



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I- CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA
CURSO DE ODONTOLOGIA**

LARISSA TIANY CAMARA DA SILVA

**EFICÁCIA DO TRANSPLANTE COM CÉLULAS-TRONCO DE
DENTES DECÍDUOS ESFOLIADOS HUMANOS NA
REGENERAÇÃO DO COMPLEXO DENTINO-PULPAR**

**CAMPINA GRANDE – PB
2021**

LARISSA TIANY CAMARA DA SILVA

**EFICÁCIA DO TRANSPLANTE COM CÉLULAS-TRONCO DE
DENTES DECÍDUOS ESFOLIADOS HUMANOS NA
REGENERAÇÃO DO COMPLEXO DENTINO-PULPAR**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à coordenação do curso de Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba- Campus I, como requisito parcial para obtenção do título de Cirurgião-Dentista.

Orientador: Profa. Dra. Criseuda Maria Benício Barros
Coorientador: Profa. Dra. Armiliana Soares Nascimento

**CAMPINA GRANDE – PB
2021**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

S586e Silva, Larissa Tiany Camara da.

Eficácia do transplante com células-tronco de dentes decíduos esfoliados humanos na regeneração do complexo dentino-pulpar [manuscrito] / Larissa Tiany Camara da Silva. - 2021.

58 p. : il. colorido.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2021.

"Orientação : Profa. Dra. Criseuda Maria Benício Barros, Coordenação do Curso de Odontologia - CCBS."

1. Polpa dentária. 2. Endodontia regenerativa. 3. Transplante de células-tronco.

I. Título

21. ed. CDD 617.634

LARISSA TIANY CAMARA DA SILVA

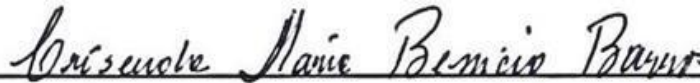
**EFICÁCIA DO TRANSPLANTE COM CÉLULAS-TRONCO DE DENTES
DECÍDUOS ESFOLIADOS HUMANOS NA REGENERAÇÃO DO COMPLEXO
DENTINO-PULPAR**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Coordenação do
Curso de Odontologia da
Universidade Estadual da Paraíba
— Campus I, como requisito
parcial para a obtenção do título de
Cirurgião-Dentista.

Área de concentração: Endodontia

Aprovado em: 28/05/2021

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dra. Criseuda Maria Benício Barros

Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dra. Armiliana Soares Nascimento

Centro Universitário Uninassau



Prof. Dra. Darlene Darlene Cristina Ramos Eloy Dantas

Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

À Deus, pela força e persistência a mim concedidas durante essa caminhada. Sem Ele eu não estaria aqui escrevendo essas palavras.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me sustentado até aqui, por me dar a oportunidade de vivenciar esse momento de vitória. Sem Ele eu não estaria aqui.

Aos meus pais que dedicaram suas vidas para que eu pudesse ter uma educação de qualidade, colocando suas necessidades em segundo lugar para que eu pudesse me tornar uma pessoa melhor hoje.

Aos meus avôs, especialmente a Nelson Silva (In memoriam) que sempre valorizou meus estudos, e acreditou em mim quando ninguém acreditava.

A orientadora Professora Criseuda Maria Benício Barros, por ter se disponibilizado tão generosamente para enfrentar esse desafio, e por ser tão solícita em ajudar seus alunos! A professora Armiliana que contribui muito com a construção desse trabalho! A professora Darlene por ter aceitado o convite em um momento tão difícil! Minha imensa admiração a essas mulheres tão inteligentes!

Aos pacientes, que confiaram sua saúde aos nossos cuidados, permitindo aprender e desenvolver nossas técnicas.

À minha dupla Sara Diniz, por ser minha amiga e companheira durante esses anos, por ter enfrentado essa longa jornada comigo. Nossa amizade deu certo e nos completou nas clínicas!

A minha turma, que se tornaram verdadeiros amigos, foram muitas dificuldades, inseguranças, que compartilhamos juntos durante a graduação. Longa foi a nossa caminhada, mas ficará a lembrança desses momentos e a certeza de que cada um de nós contribuiu para o crescimento do outro.

Por fim deixo minha singela homenagem aos meus professores da graduação com o poema “Gaiolas e Asas” de Rubem Alves:

“Há escolas que são gaiolas e há escolas que são asas.

Escolas que são gaiolas existem para que os pássaros desaprendam a arte do voo. Pássaros engaiolados são pássaros sob controle. Engaiolados, o seu dono pode levá-los para onde quiser. Pássaros engaiolados sempre têm um dono. Deixaram de ser pássaros. Porque a essência dos pássaros é o voo.

Escolas que são asas não amam pássaros engaiolados. O que elas amam são pássaros em voo. Existem para dar aos pássaros coragem para voar. Ensinar o voo, isso elas não podem fazer, porque o voo já nasce dentro dos pássaros. O voo não pode ser ensinado. Só pode ser encorajado”.

Rubem Alves

Obrigado por me encorajarem a voar!

“Nem olhos
viram, nem ouvidos
ouviram, nem jamais penetrou o
coração humano, o que Deus tem
preparado para aqueles que O amam”.

1 Coríntios 2.9.

LISTAS DE ABREVIATURAS

BMMSCs	Células-tronco mesenquimais derivadas da medula óssea.
BMSCs	Células estromais da medula óssea adulta.
BMPs	Proteínas morfogenéticas ósseas.
CTMs	Células-tronco mesenquimais.
Ca (OH) ²	Hidróxido de Cálcio.
CCB	Centro de Criogenia Brasil.
DPSCs	Células-tronco da polpa dentária adulta.
DMSO	Dimetilsufóxido.
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético.
FC	Fatores de crescimentos.
FBS	Soro fetal bovino.
LLLI	Laser de Diodo de Baixa intensidade.
MTA	Agregado Trióxido Mineral.
MSCs	Células mesenquimais.
NaOCl	Hipoclorito de Sódio.
PRP	Plasma Rico em Plaquetas.
PBS	Solução salina tamponada com fosfato.
REPs	Procedimentos endodônticos regenerativos.
SHED's	Células-tronco de dentes decíduos esfoliados humanos.
TERM	Engenharia de tecidos e medicina regenerativa.
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

TGF β	Fator de crescimento transformante beta.
DSPP	Sialofosfoproteína dentinária.
DMP-1	Proteína da matriz dentinária 1.
ALP	Fosfatase alcalina.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fluxograma de seleção dos artigos.....	18
Figura 2 – Componentes Dentários.....	20
Figura 3 – Localização das células-tronco na polpa dentária.....	21
Figura 4 – Tríade de engenharia de tecidos.....	22
Figura 5 – Matriz substituída por tecido regenerado.....	23
Figura 6 – Potencial das Células-tronco.....	25
Figura 7 – Células tronco embrionárias extraídas do blastocisto.....	25
Figura 8 – Potencial Pruripotente das células-troco embrionárias.....	26
Figura 9 – Origem das células tronco adultas.....	26
Figura 10 – Linhagem Hematopoiética das células-tronco adultas.....	27
Figura 11 – Classificação das células-tronco de origem odontogênica.....	30
Figura 12 – Potencial proliferativo da células-tronco de dentes decíduos em odontoblastos maduros, adipócitos, células neurais.....	33
Figura 13 – Fluxograma de utilização das SHEDs.....	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Combinação dos termos utilizados para estratégia de busca.....17

Tabela 2 – Sumário dos estudos selecionados e seus principais desfechos para transplante de células-tronco de dentes decíduos.....45

RESUMO

Células-tronco são células dotadas da capacidade de replicação e diferenciação em diversos tipos celulares, exercendo funções específicas de acordo com o tecido em que irá se especializar. As células-tronco de dentes decíduos esfoliados humanos (SHED's) são consideradas uma das fontes mais promissoras de células-tronco para engenharia de tecidos e terapias com células-tronco devido ao seu potencial de diferenciação em multilinhagens. O conhecimento e manipulação dessas células são fundamentais para o desenvolvimento de terapias odontológicas restauradoras do complexo dentino-pulpar. Este estudo teve como objetivo analisar o potencial de regeneração dentino-pulpar das SHED's, em ensaios clínicos realizados recentemente; divulgar o uso de novos biomateriais na endodontia regenerativa; e oferecer embasamento científico para a utilização das células-tronco pelos profissionais de Odontologia. Para isso, foi realizada uma pesquisa exploratória qualitativa, nas bases de dados Scielo, Lilacs e Pubmed na literatura, usando descritores relacionados ao tema. A estratégia de busca produziu 569 artigos, dos quais foram selecionados 5 estudos para revisão. Mediante resultado dos artigos selecionados concluiu-se que as SHED's possuem significativa eficácia regenerativa. Sugere-se novas pesquisas *in vivo* para aquisição de dados mais detalhados sobre seu funcionamento em organismos vivos.

Palavras-chave: Polpa dentária. Endodontia Regenerativa. Transplante de Células-Tronco Mesenquimais.

ABSTRACT

Stem cells are cells endowed with the capacity to replicate and differentiate into different cell types, performing specific functions according to the tissue in which they will specialize. Human exfoliated primary tooth stem cells (SHED's) are considered one of the most promising sources of stem cells for tissue engineering and stem cell therapies due to their potential to differentiate into multilineages. The knowledge and manipulation of these cells are fundamental for the development of dental therapies that restore the pulp-dentin complex. This study aimed to analyze the dentin-pulpal regeneration potential of SHED's, in clinical trials carried out recently; disclose the use of new biomaterials in regenerative endodontics; and provide a scientific basis for the use of stem cells by dental professionals. For this, a qualitative exploratory research was carried out in the Scielo, Lilacs and Pubmed databases in the literature, using descriptors related to the theme. The search strategy produced 569 articles, from which 5 studies were selected for review. Based on the results of the selected articles, it was concluded that SHED's have significant regenerative efficacy. Further in vivo research is suggested to acquire more detailed data about its functioning in living organisms.

Keywords: Dental pulp. Regenerative Endodontics. Mesenchymal Stem Cell Transplantation.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVO GERAL E ESPECÍFICO	16
2.1	Objetivo Geral.....	16
2.2	Objetivo Específico.....	16
3	MATERIAS E MÉTODOS	17
3.1	Estratégia de busca.....	17
3.2	Universo.....	17
3.2.1	Seleção de artigos	17
3.3	Critérios de inclusão e exclusão.....	19
3.3.1	Critérios de inclusão	19
3.3.2	Critérios de exclusão	19
3.4	Extração e síntese dados.....	19
4	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	20
4.1	Reação do complexo dentino-pulpar.....	20
4.2	Endodontia Regenerativa.....	21
4.3	Células tronco.....	24
4.3.1	Células tronco da polpa dentária	29
4.3.2	Células tronco da polpa de dentes decíduos	31
4.3.3	Coleta e Armazenamento	35
4.3.4	Biossegurança	38
4.4	Protocolo sugerido.....	41
5	RESULTADOS	45
6	DISCUSSÃO	48
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	51
REFERENCIAS		

1. INTRODUÇÃO

Um dos grandes desafios da Odontologia Contemporânea é a restauração do tecido dental perdido, sem comprometer a vitalidade do dente, visando melhorar ou substituir funções biológicas e teciduais. A Endodontia Regenerativa é um campo da Engenharia Tecidual que propõe substituir fisiologicamente estruturas dentais danificadas, bem como o complexo dentina-pulpar, utilizando o próprio tecido vital do hospedeiro (IPTC, 2018).

Historicamente, o hidróxido de cálcio (Ca (OH)_2) foi o material de escolha para estes procedimentos por suas características bioestimuladoras e de biocompatibilidade (ABDELAZ *et al.*, 2019). Outro material aplicado na endodontia regenerativa é o agregado de trióxido mineral (MTA). Tanto o Ca (OH)_2 quanto o MTA são materiais que apresentam capacidade de induzir mineralização, formar barreira de tecido mineralizado e inibir crescimento bacteriano por sua alcalinidade (RESENDE, 2016). Por outro lado, tanto o Ca (OH)_2 como o MTA apresentam desvantagens. O Ca (OH)_2 induz a formação de barreira de tecido mineralizada de pouca qualidade, com descontinuidade e longo tempo de formação, além de exibir baixa resistência biomecânica, alta solubilidade em água e baixa capacidade adesiva podendo ocasionar microinfiltrações. O MTA apresenta como desvantagem longo tempo de presa, alta solubilidade, dificuldade de manipulação e alto custo (DE CASTRO, 2019).

Nesse contexto, as pesquisas tem sido voltadas para o uso das células-tronco, como alternativa de tratamento na formação de barreira mineralizada, revascularização, inervação, reparação e fortalecimento do tecido duro. O emprego das células troncos visa substituir o uso de materiais inertes, empregados nesses procedimentos supracitados (ROSA *et al.*, 2019). O sucesso desse procedimento regenerador do complexo dentino-pulpar depende da proliferação, diferenciação e migração de células-tronco da polpa dentária, sendo que os odontoblastos primários foram perdidos e devem ser substituídos por células odontoblasto-símile (SANZ *et al.*, 2020).

As células-tronco da polpa dental humana adulta (DPSCs) e dos dentes decíduos esfoliados humanos (SHEDs) são células autorrenováveis que residem no nicho perivascular da polpa dental. Que se originam da crista neural craniana e expressam marcadores precoces para células-tronco mesenquimais e neuroectodérmicas. Os dentes decíduos e os impactados,

naturalmente são eliminados e podem ser reutilizados na Engenharia Tecidual sem efeitos adversos à saúde (UEDA *et al*, 2020).

Semelhante as Células-Tronco Mesenquimais (MSCs) essas células são capazes de se diferenciar em osteoblastos, condrócitos, adipócitos, células endoteliais e neurônios funcionalmente ativos, *in vitro*, sob condições definidas (UEDA *et al*, 2020). Além disso, as células-tronco da polpa dentária demonstraram capacidade de autorrenovação e diferenciação multilinhagem em células semelhantes a odontoblastos e produzem uma matriz mineralizada em condições *in vivo* e *in vitro* (ABDELAZ *et al.*, 2019).

Apesar disso, ainda existe pouca divulgação e embasamento científico no meio acadêmico. Cerca de 83,9% dos cirurgiões-dentistas não possuem conhecimento científico ou treinamento em procedimentos regenerativos como a terapia com células-tronco. Contudo, 96,8% dos dentistas estão dispostos a receber treinamento para fornecer procedimentos endodônticos regenerativos para seus pacientes (ROSA *et al*, 2019).

O emprego das células-tronco de dentes decíduos é pouco conhecido pela população, apesar de existir uma lei (Lei 9.434/97 - Lei de Transplantes) que regulamenta a remoção de órgãos, tecidos e partes do corpo humano para fins de transplante e tratamento. Portanto, o dente decíduo sendo um órgão, pode ser doado através do consentimento por escrito do doador ou responsável (SILVA *et al.*, 2019).

2. OBJETIVO GERAL E ESPECÍFICO

2.1 Objetivo Geral

Investigar a eficácia do transplante de células-tronco de dentes decíduos esfoliados humanos na regeneração do complexo dentino-pulpar.

2.2 Objetivos Específicos

- ✓ Elaborar um delineamento para estudos clínicos e laboratoriais;
- ✓ Comparar o efeito regenerativo na endodontia do transplante de células tronco de dentes decíduos com biomateriais;
- ✓ Incentivar a população sobre a doação de órgãos, conscientizando-os de que os dentes decíduos são órgãos vitais que possuem células tronco e podem contribuir para o avanço da ciência.

3. MATERIAS E MÉTODOS

Foi realizada uma pesquisa exploratória qualitativa em bases de dados de saúde, a fim de elaborar uma revisão integrativa relacionada ao tema proposto. Foram seguidas as seguintes etapas para elaboração da revisão:

3.1 Estratégia de busca:

A pesquisa teve início com a identificação dos descritores no DeCs e MeSH Database. Os descritores selecionados foram: Polpa dentária, Endodontia Regenerativa e Transplante de Células-Tronco Mesenquimais e a estratégia de busca adotado está listada na tabela 1. Para a busca foram utilizadas as seguintes bases de dados: PUBMED, SCIELO, LILACS, selecionando artigos publicados no período de 2015 a 2020. Os artigos pagos tiveram acesso liberado no PORTAL CAPES.

Tabela 1: Combinação dos termos utilizados na estratégia de busca dos artigos nas bases de dados.

Banco de dados	Estratégia de busca
Pubmed	Endodontia Regenerativa and Polpa dentária; Transplante de células tronco mesenquimais and Polpa dentária.
Lilacs	Endodontia Regenerativa and Polpa dentária; Transplante de células tronco mesenquimais and Polpa dentária.
Scielo	Endodontia Regenerativa and Polpa dentária; Transplante de células tronco mesenquimais and Polpa dentária.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

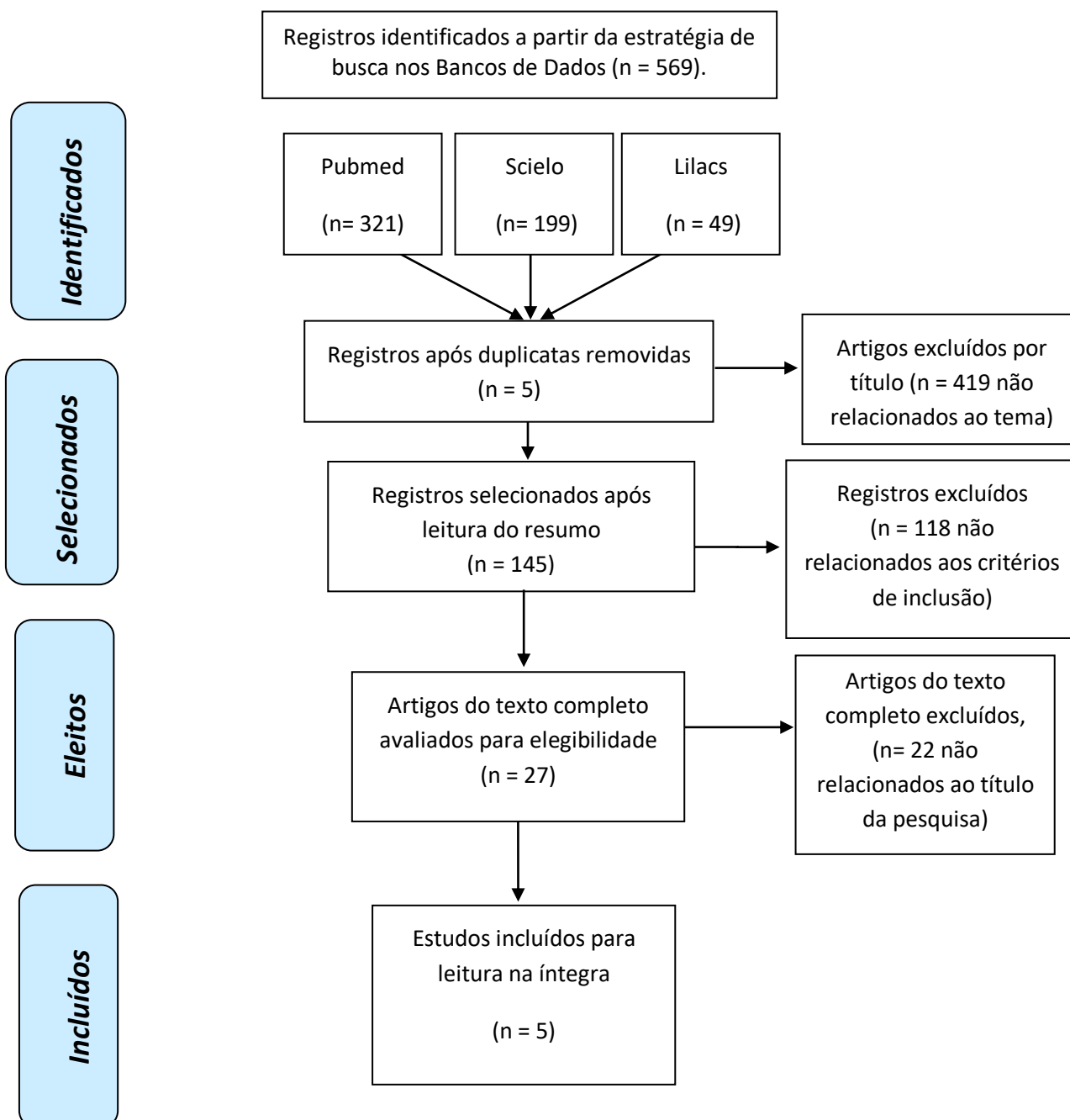
3.2 Universo

3.2.1 Seleção dos artigos

Inicialmente os artigos foram pré-selecionados com base no título e no resumo. Aqueles que não abordavam o enfoque dessa revisão, foram

excluídos. Os artigos que enquadravam nos critérios de inclusão foram selecionados e tiveram seus textos lidos na íntegra (figura 1).

Figura 1: Fluxograma de seleção dos artigos.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

3.3. Critérios de inclusão e exclusão

3.3.1 Critérios de inclusão

Os critérios de inclusão incluíam artigos publicados em inglês ou português; publicados nos últimos 5 anos; ensaios clínicos randomizados e estudos em *in vitro* ou *in vivo*.

3.3.2 Critérios de exclusão:

Foram excluídos artigos como as revisões de literatura; Artigos com mais de 5 anos publicados, artigos que não apresentavam metodologias de qualidade, amostra ou resultados inconclusivos e resumo publicados em anais.

3.4. Extração e Síntese dos dados:

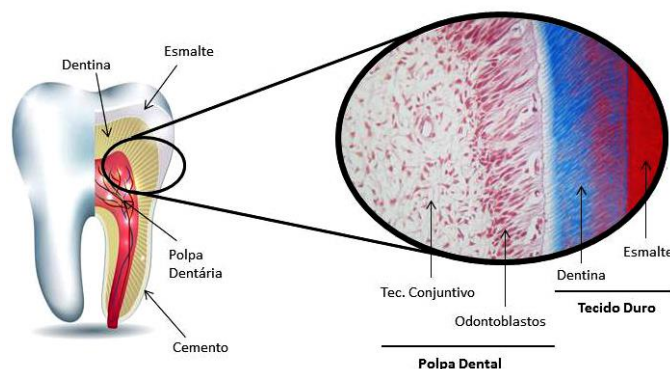
Após seleção dos artigos foi realizada uma nova leitura detalhada para coleta dos dados e análise das evidências. Uma ficha padronizada contendo os critérios de inclusão e exclusão foi usada para catalogar e organizar os dados, extraindo Informações como: título, ano/país/base, tipo de estudo/amostra, metodologia, resultados e referências. Por fim, foi realizada a redação dos resultados e considerações finais.

4. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

4.1 Reação do complexo dentino-pulpar

Dentina e polpa são duas fases de um mesmo tecido, respectivamente o conjuntivo mineralizado e o conjuntivo frouxo (figura 2). São semelhantes do ponto de vista embriológico, histológico e funcional. Considera-se, portanto, uma única entidade funcional denominada complexo dentino-pulpar, que possui reações de defesa específicas às agressões externas (LOPES *et al.*, 2015). Assim qualquer estímulo que afete a dentina dará origem a uma reação de defesa no órgão dentino-pulpar (SABETI *et al.*, 2021).

Figura 2: Componentes Dentários.



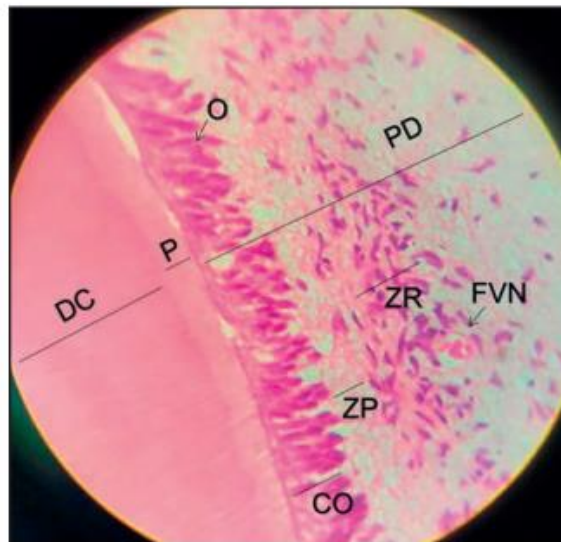
Fonte: Google imagens.

A polpa contém uma variedade de células. Dentre elas, estão fibroblastos, nervos, vasos, células perivasculares, inflamatórias e do sistema imune. Este tecido fica localizado no interior da dentina e do esmalte, e contém uma população de células tronco mesenquimais que podem recuperar a dentina e a polpa quando danificadas com a formação de dentina reparadora (SIQUEIRA *et al.*, 2015).

A polpa dentária é proveniente de componentes ectodérmicos e mesenquimais (LEDESMA-MARTÍNEZ *et al.*, 2016), sendo dividida em quatro camadas (figura 3): a primeira, a mais externa, é composta por odontoblastos que produzem dentina; a segunda é pobre em células, porém é rica em matriz extracelular; a terceira é onde há presença de células progenitoras ou células-tronco com plasticidade e pluripotência e a quarta é a camada mais interna da

polpa dentária, onde está localizada a área vascular e o plexo nervoso. (TAUMATURGO *et al.*, 2016).

Figura 3: Localização das células-tronco na polpa dentária. (DC: Dentina Coronária, P: Predentina, PD: Polpa Dentária, CO: Camada de Odontoblastos, ZP: Zona Pobre em células, ZR: Zona Rica em Células-tronco Indiferenciadas, FVN: Feixe vasculo nervoso).



Fonte: LAGES *et al.*, 2011.

De acordo com Cohenca *et al.*, (2013) o sucesso da dentinogênese reparativa ocorre com a restauração da integridade morfofuncional do complexo dentina-polpa após uma agressão, com a rápida formação de tecido dentinário preservando a vitalidade do elemento Para isso, a proteção do complexo dentina-polpa é realizada pela aplicação de uma ou mais camadas de material específico entre o material restaurador e o tecido dentário para proteger a polpa do contato com os materiais restauradores e penetração de bactérias (DE ARAÚJO *et al.*, 2020).

4.2 Endodontia Regenerativa

A Endodontia regenerativa é definida como procedimentos de base biológica projetados para substituir fisiologicamente estruturas dentais danificadas, incluindo estruturas radiculares, bem como o complexo dentino-pulpar por um tecido vital, funcional e capacitado para formação de uma nova dentina (DIOGENES *et al.*, 2017).

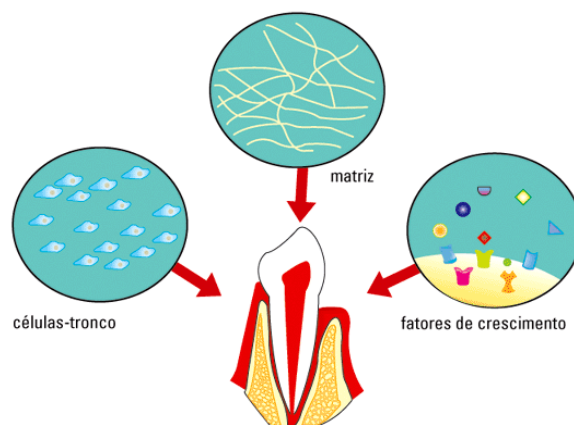
A diferença entre a terapia endodôntica regenerativa e a endodontia tradicional é que na endodontia regenerativa o tecido danificado é substituído por tecido vital, mantendo a vitalidade e funcionalidade da polpa, hidratação e elasticidade do dente. Na endodontia tradicional, a polpa é substituída por materiais inertes biotoleráveis deixando como sequela um dente não vital e enfraquecido (DIOGENES *et al.*, 2017). O tecido regenerado na endodontia regenerativa deve ser vascularizado, innervado e possuir a capacidade de gerar novos odontoblastos que podem produzir nova dentina (SMITH *et al.*, 2016).

A fonte de tecido pulpar na endodontia regenerativa pode ser da revascularização do canal radicular, terapia com células-tronco e implantação pulpar (HARGREAVES *et al.*, 2017).

A endodontia regenerativa, também é considerado um ramo da engenharia tecidual, que demonstrou resultados promissores utilizando células-tronco associadas à arcabouço e fatores de crescimento que ofereçam um ambiente favorável para seu crescimento e diferenciação. Os biomateriais utilizados nessa técnica utiliza tecidos vitais que apresentam maior êxito na prática clínica para a reconstrução de dentes lesados, além de devolver a função e vitalidade da polpa (DUCRET *et al.*, 2017).

Dessa forma, para que a regeneração tecidual ocorra é necessário a presença da tríade de engenharia de tecidos, como a presença de células-tronco, fatores de crescimento e uma matriz de crescimento (FOUAD *et al.*, 2014) (figura 4). A criação deste microambiente favorável à proliferação e diferenciação das células tronco inicia-se com a limpeza e desinfecção dos canais radiculares (MARQUES *et al.*, 2018).

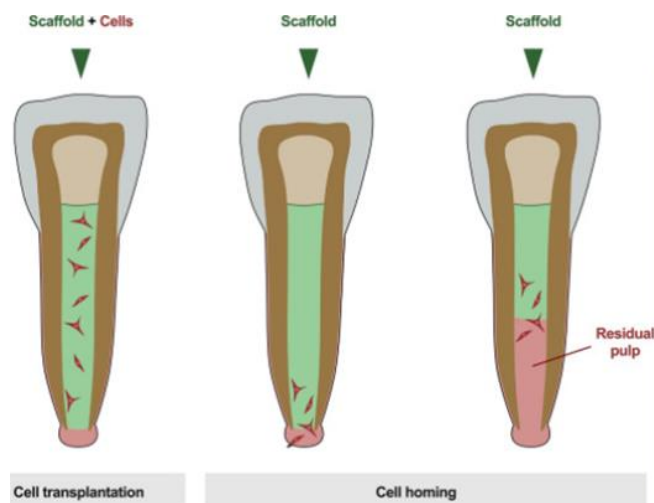
Figura 4: Tríade de engenharia de tecidos.



Fonte: BARBOSA *et al.*, 2019.

A matriz é essencial na endodontia regenerativa, pois fornece o arcabouço para o transporte de nutrientes, oxigênio e resíduos metabólicos. Devendo ser biocompatível, não irritante e resistente. Essa pode ser composta por materiais sintéticos ou naturais. Seus componentes ativam a morfogênese das células implantadas, enquanto é gradualmente degradada e substituída pelo tecido regenerado. Para isso, pode ser usado um sistema de matriz (figura 5) com a configuração tri-dimensional, como o colágeno tipo I, o coágulo sanguíneo ou o PRP (Plasma Rico em Plaquetas) para o cultivo de células-tronco *in vitro*, visando sua diferenciação em odontoblastos (CUPPINI *et al.*, 2015).

Figura 5: Matriz substituída por tecido regenerado.



Fonte: WIDBLER *et al.*, 2020.

O Plasma Rico em Plaquetas (PRP) tem sido muito estudado na Odontologia. O PRP é uma concentração autóloga de plaquetas em um pequeno volume de plaquetas, além de proteínas osteocondutoras, que também servem de matriz para regeneração tecidual. As plaquetas liberam FC que estimulam a angiogênese, proliferação de fibroblastos e síntese de colágeno. Os FC liberados pelas plaquetas são fortes indutores mitogênicos *in vitro*. É uma fonte segura, livre de transmissão de doenças, ou reações antigênicas para expansão de células-tronco *in vitro* de plasma, com presença de fatores de crescimento (FC) liberados por essas (SUCHÁNEK *et al.*, 2018).

Os fatores de crescimento são proteínas secretadas extracelularmente que regulam a morfogênese das células. Dentre os fatores de crescimento

existentes, as proteínas morfogenéticas ósseas que regulam a formação de dentina terciária. Estas células ósseas chamadas BMPs são também encontradas no epitélio estrelado do órgão do esmalte durante a fase de capuz e estão associadas com a diferenciação dos ameloblastos e odontoblastos (TAUMATURGO *et al.*, 2016).

As proteínas morfogênicas do osso (BMP's) pertencem à família do fator de crescimento transformante beta (TGF β) que regulam o desenvolvimento de ossos e cartilagens. Recentemente, foi identificado o papel das BMPs na regeneração de dentes e dentina. Eles estão envolvidos na regulação dos marcadores moleculares (ALP, DSPP, proteína da matriz dentinária 1 e Nestina) em odontoblastos e na polpa dentária humana, estimulando a iniciação e diferenciação dos odontoblastos e induzindo a formação do complexo dentina-polpa pela formação de dentina reparativa tubular (ORTI *et al.*, 2018).

Futuras endodontias regenerativas podem envolver a limpeza, desinfecção e modelagem dos canais radiculares, seguida pela implantação de estruturas vitais de tecido pulpar dental cultivadas em laboratório. O sucesso da terapia endodôntica regenerativa depende da capacidade dos cientistas de criar um tecido pulpar funcional em sistemas de canais radiculares limpos e em forma (GUGLIELMI *et al.*, 2019).

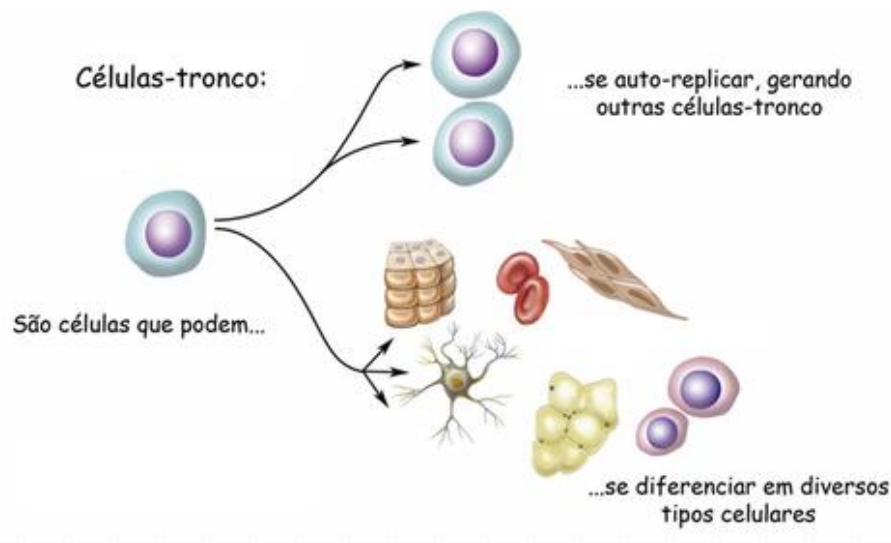
4.4 Células tronco

As células-tronco são células indiferenciadas capazes de se diferenciar em diversos tipos celular e se multiplicar de acordo com a necessidade do organismo. Em um ambiente favorável, essas células podem ser utilizadas como fonte na terapia celular, que é usada para substituir as células danificadas, restaurando assim as funções do organismo (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2017).

As células tronco possuem grande plasticidade, ou seja, se transferidas para outros locais, podem se diferenciar em células do novo órgão, não comprometendo a diferenciação própria do órgão onde estão localizadas. Pode-se admitir, portanto, que o seu fenótipo é condicionado pelo ambiente onde ela se encontra (BOGLIOLO *et al.*, 2016).

Os estudos sobre células-tronco são importantes para a compreensão do funcionamento do organismo como um todo. Em geral, o tratamento consiste na substituição de células doentes por células-tronco que irão se multiplicar e diferenciar em células específicas daquele tecido renovando-o (IPCT, 2018). Uma célula-tronco pode se diferenciar em um neurônio, uma hemácia ou até mesmo uma célula muscular (figura 6).

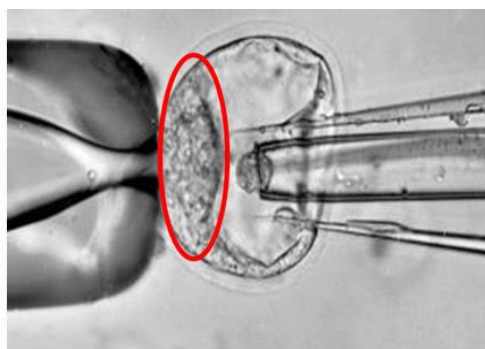
Figura 6: Potencial das Células-tronco.



Fonte: NASCIMENTO *et al*, 2019.

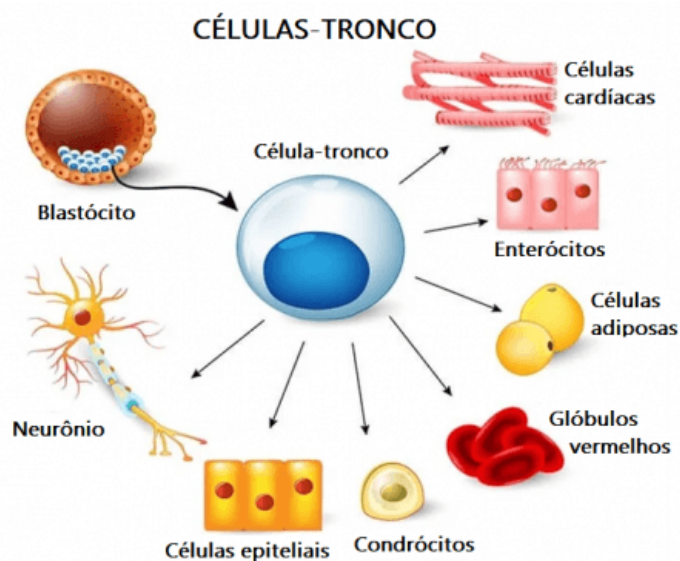
As células-tronco são divididas em dois grandes grupos de acordo com os cientistas: as células-tronco embrionárias e as células-tronco adultas. As células-tronco embrionárias são aquelas encontradas no embrião cinco dias após a fecundação, no estágio de blastocisto (figura 7 e 8). Essas células não se diferenciaram ainda, portanto são pluripotentes que têm a capacidade de diferenciar em qualquer tipo de célula adulta (IPTC,2018).

Figura 7: Células tronco embrionárias extraídas do blastocisto.



Fonte: IPTC,2018.

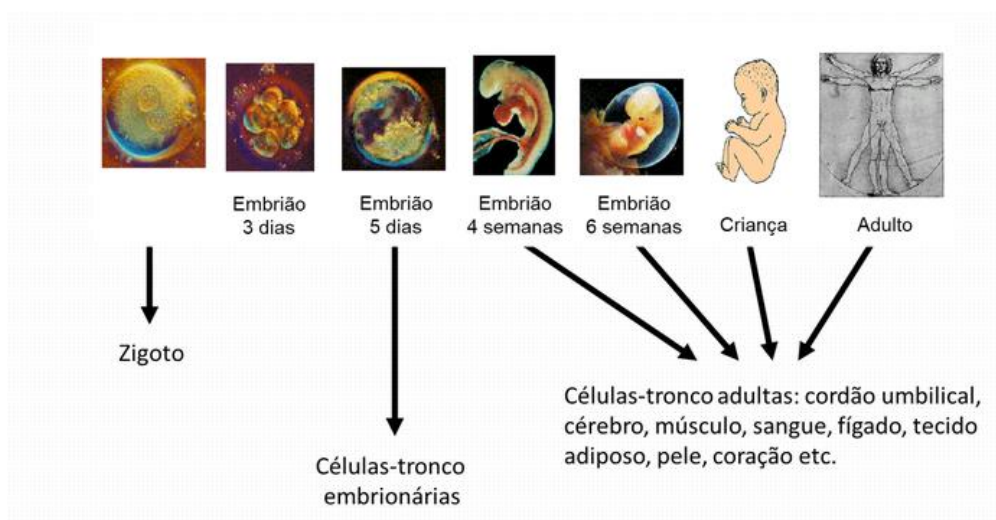
Figura 8: Potencial Pruripotente das células-troco embrionárias.



Fonte: IPTC, 2018.

Já as células-tronco adultas (figura 9) são denominadas de multipotentes, pois, diferentemente das células-tronco embrionárias, elas são capazes de se diferenciar apenas nas células do seu tecido de origem (Mesoderme, Ectoderme, Endoderme) e de se autorrenovarem. É na medula óssea, no sangue do cordão umbilical e na polpa do dente que elas estão mais presentes (CCB, 2021).

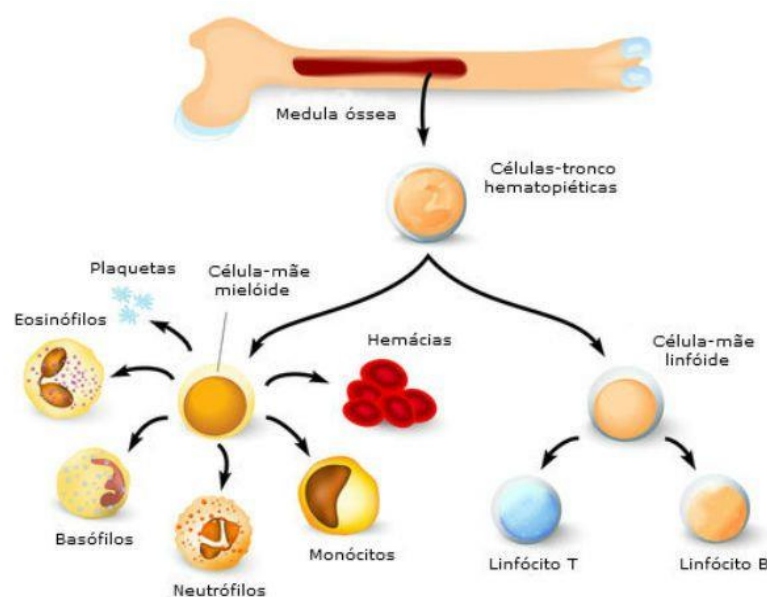
Figura 9: Origem das células tronco adultas.



Fonte: IPTC,2018.

Dentre as células-tronco adultas, existem as Hematopoiéticas (figura 10) que são progenitoras da linhagem mieloide e linfóide do organismo, estão presentes no sangue proveniente do cordão umbilical e na medula óssea. As células tronco Mesenquimais são células multipotentes e têm capacidade de diferenciação em tecidos mesenquimais: osteócitos, condroblastos, adipócito, neural e muscular, são originadas na derme, fígado e polpa dental (DE LARA JANZ, 2018).

Figura 10: Linhagem Hematopoiética das células-tronco adultas.



Fonte: Google imagens.

Atualmente, as Células-Tronco Hematopoiéticas são utilizadas para recuperar o sistema hematopoiético (células sanguíneas como as hemácias, os granulócitos, os linfócitos, os monócitos e os megacariócitos que dão origem as plaquetas) de pacientes submetidos à quimioterapia e/ou à radioterapia e doenças. Nessas situações, a infusão das Células-Tronco é vital, uma vez que a quimioterapia e/ou a radioterapia também danificam as Células-Tronco do paciente. Além de serem utilizadas para tratamento de anemias, talassemias, linfomas (CCB, 2021).

Segundo Dominici *et al*, (2006) as células-tronco mesenquimais (MSC) possuem a capacidade de gerar diferentes tecidos: ossos, tendão, cartilagem,

tecido adiposo e muscular, suporte medular e células neurais. Apresentam como fatores positivos o fato de serem autogênicas, serem pouco imunogênicas, ser de fácil acesso não envolvendo as questões éticas, respondendo aos fatores de crescimento inerentes ao hospedeiro, possuir capacidade de proliferação e diferenciação e aderir aos tecidos de hospedeiro. Como fatores negativos, são encontradas em menor quantidade nos tecidos necessitando de isolamento e cultivo *in vitro* (RIBEIRO *et al.*, 2020).

Quanto a sua origem, as células tronco geralmente são categorizadas em: Células tronco autólogas - são obtidas do mesmo indivíduo em quem serão implantadas. Células tronco alogênicas - originárias de um doador da mesma espécie. Células xenogênicas - são aquelas isoladas de indivíduos de outra espécie (REDOME, 2021).

No Brasil, as pesquisas sobre células-tronco tiveram início em 2001 pelo Ministério da Ciência e Tecnologia. Vários órgãos brasileiros como o Instituto Nacional do Câncer, de Traumatologia e outros colaboram para o que chamam de medicina regenerativa. Em 2005, na (Lei de Biossegurança 11.105/05), foi autorizada o uso de embriões humanos para pesquisas. Em 2008 o Supremo Tribunal Federal restringiu as pesquisas para o uso somente de embriões congelados há três anos e que sejam inviáveis, após consentimento dos genitores, sendo vedada a comercialização desse material o que constitui crime e a utilização em pesquisas deveram ser submetidas a comitês de ética. (NASCIMENTO *et al.*, 2019).

Sabe-se que as células embrionárias são as únicas que têm o potencial de gerar todos os tecidos do corpo humano, no entanto existe empasses éticos e religiosos na sua utilização, pois alega-se que após a concepção já existe vida, e esse tipo de pesquisa destruiria o embrião, tornando a utilização de células-tronco embrionárias inaceitável pela religião. No entanto, algumas alternativas podem ser utilizadas para evitar esse dilema ético, como o uso de células-tronco adultas multipotentes que podem ser obtidas sem causar prejuízos ao organismo, sendo encontradas no sangue, na medula óssea, tecido adiposo, na polpa dental (SAIS *et al.*, 2018).

De acordo com D' Aquino *et al.*, (2008) as células-tronco adultas oferecem a grande vantagem de serem autógenas, não incorrendo em limitações morais e éticas, além de serem responsivas aos fatores de

crescimento inerentes ao hospedeiro, fácil local de coleta e interatividade com biomateriais (DE ARAÚJO *et al.*, 2020).

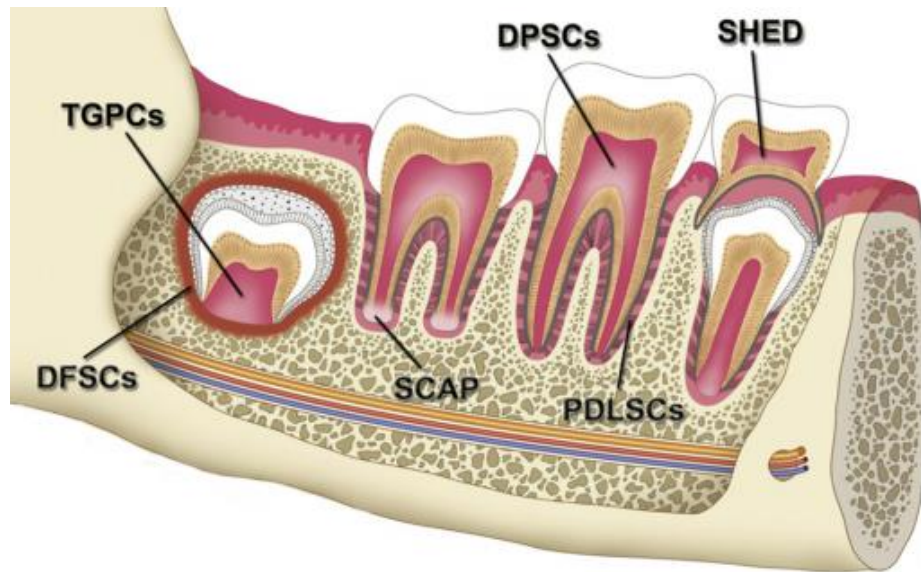
4.4.1 Células tronco da polpa dentária

Pesquisas na área Odontológica revelaram a presença de células-tronco em polpas dentárias. Essas células são do tipo mesenquimal, mas, quando comparadas com as células da medula óssea, têm a vantagem de serem mais jovens e possuir maior potencial proliferativo e de diferenciação, além de fácil coleta. Elas podem se transformar em células dos músculos, do tecido nervoso, do tecido adiposo, dos ossos, da pele, do tecido cardíaco e da cartilagem. Além disso, elas têm as propriedades de estimular a regeneração dos tecidos e regular a resposta do sistema imune (BARBOSA, 2019; SILVA *et al.*, 2019; DE ARAÚJO *et al.*, 2020).

De acordo com Cordeiro *et al.*, (2008), as células-tronco da polpa dental são células multipotentes que apresentam duas propriedades funcionais principais: a autorrenovação e a capacidade de diferenciação mantendo a celularidade do tecido. Segundo Shith *et al.*, (2007) estas células têm capacidade de diferenciação em células odontoblasto-símile que conseqüentemente promovem o reparo do tecido dental, quando necessário (UEDA *et al.*, 2020).

Os tipos de células-tronco de origem odontogênica dividem-se em: células-tronco da polpa dental (DPSCs – Dental Pulp Stem Cells), células-tronco do germe dos terceiros molares (TGPCs – Tooth Germ Progenitor Cells), células-tronco da polpa dental de dentes decíduos exfoliados (SHED – Stem Cells From Human Exfoliated Deciduous Teeth), células-tronco do ligamento periodontal (PDLSCs – Periodontal Ligament Stem Cells), células-tronco do folículo dentário (DFSCs – Dental Follicle Stem Cells) e células-tronco da papila apical (SCAPs – Stem Cells from Apical Papilla), conforme demonstrado na figura 11 (CUPPINI, 2015).

Figura 11: Classificação das células-tronco de origem odontogênica.



Fonte: CUPPINI, 2015.

Segundo França *et al*, 2011, dentre as aplicações das células-tronco dentais podemos citar: Restauração da perda parcial de tecido dental ou de suporte, na repopulação da polpa, aumento da espessura da tábua óssea alveolar, no tratamento de doenças periodontais entre outros; Reconstrução total do dente em laboratório para que este seja posteriormente transplantado na boca do paciente; Formação de tecidos não dentais, à exemplo na regeneração de neurônios e células cardíacas (NASCIMENTO, 2019).

Gronthos e colaboradores (2000) realizaram as primeiras pesquisas descrevendo a existência de células-tronco na estrutura dental humana. Através de um estudo, extraíram células-tronco de terceiros molares retidos, notaram que essas células apresentavam maior potencial de proliferação e replicação quando comparadas com as células encontradas na medula óssea, e verificaram seu potencial de diferenciação osteogênica, neurogênica adipogênica e condrogênica. Ademais, foi constatado que as células-tronco da polpa dentária expressam marcadores de precursores neurais e células gliais. (DE ARAÚJO *et al.*, 2020).

Em 2003, Miura e colaboradores descobriram que a polpa de dentes decíduos humanos esfoliados, (coletadas de crianças de 7 e 8 anos) são uma rica fonte de CTM semelhantes às encontradas no cordão umbilical. Através do isolamento dessas células foi possível verificar seu maior potencial de proliferação e replicação quando comparadas às células-tronco presentes em dentes permanentes e na medula óssea, podendo reparar estruturas dentárias

danificadas e induzir regeneração óssea. Portanto, é evidente a importância de a Odontologia poder contribuir com a cultura de células-tronco (UEDA *et al*, 2020).

SHI e colaboradores em 2005 isolaram células-tronco da polpa de dente humano (terceiro molar) e compararam com as células-tronco de medula óssea. As células-tronco de origem dentária apresentaram heterogeneidade, multipotencialidade, capacidade de proliferação e de formação de colônias *in vitro* (BARBOSA, 2019).

Segundo Murray *et al*, 2007 e Tamaoki *et al*, 2010, as células tronco da polpa dentária (DPSCs) são capazes de se diferenciar em células odontoblásticas quando induzidas por moléculas sinalizadoras. Desta forma, esse tipo celular assume um importante papel na endodontia regenerativa. Essas células podem ser obtidas a partir de terceiros molares (DPSCs) ou por meio de dentes decíduos esfoliados (SHED). Pesquisas recentes indicam que a formação de um novo tecido pulpar com o uso destas células-tronco é viável (GANCHEVA *et al.*, 2019).

BAKSH *et al*, (2004) isolou células da polpa de dente humano (terceiro molar) em meio de cultura e foi observada a capacidade dessas células formarem depósitos cálcicos *in vitro*. Após transplante em ratos imunocomprometidos, as células-tronco pulpares exibiram habilidade de formar uma estrutura semelhante ao complexo dentino-polpa, composto de uma matriz de colágeno tipo I altamente organizada, perpendicular à camada tipo odontoblástica, e tecido fibroso contendo vasos sanguíneos, semelhante à polpa encontrada em dentes humanos (TAUMATURGO *et al.*, 2016).

Segundo D`Aquino *et al*, (2008) o uso das células-tronco de origem dental na engenharia tecidual é uma técnica promissora para reconstrução de tecidos, por ser um tecido naturalmente descartado, ser de fácil coleta quando comparado com fontes como a medula óssea, não serem órgãos vitais. Além de possuir ampla capacidade de diferenciação e interatividade com biomateriais (GANCHEVA *et al.*, 2019).

4.3.1 Células tronco da polpa de dentes decíduos

A dentição decídua é composta pelos dentes incisivos, caninos e molares. Além das funções de mastigação, fonação e estética, os decíduos

também têm função de guia para erupção dos permanentes e são mantenedores de espaço para os dentes permanentes. Quanto a morfologia possuem diferenças dos dentes permanentes, pois esses são menos mineralizados, possuem dureza inferior aos permanentes, suas raízes são maiores que a coroa, a camada de dentina e esmalte é mais fina e a câmara pulpar e polpa mais volumosas e cornos pulpares acentuados (ABOPED, 2020).

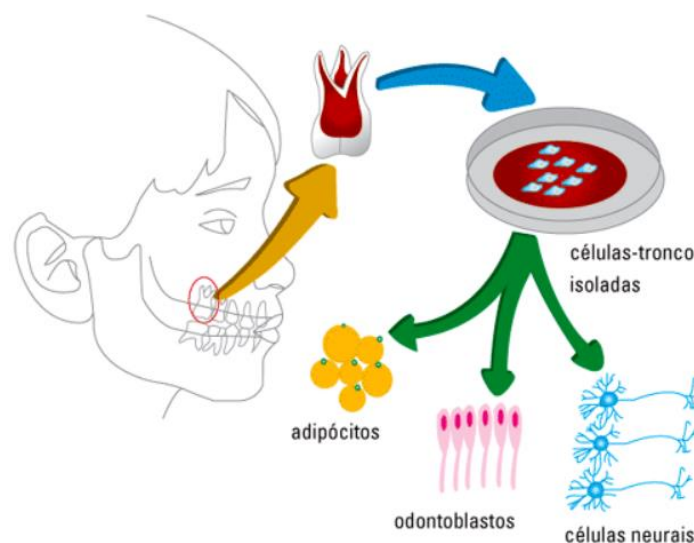
Os dentes decíduos de um ser humano surgem no segundo trimestre de vida intrauterina e leva em torno de três anos para estar completa, portanto, são células jovens. Esses dentes só estão disponíveis em boca no período de 6 meses a 12 anos da criança (BALIC, 2018). Portanto, é indicado aos responsáveis pela criança que seja feita a coleta do tecido pulpar no período da esfoliação correspondente até aproximadamente um terço de raiz remanescente para evitar a perda precoce mas também preservar a estrutura dental. Devendo ser cultivadas e criopreservadas em nitrogênio líquido (AGUIAR, 2018).

O melhor momento para se obter células-tronco da polpa dentária é na infância, período da dentição decídua (dentes de leite), que são esfoliados e descartados naturalmente. Além disso, nessa época as células se mostram mais fortes, saudáveis e proliferativas (SILVA *et al.*, 2019). Os dentes decíduos são consideravelmente diferentes dos dentes permanentes quanto aos seus processos de desenvolvimento, morfologia e função. Logo, as células-tronco da polpa dos dentes decíduos são diferentes das células-tronco da polpa dos dentes permanentes com relação à taxa de proliferação, aumento da duplicação celular, habilidade para osteoindução *in vivo*, entre outras características (AGUIAR, 2018).

Segundo Nakamura *et al.*, (2009) Quando comparadas às células-tronco isoladas da polpa dos dentes permanentes, as SHEDs (Células-tronco da polpa dental dentes decíduos esfoliados) exibiram uma maior taxa de proliferação e um maior número de divisões celulares, o que poderia facilitar sua expansão *in vitro*, bem como maior formação de colônias, capacidade osteoindutiva *in vivo* e formação de diferentes tecidos do complexo dentina-pulpar. Além disso, de acordo com Lessa *et al.*, (2013) apresentam uma expressão significativamente maior de fatores de crescimento quando comparada às células-tronco dos dentes permanentes (UEDA *et al.*, 2020).

Conforme Miura *et al.* (2003) as SHEDs, expressam marcadores de células-tronco mesenquimais e neuroectodérmicas. Como as células tronco mesenquimais da medula óssea (BMSCs), as SHEDs podem se diferenciar em várias células (figura 12), como condrócitos, adipócitos, células endoteliais e neurônios funcional e estruturalmente ativos *in vitro* (UEDA *et al.*, 2020)

Figura 12: Potencial proliferativo da células-tronco de dentes decíduos em odontoblastos maduros, adipócitos, células neurais.



Fonte: NASCIMENTO *et al.*, 2019.

Essas células são altamente proliferativas, possuem alta plasticidade, ou seja, são capazes de se diferenciar em uma grande variedade de tipos celulares (células neurais, adipócitos e odontoblastos) (CUPPINI *et al.*, 2015). No estudo de Govindasamy *et al.*, (2010), foi relatado que as SHEDs mostraram maior expressão de marcadores pluripotentes, como Oct-4, Nanog e Sox-2 do que DPSCs, indicando que SHEDs apresentam maior taxa de proliferação e estado mais imaturo que DPSCs. Além disso, estudos anteriores comprovaram seu potencial de diferenciação osteogênica e odontogênica e formar complexos dentina-polpa *in vitro* e *in vivo* (YOSHIDA *et al.*, 2020). Concomitante a isso, SHED mostrou potência em aderir às paredes de dentina e proliferar dentro dos canais radiculares de comprimento total (SOUDI *et al.*, 2021).

SHEDs mostraram efeitos imunomoduladores quando transplantadas, inibindo a proliferação e diferenciação de células imunes e regulando a expressão de fatores pró e antiinflamatórios por meio de contato célula-célula.

Portanto, a imunogenicidade não significativa, permite seu uso em transplantes alogênicos sem a necessidade de imunossupressores, conferem importante utilidade clínica, incluindo a criação de bancos de células (GAO *et al.*, 2018).

De acordo com Bansal *et al.*, (2011) os melhores candidatos as SHED são caninos e incisivos moderadamente reabsorvidos com a presença de polpa saudável, já os molares decíduos não são tão indicados devido sua rápida obliteração da câmara pulpar. Outras fontes de células-tronco facilmente acessíveis são dentes supranumerários, mesiodentes, dentes decíduos com retenção excessiva associados a dentes permanentes ausentes congenitamente e molares decíduos removidos profilaticamente para indicações ortodônticas. As SHEDs também mostram maior capacidade de proliferação, suprimento abundante de células e coleta de células-tronco indolores com invasão mínima; portanto, podem ser uma opção desejável como fonte de células para endodontia regenerativa (SHI *et al.*, 2020).

Souza *et al.*, (2008) comparou o perfil morfológico e proliferativo de células-tronco pulpaes de dentes permanentes e decíduos. Os tecidos pulpaes foram removidos e cultivados, utilizando os métodos de isolamento por digestão enzimática com solução de 3mg/ml de colagenase tipo I e 4mg/ml de dipase e cultura direta do tecido pulpar. Os resultados obtidos indicaram maior potencial proliferativo *in vitro* de células-tronco pulpaes de dentes decíduos. (LI *et al.*, 2020) também comprovaram maior capacidade de diferenciação odontogênica das SHEDs em relação as DPSCs. Além disso, as SHEDs apresentam capacidade de diferenciação neuronal mais forte do que as DPSCs e células-tronco da medula óssea (BMSCs) (ZENG *et al.*, 2020).

Nesse sentido, a obtenção dessas células é um processo simples e indolor com pouco ou nenhum trauma. A esfoliação dos dentes decíduos é um processo natural que não provoca nenhum dano a criança, portanto essa é a uma ótima oportunidade para recuperar e armazenar células-tronco que poderão ser utilizadas futuramente para tratamento de doença e lesões. Portanto existem poucas implicações éticas com relação ao seu uso clínico. Além disso, o seu uso autógeno reduz o risco de reações imunológicas ou rejeição de transplantes e também elimina a possibilidade de contrair doenças de outro doador (SILVA *et al.*, 2019).

Outra grande vantagem no uso dessas células é a sua forte sobrevivência celular e seu potencial de diferenciação específica. No estudo de Sakai *et al.*, (2011), SHEDs enxertados apresentaram atividades neuroregenerativas notáveis, e não mostraram transformação maligna em oito semanas após o implante. Além disso, os SHEDs expressavam genes de proliferação celular em sua superfície em níveis duas vezes maior as MSCs. Esses dados indicam que as células-tronco derivadas de dentes pertencem a uma população de células-tronco ectomesenquimatosas altamente proliferativa que se comunica ativamente com as células vizinhas (GARCIA *et al.*, 2017).

Conforme Hau *et al.*, 2006, o uso dessas células tem sido estudado no tratamento de muitas doenças, como anomalias congênitas, diabetes, mal de Parkinson, Alzheimer entre outras doenças degenerativas, como também para problemas odontológicos como exposições pulpares, defeitos periodontais e perda do órgão dentário (XIAO *et al.*, 2021). Uma outra vantagem das células-tronco de dentes decíduos é que essas podem se multiplicar utilizando o método de multiplicação *in vitro*, ou seja, em tubos de ensaio diferentemente das células-tronco do cordão umbilical. Em relação a aplicabilidade clínica, as células-tronco de dentes decíduos possuem uma ampla aplicabilidade, enquanto as do cordão umbilical tem uma aplicabilidade restrita. Por último, quanto a versatilidade, as células de dentes decíduos transformam-se em vários tipos de células, enquanto as do cordão umbilical se transformam apenas em células da mesma linguagem sanguínea (IPCT, 2018).

4.3.3 Coleta e Armazenamento

Muitos pais por algum motivo perderam a oportunidade de coletar as células-tronco do cordão umbilical durante o nascimento dos seus filhos, porém podem ainda ter uma chance de coletar células-tronco da polpa de um de seus vários dentes decíduos (CCB, 2021). É possível que a coleta dessas células seja feita de forma não invasiva, uma vez que se trata de um material biológico descartável e não vital, e seu armazenamento pode ser realizado através de técnicas de criogenia (GARCIA *et al.*, 2017).

Visando não provocar traumas e ansiedade na criança durante a extração e coleta desse dente, deve-se seguir protocolos propostos pela psicologia infantil como: boa relação profissional-paciente, técnicas de

distração, reforço positivo, evitar situações de dor, a presença e incentivo dos pais também geram maior confiança, demonstrar de forma didática os procedimentos que serão realizados (JUNIOR, 2002)

A troca de dentição decídua para a dentição permanente ocorre na faixa etária dos 6 aos 12 anos. É neste momento que os pais devem tomar a decisão de armazenar ou não as células-tronco contidas nessas polpas. Primeiro coleta-se a polpa do dente quando este já apresentar um certo grau de reabsorção para que não haja prejuízo da dentição permanente. O dente decíduo deve ser extraído por um cirurgião-dentista cadastrado em bancos de células, e com consentimento livre e esclarecido assinado pelos responsáveis (CCB, 2021). A extração profissional encurta o tempo em que o dente fica fora das condições fisiológicas, provavelmente para preservar o tecido pulpar. Para realizar o procedimento de coleta é necessária uma atenção rigorosa quanto à assepsia extra e intrabucal em decorrência da grande quantidade de microorganismos neste meio (AGUIAR, 2018).

Os dentes selecionados devem estar em um estágio avançado de reabsorção radicular apresentando até um terço de raiz remanescente, mas com epitélio juncional intacto para evitar a contaminação prévia do tecido pulpar (AGUIAR, 2018). Incisivos e caninos sem patologia com pelo menos um terço da raiz podem ser usados para banco de SHED. Raízes de molares primários não são recomendadas, pois levam mais tempo para serem reabsorvidas, o que pode resultar em uma câmara pulpar obliterada que não contém polpa e, portanto, sem células-tronco. No entanto, em alguns casos em que molares decíduos são removidos precocemente por motivos ortodônticos, pode ser uma oportunidade de usar esses dentes para bancos de células-tronco (BANSAL *et al*, 2015).

Além do acompanhamento pré-operatório em que se lançará mão de testes sorológicos, anamnese e história médica do paciente, é necessário que os dentes decíduos que serão doados sejam acompanhados clinicamente e radiograficamente durante seu desenvolvimento, devendo observar critérios como ausência de lesões cariosas extensas nos dentes selecionados, controle da cadeia asséptica durante todo o procedimento cirúrgico, e evitar que a polpa dos dentes tenha contato com os fluidos orais. Dessa forma, cabe ao cirurgião-

dentista acompanhar e orientar sobre a manutenção da saúde bucal do futuro doador (AGUIAR, 2018).

Conforme a Resolução nº 9 de 2011 da ANVISA, é necessário que sejam fornecidos os seguintes dados durante a coleta: nome do doador/paciente, nome do responsável pela coleta, data e hora da coleta, temperatura de armazenamento durante o transporte, resultados de exames sorológicos, termo de consentimento livre e esclarecido assinado pelo responsável (ANVISA, 2020).

Os responsáveis por armazenar as células-tronco são os Bancos de células regulamentados pela RDC/Anvisa 23/2011. O Centro de Criogenia Brasil (CCB) foi fundado em 2003, é uma empresa especializada em coleta e armazenamento de células-tronco extraídas do sangue do cordão umbilical e da polpa de dentes decíduos. A CCB juntamente com os centros de pesquisas do Brasil investe maciçamente nas pesquisas para se obter células-tronco mesenquimais puras (CCB, 2021).

A coleta do material pode ser feita tanto por um banco público ou privado. Nos bancos públicos, as doações de material são voluntárias e os procedimentos são de responsabilidade do Sistema Único de Saúde (SUS). As células doadas serão utilizadas por qualquer paciente que apresentar as mesmas características sanguíneas. Nos bancos privados, o material fica à disposição do próprio paciente. No Brasil a coleta custa em média 3 mil reais e o paciente deverá pagar uma anuidade que varia de 500 a 700 reais (IPCT, 2018).

Depois que um dente é extraído ou esfoliado, o armazenamento para transporte tem o maior impacto na polpa viva e, portanto, na sobrevivência das células-tronco. Uma série de estudos avaliaram diferentes meios para a preservação bem-sucedida de dentes vivos. Os serviços de banco de dentes descrevem como meio de transporte ideal a solução salina tamponada com fosfato (PBS) por fornecer nutrientes ao dente. Esse deve ser selado e armazenado em uma frascadeira térmica e colocado em um recipiente de metal isolado onde será transportado. A frascadeira térmica e o recipiente de metal mantem a amostra num estado hipotérmico durante o transporte. O tempo entre coleta e chegada do material ao laboratório para armazenamento não deve exceder 40 horas (ZEITLIN, 2020).

A extirpação da polpa deve ser realizada com limas manuais, tendo em vista que, as células-tronco das polpas dentárias extirpadas por instrumentação rotatória demonstraram insucesso devido ao aumento na temperatura, observando-se áreas de necrose por traumatismo ou temperatura, diferente do processo realizado por instrumentação manual (WEISS, 2016). Após a coleta a polpa será processada para o isolamento de células tronco mesenquimais. Essas células serão conservadas por tempo indeterminado sem nenhum prejuízo a sua qualidade. O armazenamento é feito pela técnica de criopreservação em nitrogênio líquido a uma temperatura de - 196 graus, que garante um armazenamento por mais de 50 anos (CCB, 2021).

(GINANI *et al.*, 2016) realizaram um estudo no qual analisaram o efeito da criopreservação a longo prazo de células-tronco de dentes decíduos esfoliados humanos e de seus derivados odontoblásticos. Essa é uma importante constatação para averiguar o potencial dessas células para o armazenamento em longo prazo e para posterior utilização em terapias clínicas. Os autores observaram que as células mantiveram sua viabilidade e proliferação quando congeladas e descongeladas em temperaturas gradativas. Os autores então concluíram que essas células podem ser recuperadas com segurança após a criopreservação de longo prazo. Estas células rapidamente recomeçam a proliferar, mostrando altas taxas de multiplicação, forte expressão dos antígenos de superfície e produção adequada de tecido.

4.3.4 Biossegurança

O dente decíduo humano é um órgão, portanto sua doação está respaldada na Lei de Transplantes (Lei 9.434/97) e atualmente consolidada pelo (Decreto 9.175/17) que dispõe sobre a remoção de órgãos, tecidos e partes do corpo humano para fins de transplante e terapêuticos, desde que seja autorizado pelo doador ou responsável por Termo Livre e Esclarecido, e que a remoção desses órgãos não traga prejuízos para o doador, como é transcrito nos Capítulos I e III (BRASIL, 1997):

Art. 1º A disposição gratuita de tecidos, órgãos e partes do corpo humano, em vida ou post mortem, para fins de transplante e tratamento, é permitida na forma desta Lei.

Art. 2º A realização de transplante ou enxertos de tecidos, órgãos ou partes do corpo humano só poderá ser realizada por estabelecimento

de saúde, público ou privado, e por equipes médico-cirúrgicas de remoção e transplante previamente autorizados pelo órgão de gestão nacional do Sistema Único de Saúde.

Art. 9º É permitida à pessoa juridicamente capaz dispor gratuitamente de tecidos, órgãos e partes do próprio corpo vivo, para fins terapêuticos ou para transplantes em cônjuge ou parentes consangüíneos até o quarto grau, ou em qualquer outra pessoa, mediante autorização judicial.

§ 3º Só é permitida a doação referida neste artigo quando se tratar de órgãos duplos, de partes de órgãos, tecidos ou partes do corpo cuja retirada não impeça o organismo do doador de continuar vivendo sem risco para a sua integridade e não represente grave comprometimento de suas aptidões vitais e saúde mental e não cause mutilação ou deformação inaceitável, e corresponda a uma necessidade terapêutica comprovadamente indispensável à pessoa receptora.

§ 6º O indivíduo juridicamente incapaz, com compatibilidade imunológica comprovada, poderá fazer doação, desde que haja consentimento de ambos os pais ou seus responsáveis legais e autorização judicial e o ato não oferecer risco para a sua saúde.

§ 8º O auto-transplante depende apenas do consentimento do próprio indivíduo, registrado em seu prontuário médico ou, se ele for juridicamente incapaz, de um de seus pais ou responsáveis legais (BRASIL, 1997).

As medidas de Biossegurança para o receptor de órgãos também foram mencionadas na Lei 9.434/97, conforme é citado nos Capítulos I e IV:

Parágrafo único. A realização de transplantes ou enxertos de tecidos, órgãos e partes do corpo humano só poderá ser autorizada após a realização, no doador, de todos os testes de triagem para diagnóstico de infecção e infestação exigidos em normas regulamentares expedidas pelo Ministério da Saúde.

Art. 10. O transplante ou enxerto só se fará com o consentimento expresso do receptor, assim inscrito em lista única de espera, após aconselhamento sobre a excepcionalidade e os riscos do procedimento ou responsáveis legais.

1º Nos casos em que o receptor seja juridicamente incapaz ou cujas condições de saúde impeçam ou comprometam a manifestação válida da sua vontade, o consentimento de que trata este artigo será dado por um de seus pais ou responsáveis legais (BRASIL, 1997).

Portanto, de acordo com a Lei de transplantes é necessário um Termo Livre e Esclarecido assinado pelos responsáveis para doação dos dentes decíduos, como esses dentes serão descartados e substituídos naturalmente não irão trazer malefícios ao doador, estando de acordo com a Lei. Além disso, para segurança do receptor, testes sorológicos para diagnóstico de infecções devem ser realizados no doador antes do transplante (BRASIL, 1997).

A ANVISA também teve uma importante participação no processo de regulamentação referente às pesquisas clínicas e terapias com células-tronco. Em 2011 foi publicada a Resoluções da Diretoria Colegiada (RDC) nº 9, que

dispõe sobre o funcionamento dos Centros de Tecnologia Celular para fins de pesquisa clínica e terapia, determinando regras para coleta, processamento, acondicionamento, armazenamento, testes de controle de qualidade, descarte e liberação para uso e transporte de células humanas e seus derivados disponibilizados para pesquisa clínica e terapia com células-tronco (ANVISA, 2020).

De acordo com a Resolução nº 9 de 2011, a doação de células humanas para uso em pesquisa clínica ou terapia deve respeitar os preceitos legais e éticos, devendo conter o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) assinado e com todas as informações dos procedimentos realizados, devendo realizar triagem clínica e laboratorial para a escolha do doador (BRASIL, 2011).

Sendo assim, afim de prevenir transmissões de infecções deve-se realizar uma avaliação pré-transplante que englobam uma série de procedimentos que visam à segurança do receptor. Infecções pregressas devem ser investigadas através de testes laboratoriais, assim como a história clínica do paciente e seu doador e seu estado imunológico (ANVISA, 2020).

A avaliação do doador se inicia com o acesso a história médica, anamnese e exame físico. Esses procedimentos visam coletar informações de infecções prévias e atuais. As sorologias essenciais incluem infecção causada pelo HIV, hepatite B, hepatite C e HLTV I e II. 3,4,6,7. Sorologias complementares incluem investigação para CMV (citomegalovírus), EBV (Epstein Bar Vírus), sífilis e toxoplasmose (ANVISA, 2020). Serão excluídos candidatos à doação de células-tronco para uso alogênico, indivíduos com infecções confirmadas e com condições neoplásicas malignas confirmadas (ANVISA, 2020).

Doadores com sintomas de tuberculose ativa não devem doar até a doença estar controlada após terapia medicamentosa apropriada. Em relação à doença de Chagas, considerando que o Brasil é uma área com ampla distribuição desta doença, os potenciais doadores devem ser submetidos a um teste de sorológico, tendo em vista, que a transmissão sanguínea dessas doenças é bem documentada (ANVISA, 2020).

A avaliação pré-transplante do receptor, também consiste na anamnese, história médica, exames físicos e laboratoriais. Adicionalmente ao doador, a avaliação laboratorial do receptor pode também incluir sorologia para o

vírus herpes simplex e Varicela zoster (ANVISA ,2020). Para a realização de transplante autólogo (do paciente para ele mesmo) não há risco de rejeição, pois as células utilizadas são do próprio paciente. Porém para transplante alogênico (de outra pessoa para o paciente), é necessário que haja compatibilidade entre doador e receptor. Tal compatibilidade é verificada em exames histocompatibilidade (HJA) a partir de amostras de sangue periférico do doador e do receptor (ANVISA, 2020). Para garantir a segurança e qualidade das células-tronco pré-transplante deve-se realizar os seguintes testes de qualidade: testes microbiológicos, testes de detecção de doenças infectocontagiosas no doador, viabilidade celular, teste funcional, controle genético e de histocompatibilidade (ANVISA, 2020).

4.4 Protocolo Sugerido

O processamento de células e tecidos devem estar de acordo com as Boas Práticas regulamentadas pela Resolução nº 9 da ANVISA, conforme demonstrado na figura 13:

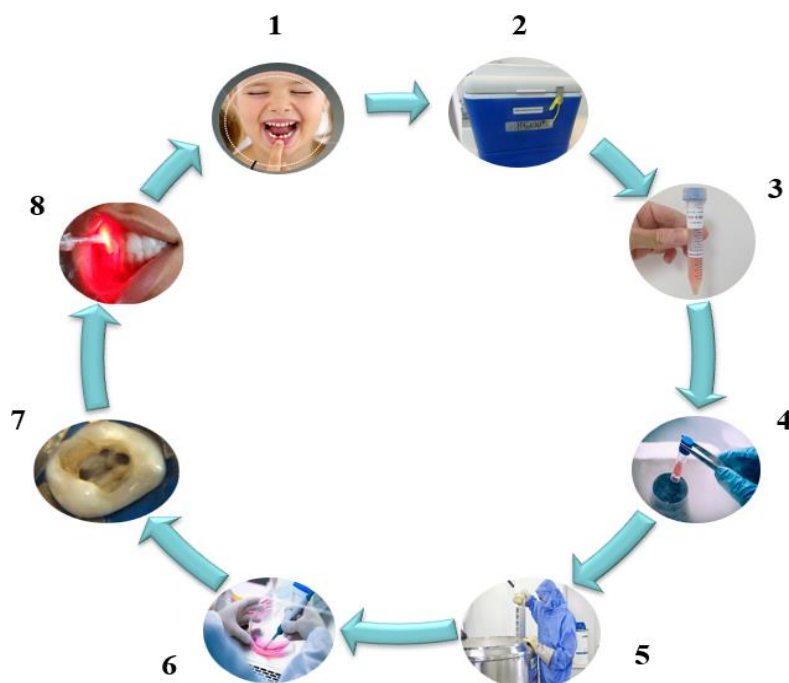


Figura 13: Fluxograma de utilização das SHEDs.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

- 1- Coleta-** A coleta deve ser realizada por cirurgião-dentista capacitado e cadastrado em Banco de Células com TCLE em duas vias assinado pelos responsáveis da criança. Para a elegibilidade do doador é necessário realizar anamnese, excluindo doadores com histórico familiar de doenças contagiosas ou neoplasias malignas confirmadas, testes sorológicos devem ser realizados (HIV, HPV, anti-HCV, anti-HBc, VDRL, PPD, HLTV I e II. 3,4,6,7). O dente selecionado para doação deve estar hígido (livre de lesões cáries, polpa e periodonto saldáveis) moderadamente reabsorvido (apresentando até 1/3 de raiz remanescente), são indicados preferencialmente caninos, incisivos ou dentes removidos precocemente para fins ortodônticos. O procedimento cirúrgico deve manter a cadeia asséptica extra e intraoral e esterilização de todos os instrumentais, a assepsia extraoral é realizada com clorexidina 2% e a profilaxia intraoral deve ser realizada com pasta profilática e bochecho com clorexidina 0,12% por 1 minuto em seguida, é feita anestesia infiltrativa e gengival, sindesmotomia e retirada das unidades com um fórceps infantil, com um mínimo de tempo e contato com a saliva. Deve-se evitar que a polpa tenha contato com os fluidos orais (SHI *et al.*, 2020).
- 2- Transporte-** O dente recém-extraído para doação deve ser transferido para um recipiente de metal contendo solução salina tamponada com fosfato (PBS) selado e colocado em uma frasqueira térmica para manter a amostra num estado hipotérmico durante o transporte até o banco de células, o tempo para transporte não deve exceder 40 horas. O recipiente com o dente deve conter a identificação do doador, data e hora de coleta, temperatura de armazenamento e responsável pela coleta (ZEITLIN, 2020).
- 3- Isolamento-** A superfície do dente deve ser higienizada com PBS e a polpa dental deve ser removida da câmara pulpar com auxílio de limas manuais ou cureta e picotada em fragmentos com uma lâmina de bisturi nº15. Imediatamente deve ser inserida em uma solução enzimática de 3 mg / ml de colagenase tipo I e 4 mg / ml de dispase durante 1 hora a 37 ° C em estufa com 5% de CO₂. Após a digestão enzimática, as células são lavadas com solução antibiótica 1% antibiótico penicilina e 0,1%

antifúngico anfotericina B, centrifugadas a 3000 rpm por 3 minutos e o sobrenadante descartado (DE ARAÚJO *et al.*, 2020).

- 4- Expansão in vitro** - Após a coleta e isolamento das células podem ser expandidas, em curto espaço de tempo, de acordo com a necessidade terapêutica do paciente e para diversas aplicações. A proliferação das SHEDs deve ser realizada em meio de cultura alfa-MEM com solução antibiótica (1 ml de 1% antibiótico penicilina/estreptomicina/ gentamicina e 1% antifúngico anfotericina B) e suplementado em meio alogênico contendo 6 ml de PRP a 10% em estufa com atmosfera úmida com 5% de CO₂ a 37°C por até 14 dias podendo atingir de 6 a 7 milhões de células que poderão ser usadas futuramente e doadas. Deve-se analisar em microscópio a viabilidade e contagem celular. Por fim, são centrifugadas a 3000 rpm por 3 minutos e o sobrenadante descartado (SUCHANEK *et al.*, 2018).
- 5- Armazenamento-** Armazenar a uma temperatura gradual de congelamento de 4°C durante 2h, -20°C durante 18h, -80 °C em 180 dias e depois transferidas para nitrogênio líquido a -196°C em meio de criopreservação DMSO (Dimetilsufóxido) que garante um armazenamento por mais de 50 anos até ser solicitada pelo doador. O tubo deve conter as identificações do doador e dente utilizado. Quando seu uso for requisitado o descongelamento também deve ser gradativo (GINANI *et al.*, 2016).
- 6- Diferenciação Odontogênica-** Após descongelamento e centrifugação a 3000 rpm por 5 minutos e descartado o sobrenadante, para induzir a diferenciação odontogênica das células-tronco deve-se utilizar o fator de crescimento BMP-2 (Proteínas Morfogenéticas ósseas) associado ao coágulo de PRP que induz a angiogênese, proliferação de fibroblastos e síntese de colágeno, a mistura deve ser depositada na matriz de dentina no interior dos canais durante o transplante (MEZA *et al.*, 2019).
- 7- Transplante-** Após a remoção da polpa por completo, limpeza e desinfecção dos canais e isolamento absoluto, a mistura obtida deve ser transplantada no interior dos canais, e a cavidade selada toda com material restaurador (GARCIA *et al.*, 2017).

8- Proservação- É indicado o uso de laser de Diodo de baixa intensidade (potência de 30 mW, comprimento de onda de 660 nm e densidade de energia de 1,0 J / cm²) para intensificar a proliferação celular após transplante de acordo com a necessidade clínica do receptor. A avaliação clínica pós transplante deve ser realizada com testes de percussão, palpação, radiografias periapicais, tomografia computadorizada e testes térmicos devem ser realizados afim de comprovar a formação de dentina reparadora e vitalidade pulpar. O teste de proservação devem ser realizados em 6 meses, 12 meses e 24 meses (GINANI *et al.*, 2018).

5. RESULTADOS

Os resultados dos estudos incluídos sugerem que o transplante de células-tronco de polpa dentária decídua pode ser usado como uma alternativa de tratamento de base biológica eficaz na regeneração da polpa dentária em dentes permanentes. A tabela 1 traz um resumo dos principais dados avaliado em cada estudo, considerando os desfechos: isolamento e identificação das células, potencial de diferenciação e regeneração das células. Os estudos empregaram metodologia de avaliação e amostras diferentes. Dois estudos realizaram seus experimentos em pacientes e os outros três realizaram as pesquisas em animais.

Tabela 1. Sumário dos estudos selecionados e seus principais desfechos para transplante de células-tronco de dentes decíduos.

Estudo/ano/pais	Amostra	Intervenção e Método	Desfecho		
			Isolamento e identificação	Potencial de Diferenciação Odontogênica	GRUPOS – Potencial de Regeneração
Nakashima et al. 2017 Japão	5 pacientes com pulpite irreversível	Transplante de cél. 2 semanas após a pulpotomia	Viabilidade celular de 83,0% Houve taxas positivas de CD29 (98,7%), CD44 (99,5%), CD105 (94,3%) e CD31 (94%)	Cél. estrelados com processos curtos ou em forma de fuso	Resposta positiva após 4 semanas em quatro pacientes sugerindo reinervação funcional no tecido pulpar regenerado e suprimento vascular. Tomografia - formação de dentina apical e lateral em três casos, após 28 semanas.
Xuan et al. 2018 China	40 pacientes com necrose pulpar em dentes permanentes	G1: 20 (transplante com hDPSC) G2: 10 (apicificação)		Formação de colônias fibroblastos unitários Expressaram marcadores	G1 - (>) o comprimento da raiz e (<) a largura do forame apical - Formaram uma nova

	imaturos e lesionados (Amostra final=30)	tradicional)	-	neurônais sensoriais Presença de odontoblastos, tecido conjuntivo e vasos sanguíneos semelhantes a polpa dentária normal	dentina
Guo et al. 2020, China	12 Porcos jovens Incisivos	SHED – Implantados depois da remoção da polpa. Após 3 meses, os dentes foram extraídos e avaliados	24 h - 80% de confluência 10 dias - agregado celular espesso	-	Após 3 meses de implantação, a análise histológica mostrou todo o tecido pulpar dentário regenerado. polpa apresentou estrutura de tecido semelhante à polpa normal. Expressões positivas de CD31 e neurofilamento (NF) Expressões positivas de células CGRP e TRPV1 indicaram a regeneração da polpa com presença de nervos sensoriais
Abdelaz, et al. (2019) Brasil	3 Cães sem raça (24 pré-molares com polpa vital exposta)	Capreamento pulpar direto com SHEDs versus CA(OH) 2	14 dias – 70% de confluência	Diferenciaram em cel. Morfologicamente semelhantes a odontoblastos	G1: EDAX – Formação de dentina mista/amorfa/reparadora G2: EDAX – dentina normal com menos túbulos dentinário e arranjo irregular. Histológico – formação de ponte de dentina obliterando a área de exposição em 6 dentes Histológico – formação de ponte de dentina obliterando a área de exposição em 8 dentes
Huang, et al. (2019) China	6 Cães Com 60 dentes permanentes necróticos, imaturos e	G1: grupo experimental (n=30) - Transplante autólogo da polpa de dentes decíduo após	-	-	Características radiográficas G1 e G2: exibiram evidências de aumento da cicatrização periapical após 3 e 6 meses. • Radioluscência reduzida • Diâmetro apical reduzida

periodontite apical
induzida

desinfecção dos
canais e pulpotomia

G2: controle (n=30) -
Revascularização
tradicional

- Largura do canal radicular aumentada
- Comprimento radicular aumentado

Características histológicas

G1: tecido semelhante à dentina ao longo das paredes do canal, com mudanças aparentes na orientação do túbulo dentinário. Presença de céls. Odontoblásticas

G2: tecido semelhante ao cimento

G1 e G2 - tecido conjuntivo recém-formado dentro dos canais radiculares rico em vasos sanguíneos e tecido fibroso.

6- DISCUSSÃO

O transplante de células tronco decíduas tem se mostrado promissor na endodontia regenerativa, tendo em vista que, os estudos analisados demonstraram resultados significantes e eficazes na regeneração do complexo dentino-pulpar (Nakashima *et al.* 2017; Xuan *et al.* 2018; Guo *et al.* 2020; Abdelaz, *et al.* 2019; Huang, *et al.* 2019). Além disso, o transplante da polpa dentária é acobertado pela (Lei 9.434/97) que permite a doação de órgãos e partes do corpo humano para transplante, desde que autorizada pelo responsável. A utilização das células-tronco também é permitida pela (Lei de Biossegurança 11.105/05) para fins terapêuticos e de pesquisa.

O uso das células-tronco na endodontia regenerativa já passou pelo uso das células da medula óssea, células da polpa de dentes permanente e mais recentemente tem-se optado pelo emprego das células tronco dos dentes decíduos esfoliados (AAE 2017; Schmalz, 2014; Yang e Zeng, 2016; Hargreaves *et al.* 2013). Após comparados características *in vitro* de células-tronco da polpa dentária de dentes decíduos (SHED), células-tronco da polpa dentária humana (DPSCs) e células-tronco mesenquimais da medula óssea humana (BMSCs) KUNIMATSU *et al.*, (2018) concluíram que SHEDs exibiram maior capacidade proliferativa, encurtando o tempo para atingir o número de células para transplante. A morfologia dos SHEDs expandidos, *in vitro*, é semelhante a fibroblastos e apresentam marcadores para células tronco mesenquimais. As SHEDs expressaram genes característicos de osteoblastos, adipócitos, condroblastos, neurócitos e diversidade de marcadores expressos confirmou a capacidade de diferenciação multilinhagem (ZHANG *et al.*, 2016). Resultado semelhante foi obtido no estudo de SUCHÁNEK *et al.*, (2018) onde ocorreu elevada taxa de proliferação e diferenciação, osteogênica, condrogênica e adipogênica com viabilidade celular superior a 90%.

Essa capacidade proliferativa da SHEDs pode ser intensificada com uso de laser de Laser de Diodo de Baixa intensidade (LLLI), com comprimento de onda de 660 nm, 30 mw de potência e densidade de energia de 1 J/cm², sem afetar a viabilidade celular ou danificar células. (GINANI *et al.*, 2018).

Portanto, SHEDs são clinicamente mais vantajosas na terapia regenerativa em comparação com DPSCs e BMSCs, e por isso, têm sido os

mais empregados na regeneração do tecido pulpar nos últimos anos (Xuan *et al.*, 2018). Segundo o mesmo autor a implantação de SHEDs levou à regeneração de todo o tecido da polpa dentária. Foi possível identificar a presença de uma camada de células odontoblasticas, tecido conjuntivo e vasos sanguíneos, semelhantes à polpa dentária normal, além disso houve aumento na espessura de dentina e sensibilidade pulpar. No grupo tratado com apicificação, os resultados não foram promissores e o comprimento da raiz não foi aumentado e nem o forame apical foi fechado após 12 meses.

Corroborando o estudo anterior NAKASHIMA, (2017) mostrou em seu estudo que após o transplante de células-tronco autólogas em dentes com pulpíte irreversível houve formação de dentina apical e lateral no canal radicular. O tecido regenerado pode transmitir sinais sensoriais e recuperar o suprimento vascular. Resultados semelhantes foram obtidos por Yan *et al.*, (2018) quando realizaram transplante autólogo. Os resultados mostraram que a polpa pode alcançar resultados clínicos e radiográficos semelhantes aos relatados em estudos da técnica de revascularização tradicional (Rodriguez-Benitez *et al.* 2015, Yamauchi *et al.*, 2011) incluindo cura da inflamação periapical, espessamento contínuo da parede do canal radicular, aumento do comprimento da raiz e redução do diâmetro apical. GUO *et al.*, (2020) também realizaram transplante de SHEDs exógenos em porcos jovens e os resultados exibiram uma polpa dentária com regeneração funcional, com vasos e nervos, contendo odontoblastos. Quando os dentes foram re-extraídas do tecido pulpar regenerado possuía maior multipotencialidade e capacidade angiogênica.

No estudo comparativo da formação de dentina reparadora usando terapia com células tronco versus hidróxido de cálcio no capeamento pulpar verificou-se que a dentina neoformada por SHEDs foi semelhante à dentina secundária normal com arranjo irregular e menor quantidade dos túbulos dentinários. Já no $CA(OH)_2$ a dentina neoformada era amorfa e a-tubular que não se assemelha a dentina tubular normal. A quantidade de Cálcio e Fosforo foi relativamente maior no grupo contendo SHEDs. O $CA(OH)_2$ mostrou conteúdo mineral estatisticamente menor. A diferenciação odontogênica das SHEDs foi avaliada pela coloração com vermelho de Alizarina. A presença de manchas de nódulos vermelho-laranja é indicativa de mineralização e

diferenciação bem-sucedida. As SHEDs mudaram seu aspecto fusiforme para poligonal que indica diferenciação. (ABDELAZ *et al.*, 2019).

Diferente dos outros estudos HUANG *et al.*, (2019) realizaram a técnica de transplante de células-tronco autólogos em dentes permanentes jovens necróticos. Apesar da condição pulpar do dente os resultados mostraram a formação de estruturas semelhantes à dentina contendo túbulos dentinários, vasos e fibras, e células odontoblasticas amplamente distribuídas. Enquanto que o grupo dos dentes submetidos à revascularização tradicional mostraram principalmente tecido de reparo semelhante a cimento ou osso, e poucos odontoblastos foram observados, corroborando os resultados de Yamauchi *et al.* (2011) e Wang *et al.* (2010). Além disso, a redução do diâmetro e fechamento apical foi maior no grupo que recebeu SHEDs.

Apesar de muitos estudos promissores em modelos animais, há algumas barreiras que dificultam o progresso das pesquisas em humanos. Mesmo com estes resultados favoráveis, são necessários mais ensaios clínicos randomizados, pois é necessário considerar todas as diferenças morfológicas existentes entre animais e humanos, como as proporções desiguais de seus dentes. Outro ponto que deve ser destacado é a singularidade de caso clínico, devendo, portando, ser avaliado individualmente objetivando estabelecer a melhor estratégia de tratamento a ser seguida em cada caso. Ademais, é recomendado pela Academia Americana de Odontopediatria (2008) que os dentistas acompanhem e se mantenham atualizados sobre os estudos que vem sendo realizados sobre células-tronco da polpa dos dentes decíduos para que assim estejam aptos a informar corretamente os pais ou responsáveis sobre a coleta, cultivo e preservação destas células, além de enfatizar o potencial terapêutico que possuem.

7- CONSIDERAÇÕES FINAIS

As células-tronco de dentes decíduos esfoliados humanos mostraram-se seguras e eficazes para regenerar do complexo dentino-pulpar, restaurar da função pulpar e promover desenvolvimento da raiz. Além disso, as SHEDs demonstraram alto potencial proliferativo e de diferenciação em multi-linhagens participando do processo de Odontogênese, Angiogênese e Neurogênese. A dentina neoformada por SHED foi semelhante a dentina secundária normal, já a dentina neoformada pelo Ca (OH)_2 foi a-tubular e amorfa. Apesar dos estudos realizados até o momento, ainda não existem ensaios clínicos randomizados com grande quantidade de pacientes humanos sobre o efeito das SHED's para analisar a eficácia da regeneração do complexo dentino-pulpar. Sugere-se novas pesquisas com ensaios clínicos randomizados com o tratamento teste e controle para aquisição de dados mais detalhados sobre o funcionamento desse tratamento inovador em seres humanos e aquisição de um método terapêutico eficaz para regeneração do complexo dentino-pulpar, para que a endodôntica regenerativa baseada em células-tronco da polpa dentária decídua se torne uma realidade.

REFERÊNCIAS

- AMERICAN ASSOCIATION OF ENDODONTISTS. **Considerações clínicas para um procedimento regenerativo.** <http://www.aae.org/specialty/wp-content/uploads/sites/2/2017/062018>. Acesso em: 24 mar. 2021.
- AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Guia de Inspeção em Banco de Células e Tecidos.** 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/ptbr/centraisdeconteudo/publicacoes/sanguetecidos/elulaseorgaos/manuaiseguias/guiadeinspecaoembancodecelulasetecidos.pdf/vi ew>. Acesso em: 12 mar. 2021.
- ACADEMIA AMERICANA DE ODONTOPIEDIATRIA. Policy on stem cell. **Reference Manual.** v. 37, n 6, p. 15-16, 2008. Disponível em: http://www.aapd.org/media/policies_guidelines/p_stemcells.pdf. Acesso em: 13 nov. 2020.
- ABDELAZ, Possy *et al.* Reparative dentin formation using stem cell therapy versus calcium hydroxide in direct pulp capping: an animal study. **Brazilian dental journal**, v. 30, n. 6, p. 542-549, 2019.
- AGUIAR, Fernanda Bitencourt. Aplicação terapêutica de células-tronco de dentes decíduos. **Odontologia-Tubarão**, 2018.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ODONTOPIEDIATRIA. Diretrizes Para Procedimentos Clínicos Em Odontopediatria. **Santos Publicações**, ed. 3, 2020.
- BRASIL, Presidência da República. **Casa Civil.** LEI Nº 9.434, DE 4 DE FEVEREIRO DE 1997. Brasília, Capítulos I ao IV, 1997. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/19434.htm. Acesso em: 16 abr. 2021.
- BARBOSA, Lucas. ODONTOLOGIA REGENERATIVA: USO DE CÉLULAS TRONCO DA POLPA DENTÁRIA NA RECONSTRUÇÃO ÓSSEA. 2019. Disponível em: <http://dspace.bc.uepb.edu.br/jspui/bitstream/123456789/21078/1/PDF-%20Lucas%20Almeida%20Barbosa.pdf>. Acesso em: 18 jan. 2021.
- BALIC, Anamaria. Biology explaining tooth repair and regeneration: a mini-review. **Gerontology**, v. 64, n. 4, p. 382-388, 2018.
- BANSAL, Ramta. *et al.* Visão geral atual sobre as aplicações de células-tronco dentárias em odontologia regenerativa. **J Nat Sei Biol Med.** Índia, v.6, n.1, 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4367063/>. Acesso em: 14 jan. 2021.
- CUPPINI, Marla. Engenharia tecidual aplicada à odontologia: estado da arte. 2015 Disponível em: <https://repositorio.unisc.br/jspui/bitstream/11624/900/1/Marla%20Cuppini.pdf>. Acesso em: 12 fev. 2021.
- CENTRO DE CRIOGENIA BRASIL. Coleta de células-tronco. 2021. Acesso em : 01 de abril de 2021. Disponível em: <https://ccb.med.br/texto/celula-tronco->

[hematopoietica#:~:text=As%20C%C3%89LULAS%2DTRONCO%20HEMATOP OI%C3%89TICAS%20s%C3%A3o.linfomas%2C%20talassemia%2C%20entre %20outras. Acesso em: 16 fev. 2021.](#)

DIOGENES, Anibal; HARGREAVES, Kenneth M. Microbial modulation of stem cells and future directions in regenerative endodontics. **Journal of endodontics**, v. 43, n. 9, p. S95-S101, 2017.

DUCRET, Maxime *et al.* Desafios atuais na revitalização dentária humana. **Materiais biomédicos e engenharia**, v. 28, n. s1, p. S159-S168, 2017.

DE ARAÚJO, Anna Clara Gomes; VASCONCELOS, Rodrigo Gadelha; VASCONCELOS, Marcelo Gadelha. CÉLULAS-TRONCO DERIVADAS DA POLPA DENTÁRIA-DIFERENCIAÇÃO, PROLIFERAÇÃO E MEDIADORES QUÍMICOS ENVOLVIDOS: UMA REVISÃO DE LITERATURA. 2020.

Disponível em:

https://secure.unisagrado.edu.br/static/biblioteca/salusvita/salusvita_v39_n2_2020/salusvita_v39_n2_2020_art_10.pdf. Acesso em: 12 abr. 2021.

DE CASTRO, Victoria Sá Teixeira. MTA x hidróxido de cálcio em capeamento pulpar direto: vantagens e desvantagens. Uma revisão de literatura. **Revista Brasileira de Odontologia**, v. 76, p. 27, 2019.

DE LARA JANZ, Felipe. Células tronco mesenquimais: definição, características e principais fontes de obtenção. 2018. Disponível em:

https://portal.unisepe.com.br/unifia/wpcontent/uploads/sites/10001/2018/06/034_celulas_tronco_mesenquimais.pdf. Acesso em: 16 mar. 2021.

RESENDE, Elaine Ferreira. Regeneração pulpar como alternativa para tratamento endodôntico em dentes permanentes imaturos: revisão de literatura. Belo Horizonte, 2016. Disponível em:

https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/ODONALTP28/1/monografia_elaine_ferreira_resende.pdf. Acesso em: 15 nov. 2020.

FOUAD, Ashraf F.; VERMA, Prashant. Healing after regenerative procedures with and without pulpal infection. **Journal of endodontics**, v. 40, n. 4, p. S58-S64, 2014.

GAO, Xianling *et al.* Immunomodulatory role of stem cells from human exfoliated deciduous teeth on periodontal regeneration. **Tissue Engineering Part A**, v. 24, n. 17-18, p. 1341-1353, 2018. Disponível em:

https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/ten.TEA.2018.0016?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub++0pubmed&. Acesso em: 23 jun. 2020.

GARCIA, T.; ROQUE, J. S.; SILVA, DF CÉLULAS-TRONCO. BIOENGENHARIA APLICADA À ODONTOLOGIA. **Nanocell News**, v. 4.

Disponível em: <http://dx.doi.org/10.15729/nanocellnews.2017.02.23.004>.

Acesso em: 14 jan. 2021.

GANCHEVA, Maria R. *et al.* Using dental pulp stem cells for stroke therapy. **Frontiers in neurology**, v. 10, p. 422, 2019. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fneur.2019.00422/full>. Acesso em: 13 jan. 2021.

GUGLIELMI, Mariela C. *et al.* REVASCULARIZAÇÃO PULPAR EM DENTES COM RIZOGENESE INCOMPLETA E NECROSE PULPAR - REVISÃO DE LITERATURA. 2019. Disponível em: <http://faculdefacsete.edu.br/monografia/files/original/8ff58eef2fb7cc53630abe989c73bfaf.pdf>. Acesso em: 12 mai. 2021.

GINANI, Fernanda. *et al.* Efeito de um protocolo de criopreservação na proliferação de células-tronco de dentes decíduos esfoliados humanos. **Acta Odontologica Scandinavica**. Natal, v. 74, n. 8, p. 598-604, 2016.

GINANI, Fernanda. *et al.* A irradiação a laser de baixa intensidade induz a proliferação in vitro de células-tronco de dentes decíduos esfoliados humanos. **Lasers Med Sci**. Natal, v. 33, p. 95-102, 2018.

GUO, Hao. *et al.* SHED promove angiogênese na regeneração da polpa dentária mediada por células-tronco. **Comunicações de pesquisa bioquímicas e biofísicas**. China, v. 529, n. 4, p. 1158-1164, 2020.

HUANG, Yan. *et al.* Transplante autólogo de polpa de dente decíduo em dentes permanentes jovens necróticos para regeneração pulpar em modelo canino. **Journal of International Medical Research**. China, v. 47, n. 10, p. 5094-5105, 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6833418/>. Acesso em: 25 jun. 2020.

HARGREAVES, Kenneth M.; BERMAN, Louis H. **Cohen Caminhos da polpa**. Elsevier Brasil, 2017.

HARGREAVES, Kenneth. *et al.* Opções de tratamento: bases biológicas dos procedimentos endodônticos regenerativos. **J Endod**. v. 39, p. S30 – S43, 2013.

INSTITUTO DE PESQUISA COM CÉLULAS-TRONCO. Células-tronco. 2018. Disponível em: <http://celulastroncors.org.br/celulas-tronco-2/>. Acesso em: 9 mar. 2021.

JUNQUEIRA, Luiz Carlos Uchoa *et al.* **Biologia celular e molecular**. Editora Guanabara Koogan, 13ª ed, p. 338, 2017.

JUNIOR, Áderson Luiz Costa. Psicologia aplicada à odontopediatria: uma introdução. **Estudos e Pesquisas em Psicologia**, v. 2, n. 2, p. 46-53, 2002.

LEDESMA-MARTÍNEZ, Edgar; MENDOZA-NÚÑEZ, Víctor Manuel; SANTIAGO-OSORIO, Edelmiro. Mesenchymal stem cells derived from dental pulp: a review. **Stem cells international**, v. 2016, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4686712/>. Acesso em: 10 jan. 2021.

LI, Caiyu. *et al.* Comparação da capacidade de diferenciação do odontoblasto entre células-tronco de dentes decíduos esfoliados humanos e células-tronco da polpa dentária. **Ban Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue**. China, v 45, n. 6, p. 678-683. jun. 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32879125/>. Acesso em: 20 mar. 2021.

LOPES, H.; SIQUEIRA, J. Endodontia-Biología e Técnica. Sao Paulo: Ed. 2015.

MARQUES, Rodrigo Fonseca. *et al.* REVITALIZAÇÃO PULPAR: UMA ALTERNATIVA DE TERAPÊUTICA ENDODÔNTICA PARA DENTES COM RIZOGÊNESE INCOMPLETA E NECROSE PULPAR – REVISÃO DE LITERATURA. Belém, 2018. Disponível em: https://bdm.ufpa.br:8443/jspui/bitstream/prefix/416/1/TCC_RevitalizacaoPulparAlternativa.pdf. Acesso em: 25. mai. 2021

MEZA, Gáston. *et al.* Terapia celular personalizada para pulpíte usando células-tronco autólogas da polpa dentária e fibrina rica em plaquetas de leucócitos: relato de caso. **J Endod**. Chile, v.45, n. 2, p.144-149, fev. 2019. Disponível em: [https://www.jendodon.com/article/S0099-2399\(18\)30796-9/fulltext#%20](https://www.jendodon.com/article/S0099-2399(18)30796-9/fulltext#%20). Acesso em: 26 mai. 2021.

NASCIMENTO, Flávia de Melo; GALVÃO, Luriane Ávila. A importância das células-tronco em polpa de dentes decíduos: revisão de literatura. 2019.

NAKASHIMA, Misako. *et al.* Regeneração pulpar por transplante de células-tronco da polpa dentária na pulpíte: um estudo clínico piloto. **Stem Cell Res Ther**. Japão, 2017.

ORTI, Valérie *et al.* Pulp regeneration concepts for nonvital teeth: from tissue engineering to clinical approaches. **Tissue Engineering Part B: Reviews**, v. 24, n. 6, p. 419-442, 2018.

ROSA, Jamile da *et al.* A IMPORTÂNCIA DAS CÉLULAS-TRONCO NA ENDODONTIA. **Anais do Salão de Ensino e de Extensão**, p. 99, 2019.

RODRÍGUEZ-BENÍTEZ, Soledad *et al.* Pulp revascularization of immature dog teeth with apical periodontitis using triantibiotic paste and platelet-rich plasma: a radiographic study. **Journal of endodontics**, v. 41, n. 8, p. 1299-1304, 2015..

RIBEIRO, Maisa *et al.* Efeito da fotobiomodulação e de células-tronco derivadas do tecido adiposo na reparação de feridas por queimadura térmica em ratos. 2020. Disponível em: <https://repositorio.bc.ufg.br/tede/bitstream/tede/10745/3/Tese%20%20Maisa%20ORibeiro%20-%202020.pdf> . Acesso em: 12 abr. 2021

REGISTRO NACIONAL DE DOADORES VOLUNTÁRIOS DE MEDULA ÓSSEA. Tipos de Transplante. Disponível em: <http://redome.inca.gov.br/medula-ossea/tipos-de-transplante/>. Acesso em: 29 mar. 2021.

SAIS, Fernanda. *et al.* Pesquisa com células-tronco embrionárias: questões éticas. **TUDO SOBRE CÉLULAS-TRONCO**. São Paulo, 2018. Disponível em: <http://tudosobrecelastronco.com.br/pesquisa-com-celulas-troncoembrionarias/>. Acesso em: 24 mai. 2021

SANZ, José Luiz. *et al.* Citocompatibilidade e propriedades bioativas de cimentos à base de silicato de cálcio hidráulico (HCSCs) em células-tronco de dentes decíduos esfoliados humanos (SHEDs): uma revisão sistemática de estudos in vitro. **J Clin Med**. Valência, v.9, n.12, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7761433/>. Acesso em: 14 abr. 2021

SMITH, Anthony J. *et al.* Exploiting the bioactive properties of the dentin-pulp complex in regenerative endodontics. **Journal of endodontics**, v. 42, n. 1, p. 47-56, 2016.

SABETI, Mohammad; GOLCHERT, Kory; TORABINEJAD, Mahmoud. Regeneration of Pulp-Dentin Complex in a Tooth with Symptomatic Irreversible Pulpitis and Open Apex Using Regenerative Endodontic Procedures. **Journal of Endodontics**, v. 47, n. 2, p. 247-252, 2021. Disponível em: [https://www.jendodon.com/article/S0099-2399\(20\)30760-3/fulltext#%20](https://www.jendodon.com/article/S0099-2399(20)30760-3/fulltext#%20). Acesso em: 22 jan. 2021

SILVA, Carolina Nogueira *et al.* O tecido da polpa dentária como fonte de células-tronco. **Saúde Foco**, v. 11, p. 295-308, 2019.

SHI, Xin. *et al.* Células-tronco pulpares derivadas de dentes decíduos e permanentes humanos: características biológicas e aplicações terapêuticas **Stem Cells Translational Medicine**. v. 9, n. 4, p. 445-464, 2020. Disponível em: <https://stemcellsjournalsonlineibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/sctm.19-0398>. Acesso em: 15 nov, 2020.

SCHMALZ, Gottfried. *et al.* Desenvolvimento, reparo e regeneração da polpa: desafios da transição da odontologia tradicional para as terapias de base biológica. **J Endod**, v.40, p.S2 – S5, 2014.

SOUDI, Armin. *et al.* Papel e aplicação das células-tronco na regeneração dentária: uma visão geral abrangente. **EXCLI J**. v. 20, p. 454–489, 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7975587/>. Acesso em: 24 abr. 2021.

SUCHANEK, Jakub *et al.* Características de células-tronco natais humanas cultivadas em meio alogênico. **Braz. Dente. J**. v.29, n.5, 2018. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bdj/a/Py5MFjHZ8LwZ8VKZqdv4jQ/?lang=en>. Acesso em: 13 nov. 2020

TAUMATURGO, Vandrê de Mesquita *et al.* A importância da Odontologia na pesquisa em células tronco. **Journal of Dentistry & Public Health**. v. 7, n 2, 2016, Disponível em: <https://www5.bahiana.edu.br/index.php/odontologia/article/view/854>. Acesso em: 15 jun. 2020

UEDA, Tomoyuki. *et al.* Características e potencial terapêutico das células-tronco da polpa dentária em doenças neurodegenerativas. **Front Neurosci.** v. 14, n.407, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7222959/>. Acesso em: 23 mai. 2021

XUAN, Kun. *et al.* As células-tronco decíduas autólogas do dente regeneram a polpa dentária após a implantação em dentes feridos. **Science Trans lational medicine.** V. 10, n. 455, 2018.

XIAO, Zhuangzhuang. *et al.* A terapia potencial com células-tronco mesenquimais derivadas do tecido dentário na doença de Parkinson. **Stem Cell Res Ther.** v.12. 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7789713/>. Acesso em: 12 abr. 2021.

YOSHIDA, Shinichiro, *et al.* Visão do papel das células-tronco da polpa dentária na terapia regenerativa. *Biologia (Basel).* v.9, n. 7, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7407391/#B99-biology-09-00160>. Acesso em: 13 abr. 2021.

YANG, Yue. *et al.* Regeneração da endodôntica: uma nova direção da regeneração da polpa dentária. **Int J Stomatol.** v. 43, p. 495–499, 2016.

WANG, Xiaoyuan. *et al.* Caracterização histológica de tecidos regenerados no espaço do canal após o procedimento de revitalização / revascularização de dentes imaturos de cães com periodontite apical. **J Endod.** v. 36, p. 56–63, 2010

YAMAUCHI, Nancy. *et al.* Estratégias de engenharia de tecidos para dentes imaturos com periodontite apical. **J Endod.**v. 37, p. 390–397, 2011.

WEISS, Jairo Barros. Análise comparativa da eficiência na obtenção de células-tronco da polpa dentária humana por meio de instrumentação manual e rotatória. Juiz de Fora. 2016. Disponível em: <https://repositorio.ufjf.br/jspui/bitstream/ufjf/3061/1/jaiobarrosweiss.pdf>. Acesso em: 12 mai. 2021.

ZENG, Sujuan. *et al.* Efeito do fator neurotrófico ciliar na diferenciação neural de células-tronco de dentes decíduos esfoliados humanos. **J Biol Eng.** v.14, n. 29, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7724848/>. Acesso em: 17 jan. 2021.

ZEITLIN, Benjamin. Apostar nos dentes - células-tronco e consultório odontológico. **Biomedical Journal.** São Francisco, mai. 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7283549/>. Acesso em: 10 nov. 2020.

ZHANG, Nan. *et al.* Isolation, characterization and multi-lineage differentiation of stem cells from human exfoliated deciduous teeth. **MOLECULAR MEDICINE**

REPORTS. v. 14, n. 1, p. 95–102, 2016. Disponível em:
<https://www.spandidos-publications.com/10.3892/mmr.2016.5214>. Acesso em:
20 abr. 2021.