E.; GARCIA-GODOY, F.; HARGREAVES, K. M. Regenerative Endodontics: A Review of Current Status and a Call for Action. *J Endod*, 2007;33(4):[377-390].
19. HARGREAVES, K. M; BERMAN, L. H. *Cohen Caminhos da Polpa*. 11. Ed. Ilan Rotstein, 2017.
20. GEORGE, T.; HUANG, J. A paradigm shift in endodontic management of immature teeth: Conservation of stem cells for regeneration. *J Dent*, 2008;36(6):[379-386].
21. DUCRET, Maxime et al. Current challenges in human tooth revitalization. *Biomed Mater Eng*, 2017;28(s1):[159-168].
22. ORTI, V. Pulp Regeneration Concepts for Nonvital Teeth: From Tissue Engineering to Clinical Approaches. *Tissue Eng Part B: Rev*, 2018;24(6):[419-442].

23. BHARGAV, A. et al. Taguchi's methods to optimize the properties and bioactivity of 3D printed polycaprolactone/mineral trioxide aggregate scaffold: Theoretical predictions and experimental validation. **J Biomed Mater Res B: Applied Biomaterials**, 2020;108(3):[629-637].
24. YU, H. et al. Effects of 3-dimensional Bioprinting Alfinat/Gelatin Hydrogel Scaffold Extract on Proliferation and Differentiation of Human Dental Pulp Stem Cells. **J Endod**, 2019;45(6):[706-715].
25. ULUSOY, A. T. et al. Evaluation of Blood Clot, Platelet-rich Plasma, Platelet-rich Fibrin, and Platelet Pellet as Scaffolds in Regenerative Endodontic Treatment: A Prospective Randomized Trial. **J Endod**, 2019;45(5):[560-566].
26. MACHADO, M. E. L.; HADDAD FILHO, M. S.; AGUIAR, C. M. Endodontia tópicos da atualidade. São Paulo: Napoleão, 2015.
27. GORIN, C. et al. Priming Dental Pulp Stem Cells With Fibroblast Growth Factor-2 Increases Angiogenesis of Implanted Tissue-Engineered Constructs Through Hepatocyte Growth Factor and Vascular Endothelial Growth Factor Secretion. **Stem Cells Transl Med**, 2016; 5(3):[392-404].
28. IMURA, K. et al. Application of hydroxyapatite nanoparticle-assembled powder using basic fibroblast growth factor as a pulp-capping agent. **Dent Mater J**, 2019;38(5):[13-720].
29. DIOGENES, A. R. et al. Translational Science in Desinfection for Regenerative Endodontics. **J Endod**, 2014;40(4):[52-57].
30. MARTIN, D. E. et al. Concentration-dependent Effect of Sodium Hypochlorite on Stem Cells of Apical Papilla Survival and Differentiation. **J Endod**, 2014; 40(1):[51-55].
31. TREVINO, E. G. et al. Effect of Irrigants on the Survival of Human Stem Cells of the Apical Papilla in a Platelet-rich Plasma Scaffold in Human Root Tips. **J Endod**, 2011; 37(8):[1109-1115].
32. GALLER, K. M. et al. Influence of Root Canal Disinfectants on Growth Factor Release from Dentin. **J Endod**, 2015; 41(3): [363-368].
33. ZENG, Q. et al. Release of Growth Factors into Root Canal by Irrigations in Regenerative Endodontics. **J Endod**, 2016;42(12):[1760-1766].
34. MONTERO-MIRALLES, P. et al. Effectiveness and clinical implications of the use of topical antibiotics in regenerative endodontic procedures: a review. **Inte Endod J**, 2018;51(9):[981-988].
35. DUBEY, N. et al. Comparative Evaluation of the Cytotoxic and Angiogenic Effects of Minocycline and Clindamycin: An In Vitro Study. **J Endod**, 2019;45(7):[882-889]