

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA**

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

RAYSA NYARA DA SILVA AMORIM

**Descelularização e recelularização de polpas dentárias para desenvolvimento
de scaffolds naturais - Revisão sistemática**

JUIZ DE FORA

2021

RAYSA NYARA DA SILVA AMORIM

**Descelularização e recelularização de polpas dentárias para desenvolvimento
de scaffolds naturais - Revisão sistemática**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em odontologia, da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito para obtenção de título de Mestre. Área de concentração em Clínica Odontológica.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Márcio Resende do Carmo

JUIZ DE FORA

2021

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

da Silva Amorim, Raysa Nyara .

Descelularização e recelularização de polpas dentárias para confecção de scaffolds naturais- Revisão sistemática. / Raysa Nyara da Silva Amorim. -- 2021.

65 p.

Orientador: Antônio Márcio Resende do Carmo

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Odontologia. Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica, 2021.

1. Células Tronco de Polpa Dentária. 2. Endodontia. 3. Engenharia Tecidual. 4. Revisão sistemática. I. Resende do Carmo, Antônio Márcio, orient. II. Título.

RAYSA NYARA DA SILVA AMORIM

DESCELULARIZAÇÃO E RECELULARIZAÇÃO DE POLPAS PARA DESENVOLVIMENTO DE SCAFFOLDS NATURAIS - REVISÃO SISTEMÁTICA

Dissertação de
Mestrado
apresentada ao
Programa de Pós-
graduação em
Odontologia da
Faculdade de
Odontologia da Universidade
Federal de Juiz de
Fora como requisito
parcial à obtenção do
título de Mestra em
Clínica
Odontológica. Área
de concentração em
Clínica
Odontológica.

Aprovada em 13 de janeiro de 2022.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Antônio Márcio Resende do Carmo - Orientador

Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr. Leandro Marques de Resende

Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof^a Dr^a Eloá Borges Luna

Associação Brasileira de Odontologia - Macaé

Juiz de Fora, 03/01/2022.



Documento assinado eletronicamente por **Antonio Marcio Resende do Carmo, Professor(a)**, em 13/01/2022, às 10:22, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Eloá Borges Luna, Usuário Externo**, em 13/01/2022, às 10:34, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Leandro Marques de Resende, Professor(a)**, em 13/01/2022, às 10:39, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-Ufjf (www2.ufjf.br/SEI) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador **0631329** e o código CRC **B62EA851**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus que ilumina a minha caminhada a cada dia.

Essa conquista se deve a dedicação incansável dos meus pais, Marco Antônio e Vani, meus alicerces e inspirações, meus irmãos Marcus Vinicius e Pedro, minha avó Marfiza, minhas tias e primos, minha madrinha e padrinho (*in memorian*), à minha família. Vocês serão sempre o meu porto seguro, obrigada por tanto.

Ao Daniel, que compartilha diariamente sonhos comigo e me ajuda a vencer cada desafio, aos meus amigos que são meu ponto de apoio em cada momento, aos meus colegas de trabalho e pacientes, aprendo diariamente com cada um de vocês.

Agradeço aos meus professores, orientadores e mestres, que contribuíram imensamente para minha formação acadêmica e sempre me incentivaram a buscar meus sonhos. Obrigada por acreditarem em mim e me impulsionarem a ir mais longe. Agradeço ao prof. Dr. Antônio Márcio e a prof. Antonella Polimeni pela confiança, dedicação e apoio, ao prof. Carlos Maranduba por ter compartilhado tanto conhecimento durante esse trabalho, ao Paulo Victor por ter me apoiado desde o início deste projeto. Aos professores Leandro Resende, Aline Fedoce, Eloá Borges Luna, Camila Carrada e Letícia Miquellito Gasparoni por serem um grande alicerce e inspirações, essenciais para o desfecho desta dissertação. A todos que direta ou indiretamente participaram desse trabalho, meu muito obrigada, não seria possível sem vocês.

“Se eu vi mais longe, foi por estar sobre ombros de gigantes.” (ISAAC NEWTON)

RESUMO

Avanços na engenharia tecidual trazem possibilidades terapêuticas inovadoras na odontologia, aliados a reabilitação oral do paciente. Dentro da endodontia, este campo é bastante novo e promissor, uma vez que pode revolucionar os tratamentos atuais utilizados para as doenças de polpa dentária e fornecer uma possibilidade de regeneração pulpar. Os scaffolds são estruturas tridimensionais semelhantes ao tecido original, em textura macro e micro-geometria favorecendo a adesão celular e sua consequente expressão. O melhor scaffold para a engenharia de tecidos seria a matriz extra-celular descelularizada do tecido alvo, uma vez que, a descelularização permite que os pesquisadores obtenham matrizes naturais, livres de células, caracterizadas por organização 3D adequada e composição molecular adequada.

Este estudo se propôs a uma revisão sistemática sobre os melhores métodos para descelularização e recelularização da polpa dentária para a confecção de scaffolds naturais para utilização em revitalização pulpar.

Um total de 300 referências foi recuperado nas bases de dados eletrônicas pesquisadas até maio de 2020, com primeira pesquisa realizada em julho de 2019. Após a remoção das duplicatas 174 títulos / resumos foram avaliados por dois revisores independentes, calibrados de acordo com os critérios de elegibilidade propostos. O resultado do processo de calibração demonstrou um nível de concordância substancial entre os revisores ($\kappa = 0.75$) e um total de 6 artigos foram incluídos na síntese qualitativa de resultados.

Estudos in vitro e in vivo dos estudos recuperados demonstraram algum nível de resultados positivos em relação aos testes biológicos, mesmo à luz dos diferentes níveis de complexidade dos testes realizados entre os diferentes estudos. Resultados promissores foram observados no desenvolvimento de scaffolds biológicos decelularizados derivado da polpa dentária com a preservação de componentes estruturais extracelulares necessários para regeneração tecidual. No entanto, os dados atuais são heterogêneos demais para comparar e identificar as vantagens de qualquer método específico utilizado nos estudos recuperados.

Palavras-chave: Engenharia Tecidual, células tronco, biomateriais, polpa dental, endodontia regenerativa.

ABSTRACT

Advances in tissue engineering creates innovative therapeutic possibilities in dentistry, combined with oral rehabilitation of the patient. Within endodontics, this field is quite new and promising, since it can revolutionize current treatments used for dental pulp diseases and provide a possibility of pulp regeneration. Scaffolds are three-dimensional structures similar to the original tissue, in texture macro and micro geometry, which favors cell adhesion and its consequent expression. The best scaffold for tissue engineering would be the decellularized extracellular matrix of the target tissue, since decellularization allows researchers to obtain natural, cell-free matrices, characterized by adequate 3D organization and adequate molecular composition.

This study proposed a systematic review on the best methods for decellularization and recellularization of dental pulp for making natural scaffolds for use in pulp revitalization. A total of 300 references were retrieved from the electronic databases searched until May 2020, with the first search occurring in July 2019. After removing duplicates, 174 titles / abstracts were evaluated by two independent reviewers, calibrated according to the proposed eligibility criteria. The result of the calibration process demonstrated a substantial level of agreement between the reviewers ($\kappa = 0.75$) and a total of 6 articles were included in the qualitative synthesis of results.

In vitro and in vivo studies of the recovered studies demonstrated some level of positive results in relation to biological tests, even in light of the different levels of complexity of the tests occurred in different studies. Promising results have been observed in the development of decellularized biological scaffolds derived from dental pulp with the perseverance of extracellular structural components necessary for tissue regeneration. However, the current data is too heterogeneous to compare and identify the advantages of any specific method used in the retrieved studies.

Keywords: Tissue Engineering, stem cells, tissue scaffolds, dental pulp, regenerative endodontics.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Itens de relatório preferenciais para diagrama sistemático de análises sistemáticas e metanálises, mostrando o processo de seleção do estudo na revisão sistemática.	22
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Scaffolds Baseados em polpas dentarias humanas para revitalização endodôntica	24
Tabela 2	– Scaffolds Baseados em polpas dentárias de animais para revitalização endodôntica	25
Tabela 3	– Principais métodos de descelularização, modo de ação e efeitos na MEC.....	29
Tabela 4	– Risco de viés em estudos laboratoriais	33
Tabela 5	– Risco de viés de estudos experimentais em animais.....	33
Tabela 6	– Protocolos de reagentes de descelularização agrupados por autor	35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ARRIVE	<i>Animals in Research Reporting In vivo Studies Experiments</i>
CT	Células Tronco
DFC	Células Tronco do Folículo Dentário
DPEM	<i>Native Dental Pulp Extracellular Matrix/ Polpas Dentárias Nativas da Matriz Extracelular</i>
DPSC	<i>Dental Pulp Stem Cell / Células Tronco de Polpa Dentária</i>
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DNase	Desoxirribonuclease
EDTA	Etilenodiaminotetracetato de tetrasódio
ET	Engenharia Tecidual
FO-UFJF	Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora
GRADE	<i>Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation</i>
hBMMSCS	Células Tronco Mesenquimais da Medula óssea Humana
hDFC's	Células Tronco do Folículo Dentário Humano
KAPPA	Índice de concordância
MEC	Matriz Extracelular
MESH	Descritores determinados pela Biblioteca Nacional de Medicina dos Estados Unidos para indexar artigos Index Medicus e MEDLINE.
NICE	<i>National Institute for Health and Clinical Excellence</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde
PBS	<i>Phosphate buffered saline</i>
PICO	Abreviaura para os quatro elementos metodológicos fundamentais da revisão sistemática: População; Intervenção; Controle e Desfecho
PRISMA	<i>Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses</i>
PROSPERO	Registro Internacional Prospectivo de Revisões Sistemáticas
RNA	Ácido ribonucleico
RNase	Ribonuclease
SCAP	Célula Tronco da Papila Apical
TRITON X	Detergente não Iônico
SDS	<i>Dodecilsulfato de sódio</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	PROPOSIÇÃO	15
2.1	OBJETIVO GERAL	15
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
3	MATERIAIS E MÉTODOS	16
3.1	PROTOCOLO E REGISTRO	16
3.2	CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE	16
3.3	BASES DE DADOS E FONTES DE INFORMAÇÃO	17
3.4	ESTRATÉGIAS DE BUSCA.....	17
3.5	PROCESSO DE COLETA DE DADOS.....	19
3.6	AVALIAÇÃO DO RISCO DE VIÉS NOS ESTUDOS INCLUÍDOS (RISK OF BIAS)	20
3.7	ESTRATÉGIA PARA SÍNTESE DE DADOS.....	21
4	RESULTADOS	21
4.1	RESULTADOS DOS ESTUDOS INDIVIDUAIS.....	23
4.1.1	Caracterização dos estudos.....	26
4.1.2	Descelularização da polpa dentária	26
4.1.3	Recelularização dos scaffolds obtidos	30
4.2	RISCO DE VIÉS	32
5	DISCUSSÃO	34
5.1	O PAPEL DAS SOLUÇÕES HIPOTÔNICAS E HIPERTÔNICAS.....	35
5.2	DETERGENTES IÔNICOS E NÃO IÔNICOS	35
5.3	TRATAMENTOS QUÍMICOS E ENZIMÁTICOS	37
6	CONCLUSÃO	42
	REFERÊNCIAS	44
	APÊNDICE A – Artigos excluídos por motivos específicos	51
	ANEXO A – Registro PROSPERO	52
	ANEXO B – Checklist PRISMA	62
	ANEXO C – Comprovante de envio do artigo relacionado à dissertação	64

1 INTRODUÇÃO

A possibilidade de regeneração pulpar vem ganhando destaque na comunidade acadêmica como uma nova direção para tratamentos de doenças pulpares, convencionalmente tratadas pela endodontia. Essa possibilidade se deve a avanços na medicina regenerativa e engenharia tecidual (ET), além da introdução de novas fontes de células-tronco (CT) de interesse específico na odontologia (BACKTIAR et al., 2018).

A engenharia de tecidos e a medicina regenerativa envolvem muitos materiais artificiais e biológicos diferentes, entre eles temos os chamados biomateriais ou scaffolds, frequentemente integrados em estruturas compostas, que podem ser repovoadas com vários tipos de células (PORZIONATO et al., 2018).

Os scaffolds são biomateriais de estruturas tridimensionais similares ao tecido original, em textura macro e micro-geometria favorecendo a adesão celular e sua consequente expressão (PORZIONATO et al., 2018).

O melhor scaffold para a engenharia de tecidos seria a MEC (Matriz extracelular alogênica) descelularizada do tecido alvo, uma vez que, a descelularização permite que os pesquisadores obtenham MECs naturais, livres de células, caracterizados por organização 3D e composição molecular adequadas, além de apresentarem uma alternativa para evitar a reação imunológica do leito receptor frente a um corpo estranho (PORZIONATO et al., 2018).

Terapias em ET dentária foram discutidas através da combinação de biomateriais, células-tronco mesenquimais de origem não dental e células-tronco dentárias (MURRAY et al., 2007, GONÇALVES et al., 2017).

Descelularizar polpas dentárias saudáveis abre novas possibilidades na odontologia regenerativa, uma vez que esses tecidos descelularizados podem servir como suportes naturais para apoiar CT transplantadas (CHEN et al., (2015), SONG et al., (2017), MATOUG-ELWERFELLI et al., (2018), HU et al., (2017), BACKHTIAR et al., (2020).

As CT são muito utilizadas em ET e possuem como funções principais proporcionar o desenvolvimento tecidual, a homeostasia e reparo em caso

de danos aos tecidos. Estas células são indiferenciadas, possuem a capacidade de auto renovação, ou seja, são capazes de se multiplicar, mantendo seu estado indiferenciado e de originar diversos tipos de células diferenciadas quando estimuladas (LA NOCE et al., 2014).

Diferentes pesquisadores desenvolveram estudos que determinaram nichos de células-tronco de interesse específico na odontologia. Assim, constatou-se a presença deste tipo celular na polpa dental de dente permanente (GRONTHOS et al., 2000), na polpa de dentes decíduos esfoliados (MIURA et al., 2003), na papila apical (HANDA et al., 2002), no ligamento periodontal (HASEGAWA et al., 2005) e no folículo dental (HUANG et al., 2008).

Para a obtenção de scaffolds viáveis para a regeneração tecidual a eficiência da remoção das células (descelularização) é imprescindível. A descelularização de um tecido depende da origem deste e da maneira que serão utilizados os processos químicos e enzimáticos. Cada um destes tratamentos afetam a composição bioquímica, estrutura do tecido, comportamento mecânico da MEC, que implicarão na resposta do hospedeiro frente a este material (GILBERT et al., 2006).

Assim, uma descelularização eficaz é definida como a remoção de todo o conteúdo celular e nuclear sem afetar negativamente a composição da MEC (GILBERT et al., 2006, MATOUG-ELWERFELLI et al., 2018). A composição da MEC não pode ser danificada porque há a necessidade dessa matriz manter suas características originais para que as células possam se expressar adequadamente (GILBERT et al., 2006).

Os componentes da MEC se mantêm constantes entre diferentes espécies de animais sendo, portanto, bem tolerados mesmo em destinatários xenógenos (GILBERT et al., 2006). Essa característica viabiliza que estudos utilizem tais fontes teciduais na produção de scaffolds descelularizados, submetendo-as a variados processos de engenharia tecidual. Defende-se que uma vez obtidos, os scaffolds contendo somente componentes da MEC, em teoria, serão isentos da nocividade imunológica, reação possível de enxertos não-autólogos (RIEDER, et al., 2004); (SCHENKE et al., 2003).

Muitos são os mecanismos de desmineralizar, descelularizar e

repopular os órgãos, mas ainda não há um processo definitivo para a polpa dentária, o que se torna uma questão relevante a ser pesquisada pela comunidade científica, com a emergente necessidade de avançar nos estudos para mimetizar os tecidos e utilizá-los como scaffolds naturais. Este estudo propõe uma revisão sistemática sobre os melhores métodos para descelularização e recelularização da polpa dentária para a confecção de scaffolds naturais para regeneração pulpar.

A revisão sistemática é uma revisão planejada para responder a uma pergunta específica e que utiliza métodos explícitos e sistemáticos para identificar, selecionar e avaliar criticamente os estudos publicados na literatura científica, evitando o viés em cada uma de suas etapas (SUTHERLAND et al., 2012). Trata-se de um estudo secundário, que tem por objetivo reunir estudos semelhantes, avaliando-os criticamente em sua metodologia e reunindo-os em uma análise estatística, a metanálise, quando é possível (GALVÃO et al., 2004). Quando os dados dos estudos selecionados são sintetizados, mas não podem ser estatisticamente combinados, devido à falta de homogeneidade entre os estudos, a revisão pode ser denominada “Revisão sistemática qualitativa”, na qual se inclui o presente estudo (GALVÃO et al., 2004, DEMATHÉ et al., 2012).

2 PROPOSIÇÃO

A proposta deste trabalho é de revisar sistematicamente a literatura disponível a partir da pergunta PICO: “Quais são as melhores estratégias para descelularizar e recelularizar a polpa dentária a fim de produzir um scaffold natural para regeneração endodôntica?”

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo dessa revisão sistemática é de avaliar criticamente e sintetizar o conjunto de evidências disponível na literatura científica acerca das melhores estratégias de desenvolvimento de scaffolds naturais a partir de métodos de descelularização e recelularização pulpar.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar protocolos utilizados para descelularização da polpa dentária.
- Avaliar a viabilidade celular pós recelularização de scaffolds naturais.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 PROTOCOLO E REGISTRO

O protocolo de estudo foi registrado no Registro Internacional Prospectivo de Revisões Sistemáticas (PROSPERO) sob o número de registro CRD42020146425 (PAGE et al., 2018).

Esta revisão sistemática está em conformidade com os Itens de Relatórios Preferenciais para Revisões Sistemáticas e Meta-Análises (PRISMA). Como método de assegurar a qualidade metodológica do estudo, foi preenchido o checklist PRISMA para revisões sistemáticas (anexo B), (MOHER et al., 2009).

3.2 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE

Os critérios de inclusão para esta revisão sistemática foram estudos experimentais e estudos clínicos, em animais e humanos, que descreveram o uso de scaffolds naturais obtidos a partir de descelularização e recelularização da polpa dental. Nenhuma restrição quanto ao ano de publicação foi imposta. Nenhuma restrição quanto ao idioma foi imposta nas bases de dados pesquisadas para recuperação de artigos, mas foram considerados elegíveis textos em língua inglesa, espanhola, portuguesa e italiana por domínio linguístico dos pesquisadores envolvidos no trabalho. A pergunta PICO deste estudo foi a seguinte: “Quais são as melhores estratégias para descelularizar e recelularizar a polpa dentária a fim de produzir um scaffold natural para regeneração endodôntica?”

Essa pergunta deve responder aos quatro elementos metodológicos fundamentais:

P= População;

I= Intervenção;

C= Grupo controle ou sem intervenção e

O= Desfecho (outcome),

sendo:

- População: Polpas dentárias

- Intervenção: Estratégias de descelularização e recelularização da polpa dentária

- Grupo controle: Comparação entre os protocolos existentes

- Desfecho: Scaffold natural de polpa dental

3.3 BASES DE DADOS E FONTES DE INFORMAÇÃO

As bases de dados utilizadas para o estudo foram: PubMed/MEDLINE, Cochrane, Web of Science , Scopus, Scielo, Lilacs. A primeira busca nessas bases de dados foi realizada em julho de 2019 até maio de 2020 e seus resultados foram recuperados e armazenados no software de gerenciamento de referências Endnote. As listas de referências dos estudos selecionados também foram avaliadas para recuperar os artigos pertinentes dentro do escopo da revisão.

3.4 ESTRATÉGIAS DE BUSCA

Os unitermos científicos – os descritores Mesh - são determinados pela Biblioteca Nacional de Medicina dos Estados Unidos e usados para indexar artigos no Index Medicus e MEDLINE. Esses termos fazem parte do vocabulário utilizado para representação dos documentos da base de dados MEDLINE. A consulta dos unitermos em inglês pode ser feita no site do Pubmed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh>).

Para esta revisão foram adotados os seguintes termos para busca:

Tissue Engineering → Termos MeSH: *Tissue Engineering*;

Termos não MeSH :*Engineering, Tissue; Tissue Culture; Organ Culture Techniques; Organoids; Tissue Therapy, Historical; Tissue Expansion;*

Guided Tissue Regeneration; Investigative Techniques; In Vitro Techniques; Culture Techniques; Cell Engineering; Bioengineering; Cell Engineering Stem Cells → Termos MeSH: Stem Cells; Termos não MeSH: Cell, Stem; Cells, Stem; Stem Cell; Progenitor Cells; Cell, Progenitor; Cells, Progenitor; Progenitor Cell; Mother Cells; Cell, Mother; Cells, Mother; Mother Cell; Colony-Forming Unit; Colony Forming Unit; Colony-Forming Units; Colony Forming Units

Tissue Scaffolds → Termos MeSH: Tissue Scaffolds; Termos não MeSH: Scaffold, Tissue; Scaffolds, Tissue; Tissue Scaffold; Tissue Scaffolding; Scaffolding, Tissue; Scaffoldings, Tissue; Tissue Scaffoldings

Dental Pulp → Termos MeSH: Dental Pulp; Termos não MeSH: Pulp, Dental; Pulps, Dental; Dental Pulps

Regenerative Endodontics → Termos MeSH: Regenerative Endodontics; Endodontics; Regenerative Termos não MeSH: Endodontic, Regenerative; Endodontics, Regenerative; Regenerative Endodontic

Search strategy

- *(tissue engineering OR organ culture techniques OR organoids OR tissue therapy, historical OR tissue expansion OR guided tissue regeneration OR investigative techniques OR in vitro techniques OR culture techniques OR cell engineering OR bioengineering OR cell engineering OR engineering, tissue OR tissue culture) AND (stem cells OR cell, stem OR cells, stem OR stem cell OR progenitor cells OR cell, progenitor OR cells, progenitor OR progenitor cell OR mother cells OR cell, mother OR cells, mother OR mother cell OR colony-forming unit OR colony forming unit OR colony-forming units OR colony forming units) AND (tissue scaffolds OR scaffold, tissue OR scaffolds, tissue OR tissue scaffold OR tissue scaffolding OR scaffolding, tissue OR scaffoldings, tissue OR tissue scaffoldings) AND (dental pulp OR pulp, dental OR pulps, dental OR dental pulps) AND (regenerative endodontics OR endodontics OR endodontic, regenerative OR endodontics, regenerative OR regenerative endodontic).*

Essa estratégia de busca foi adaptada para buscas em *Web of Science* e *Scopus*.

3.5 PROCESSO DE COLETA DE DADOS

Os estudos foram carregados no Endnote Basic (www.my-endnoteweb.com) para construir uma biblioteca virtual.

Inicialmente dois autores independentes buscaram Títulos / resumos que preencheram os critérios de elegibilidade que foram incluídos na revisão sistemática. Para os títulos / resumos com informação insuficiente para uma decisão, o texto completo foi recuperado e avaliado. Os textos completos que preencheram os critérios de elegibilidade foram incluídos.

Todos os títulos e resumos de estudos encontrados foram avaliados independentemente por dois revisores previamente treinados (RNSA e PVTD) e calibrados para seleção do estudo ($Kappa = 0.75$), com base nos critérios de inclusão:

- (1) Estudos que adotaram a estratégia de descelularização da polpa dental como possibilidade de confecção de scaffold natural;
- (2) Estudos experimentais e estudos clínicos.

Em seguida, os dois revisores avaliaram o texto completo dos possíveis artigos elegíveis, considerando os critérios de exclusão:

- (1) Estudos que não especificaram os protocolos adotados de descelularização e recelularização pulpar;
- (2) Revisões de literatura;
- (3) Estudos clínicos não controlados.
- (4) Estudos que utilizaram scaffold de polpa dental para finalidades diferentes de regeneração endodôntica

Para cada estudo incluído, os seguintes dados gerais foram sistematicamente registrados por dois autores independentes (RNSA E PVTD): Detalhes da publicação (autores e ano), detalhes metodológicos (tipo de célula-tronco, tipo de scaffold, método adotado de descelularização pulpar) e avaliação de resultados.

Em ambas as fases, as discrepâncias entre os autores da revisão foram resolvidas por meio de discussão.

Todos os artigos duplicados identificados foram excluídos manualmente.

Estudos que relataram a descelularização de todo o órgão dentário e não destacaram os protocolos de descelularização pulpar para seu uso como scaffold natural e estudos que avaliaram um desfecho diferente de scaffold natural foram excluídos. Scaffolds naturais de polpa dental que foram desenvolvidos e testados para finalidades diferentes de regeneração endodôntica foram excluídos. Se dois estudos usaram o mesmo conjunto de dados de participantes e resultados, um foi excluído.

3.6 AVALIAÇÃO DO RISCO DE VIÉS NOS ESTUDOS INCLUÍDOS (*RISK OF BIAS*)

Dois autores da revisão (RA, ST) avaliaram o risco de viés nos estudos incluídos, de acordo com as diretrizes fornecidas no Capítulo 8 do Manual Cochrane de Revisões Sistemáticas de Intervenções (Higgins 2011). Qualquer desacordo foi resolvido por discussão com um terceiro autor da revisão (CC).

O risco de viés dos estudos experimentais foi baseado nas estratégias utilizada nos estudos de Fukushima et al.(2019) e Del Fabro et al. (2016), que usaram o sistema ARRIVE (*Animals in Research: Reporting In Vivo Studies Experiments*) , diretrizes para experimentos em animais em revisão sistemática para avaliar viés e outros critérios de estudos em animais, com modificações. Essa ferramenta levou em consideração os seguintes parâmetros: ética (natureza da revisão ética, permissões e diretrizes nacionais ou institucionais para o cuidado e uso de animais); procedimentos experimentais (detalhes precisos de todos os procedimentos realizados); dados experimentais em animais (detalhes dos animais utilizados, incluindo espécies, estágio de desenvolvimento ou idade média, tipo de dentes e diagnóstico); cálculo do tamanho da amostra; dados quantitativos (análise estatística de dados quantitativos dos estudos); Dados qualitativos / Ocultação da avaliação de resultados (cegueira em estudos que apresentam

dados qualitativos) e integridade das informações.

Para estudos laboratoriais, foi adotada uma avaliação de qualidade com adaptações usada em revisões sistemáticas anteriores (Sarkis-Onofre et al. 2014, Rosa et al. 2015, Silva et al. 2018). Para a avaliação da qualidade dos estudos laboratoriais incluídos, foram considerados os seguintes parâmetros: (i) cálculo do tamanho da amostra, (ii) amostras com dimensões semelhantes, (iii) grupo controle, (iv) padronização de procedimentos, (v) análise estatística e (vi) outro risco de viés.

3.7 ESTRATÉGIA PARA SÍNTESE DE DADOS E RESULTADOS

Cada estudo recuperado foi caracterizado quanto ao ano e local de publicação, origem de tecidos pulpares utilizados (humano ou animal) e tipo de célula utilizada para recelularização, bem como sua aplicação in vivo ou in vitro.

Uma síntese narrativa dos achados dos estudos estruturada em torno dos protocolos de intervenção, características da população alvo (polpas dentais) e discussão de resultados foi feita.

Devido ao escopo limitado para meta-análise relacionado à heterogeneidade dos estudos, variedade de resultados e do pequeno número de ensaios, esta é uma revisão sistemática qualitativa.

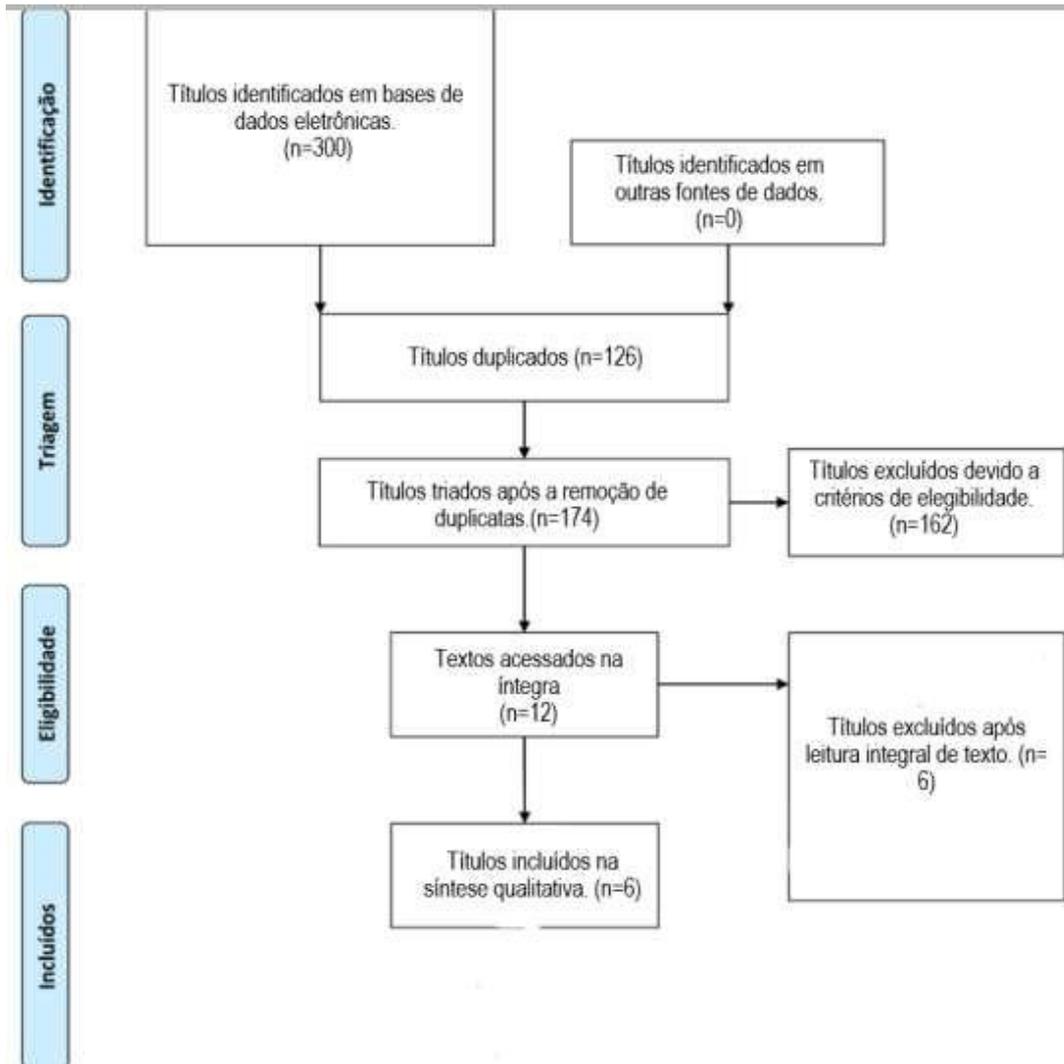
4 RESULTADOS

Um total de 300 referências foi recuperado nas bases de dados eletrônicas pesquisadas até maio de 2020, com primeira pesquisa realizada em julho de 2019. Após a remoção das duplicatas (126), 174 títulos / resumos foram avaliados pelos dois revisores independentes, calibrados de acordo com os critérios de elegibilidade (PVTD e RNSA). O exercício de calibração foi realizado com uma amostra de 20% dos estudos recuperados. O resultado do processo de calibração demonstrou um nível de concordância substancial entre os revisores ($\kappa = 0.75$).

Em seguida, todos os títulos / resumos foram lidos na fase 1 pelos revisores de forma independente. Doze estudos foram selecionados para a

leitura de texto completo na fase 2 e seis foram incluídos na presente revisão sistemática. As referências excluídas na fase 2 e os motivos da exclusão são exibidos no apêndice A. Um diagrama de fluxo da revisão sistemática foi fornecido na Figura 1, conforme a metodologia PRISMA.

Figura 1- Itens de relatório preferenciais para diagrama sistemático de análises sistemáticas e metanálises, mostrando o processo de seleção do estudo na revisão sistemática.



Fonte: Elaborado pelo autor (2021)

4.1 RESULTADOS DOS ESTUDOS INDIVIDUAIS

Os protocolos adotados por cada autor para descelularização de polpa dental, os tipos de células utilizados para sua recelularização, tamanho da amostra e principais resultados podem ser encontrados nas tabelas 1 e 2.

Tabela 1: Scaffolds Baseados em polpas dentarias humanas para revitalização endodôntica

Autor	Métodos de descelularização	Recelularização/ Tipos de células	Tamanho e origem da amostra	Exames realizados	Resultado
MATOUG-ELWERFELLI et al., (2018)	Solução hipotônica Tris-buffer (10mM TRIS e inibidores de protease +0,1% EDTA e aprotinina (10 KIU mL ⁻¹) e 0,03% SDS	Células tronco de polpa dental humana (DPSC)	Polpas inteiras de pré-molares humanos com idade de 11 a 30 anos, recuperadas até 48 horas após extração. n= (4)	Métodos histológicos e imuno-histoquímicos, microscópio eletrônico de varredura e Ensaio de quantificação de DNA.	Matriz acelular com preservação da histoarquitetura e composição do tecido natural. Os tecidos descelularizados não mostraram evidência de citotoxicidade, com crescimento em contato direto com o scaffold e sem redução da atividade celular após a incubação do extrato. O scaffold foi capaz de apoiar a viabilidade e fixação de células-tronco da polpa dental humana após recelularização.
SONG et al., (2017)	Testados 3 protocolos sendo eles: 1) 2% Triton X- 100 e 0,1% NH4OH, por 72h 2) Hypertonic buffer (0,01 M Tris- HCl e 1mm EDTA) por 48 h Seguido por 3 ciclos de: 1% SDS por 24 h e 1% Triton X- 100 por 24 h 3) 1 ciclo: 1% SDS por 24h +1% TRITON X- 100 por 24	Recelularização foi conduzida por células tronco da papila apical humana (SCAP)	Fatias de dente (discos de polpa-dentina, 1,5 mm de espessura) extraídos de terceiros molares de jovens entre 17 e 25 anos de idade. n= (8 /cada grupo)	Análise de Microscópio Eletrônico de Varredura Coloração histológica e imuno-histoquímica	Protocolo 2 de descelularização: Eliminação mais eficaz dos componentes celulares do complexo dentina- polpa comparada a 1 e 3. Posterior avaliação das amostras geradas com este protocolo demonstrou que a ECM foi preservada em sua morfologia e composição. SCAP semeadas sobre este scaffold mostraram fixação 3-dimensional e proliferação. A recelularização do scaffold apoiou a proliferação de SCAP com diferenciação em células semelhantes a odontoblastos próximos a paredes de dentina. A polpa dentaria humana saudável pode ser descelularizada com sucesso, e os scaffolds apoiam a proliferação e diferenciação do SCAP.

Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

Tabela 2- Scaffolds Baseados em polpas dentarias de animais para revitalização endodôntica

Autor	Métodos de descelularização	Recelularização/ Tipos de células	Tamanho e origem da amostra	Exames realizados	Resultado
HU et al., (2017)	Dodecilsulfato de sódio a 10% (SDS) combinado com 1% Triton X-100 a 25°C por 2h.	Células tronco de polpa dental humana (DPSC)	Polpas dentais de oito suínos de 12 meses de idade. Quatro dentes decíduos anteriores da mandíbula de cada suíno foram extraídos e cortados ao seu longo eixo , para adquirir as polpas dentais. As polpas foram isoladas e descelularizadas. n=(32)	Histológico e Imunológico	Excelente preservação da MEC. Os tecidos mineralizados recém-formados foram regenerados após serem transplantados in vivo. A coloração imunofluorescente mostrou que proteínas ECM, Col-IV, laminina, fibronectina, intergrin 1 e vimentina foram retidas na polpa descelularizada , e eram semelhante à polpa nativa. Exceção a vimentina, que foi diminuída na polpa descelularizada.
				Microscópio eletrônico de varredura	A microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi utilizada para investigar a microestrutura da polpa dentária decelularizada. Resultados indicam preservação dos componentes celulares da matriz extracelular e das estruturas naturais.
ALQAHTANI et al., (2018)	0.02% Trypsin, 0.05% EDTA a 37°C por 1 h. 3% Triton X-100 por 30 min Seguido por 4% de ácido deoxycholic por 30 min.	Células tronco de polpa dental humana (DPSC)	Polpas extirpadas de molares de suínos de 6 meses de idade n=(3)	Histológico ,Imunológico e ensaio imunossorvente ligado a enzima, ensaio PicoGreen, Tomografia microcomputada.	A decelularização foi considerada bem-sucedida quando nenhum núcleo intacto era visível nas seções histológicas de H&E ou DAPI. A MEC reteve suas proteínas e uma quantidade significativa de fatores de crescimento. MEC descelularizado suporta a infiltração celular juntamente com a expressão de polpa-dentina e marcadores vasculares (DSP e CD31) em comparação com os controles.
Backhtiar et al., (2020)	0.01% SDS por 48h ,0.02% trypsin e 0.05% EDTA.	As células-tronco mesenquimais da medula óssea humana (hBMSCs)	Tecido pulpar bovino. Seis grupos experimentais foram preparados: scaffolds não reticulados de 1,50, 2,25, 3,00 mg / ml e scaffolds reticulados de 1,50, 2,25 e 3,00 mg / ml.	Histológico e análise de DNA.	A análise histológica e de DNA confirmaram a descelularização completa. A diferenciação odontogênica foi maior quando as células foram cultivadas em scaffolds de 3,00 mg / ml. As características físicas e celulares avaliadas neste estudo destacaram o potencial do scaffold Cross-linked de 3,00mg / ml ECM para regeneração de polpa dentaria.. O exame histológico dos suportes implantados subcutâneos revelou baixa resposta imunológica e angiogênese aumentada em amostras reticuladas em comparação com amostras não reticuladas.
CHEN et al., (2015)	1% sodium dodecyl sulphate (SDS) por 12 h e 1% Triton X-100 por 30 min.	Células estaminais do folículo dentário humanas (h-DFCs)	Primeiro e segundo dentes incisivos de suínos e germes de segundo e terceiro molares (M2 e M3, respectivamente) foram colhidas dos suínos em miniatura de 28 semanas de idade.	Análise imunofluorescente, imunohistoquímica	Os tecidos regenerados do tipo PDL foram positivos para os marcadores relacionados ao ligamento periodontal , Col-1, Col-3 , periostina e DSPP. Os tecidos semelhantes à polpa dentária também foram positivos para Col-1 , Col-3 , DMP-1 e DSPP com padrões de expressão em tecidos pulpares nativos.

Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

4.1.1 Caracterização dos Estudos

Os 6 artigos incluídos nesta revisão foram publicados entre 2015 e 2020, são estudos experimentais em animais e estudos laboratoriais e foram desenvolvidos por universidades dos seguintes países: EUA (ALQAHTANI et al., 2018 e SONG et al., 2017), UK (MATOUG-ELWERFELLIET et al., 2018), China (CHEN et al., 2015 e HU et al., 2017), Canadá (BAKHTIAR et al., 2020).

Em relação a origem dos tecidos de polpa dental, SONG et al., (2017), MATOUG-ELWERFELLIET et al., (2018) usaram polpas dentais humanas para o desenvolvimento de seus estudos, enquanto ALQAHTANI et al., (2018) e HU et al., (2017) e CHEN et al., (2015) fizeram uso de polpas dentárias de suínos e BAKHTIAR et al. (2020) polpa dentária de bovinos.

Quanto a aplicabilidade dos scaffolds desenvolvidos, todos os autores incluídos SONG et al., (2017), MATOUG-ELWERFELLIET et al., (2018), ALQAHTANI et al., (2018), HU et al., (2017) e CHEN et al., (2015), BAKHTIAR et al., (2020) avaliam o uso da DP-MEC como possibilidade terapêutica para regeneração endodôntica.

Os autores HU et al., (2017) fizeram implantação in vivo dos scaffolds em ratos para avaliar a proliferação celular e viabilidade dos mesmos, ALQAHTANI et al., (2018) fizeram seus testes em cachorros da raça beagle, Chen et al. (2015) em ratos e porcos, Song et al., (2017) e Matoug et al., (2018) fizeram suas avaliações in vitro. BAKHTIAR et al., (2020) fizeram testes in vivo em ratos e in vitro.

4.1.2 Descelularização de Polpa Dentária

A possibilidade de descelularizar polpas dentárias saudáveis abre novos horizontes na odontologia regenerativa, uma vez que esses tecidos descelularizados podem servir como suportes naturais para apoiar DMSCs transplantados (CHEN et al., (2015), SONG et al., (2017), MATOUG-ELWERFELLI et al., (2018), HU et al., (2017), BAKHTIAR et al., (2020).

Crapo e colaboradores sugeriram que para um tecido ser considerado descelularizado ele deveria seguir os seguintes pontos: possuir quantidade de DNA de dupla fita menor que 50 ng por mg de peso seco de tecido; ter

fragmentos de DNA menores que 200 pares de bases; e ausência de material nuclear visível nas colorações de DAPI ou H&E (CRAPO et al., 2011).

CHEN et al., (2015) relataram descelularização bem sucedida de tecidos pulpares utilizando 1% de dodecilsulfato de sódio (SDS) e 1% Triton X-100, em polpas de animais (suínos). Protocolo semelhante ao utilizado por SONG et al., (2017) em polpas humanas.

Os autores SONG et al., (2017) compararam três protocolos de descelularização de fatias de polpa dental humana e o melhor protocolo avaliado foi de 3 ciclos de SDS a 1% + Triton X-100 a 1% para garantir a descelularização máxima e o comprometimento mínimo da composição e organização da MEC.

Os pesquisadores MATOUG-ELWERFELLI et al., (2018) publicaram pela primeira vez na literatura um artigo considerando a descelularização de toda a polpa dental humana, não apenas fragmentos. O tecido foi processado de acordo com um protocolo previamente descrito por WILSHAW et al., (2006) para membrana amniótica humana; usando solução hipotônica de Tris-buffer (10mM TRIS e inibidores de protease + [0.1% EDTA e aprotinina (10 KIU mL⁻¹)] e 0.03% SDS, enxaguado em Tris - buffered salina e Tris- ácido clorídrico (50 nM) eDnase (50 U/mL) + Rnase (1U/ML U/mL) + Rnase (1U/ML). Seu resultado foi um scaffold de polpa dental (DP-MEC) preservando a histoarquitetura / composição da polpa dentária e apoiando a viabilidade e proliferação das células-tronco da polpa dentária humana.

HU et al., (2017) investigaram as características da MEC de polpa dental descelularizada de suínos e avaliaram se poderiam mediar a regeneração da polpa. Em estudos anteriores em humanos a polpa foi descelularizada juntamente com a fatia do dente, como a polpa dental suína é maior que a polpa humana e inadequada para esse processo de descelularização, os autores fizeram a descelularização da polpa suína após a sua extração do canal radicular. As polpas dentárias foram adquiridas a partir dos dentes anteriores inferiores da mandíbula de suínos com 12 meses de idade e descelularizados com 10% de dodecilsulfatosódio (SDS) combinado com Triton X-100.

BACKHTIAR et al., (2020), fizeram a descelularização de tecidos pulpares de bovinos para obtenção de scaffolds MEC. O tecido pulpar foi extraído dos dentes de bovinos e mantido em gelo seco enquanto transportado

para o laboratório para evitar lise celular e danos na matriz. As amostras foram lavadas em (PBS) e mantidas a -80° C durante a noite e posteriormente descongeladas e divididas em segmentos de 5×5 mm. As amostras foram lavadas com água desionizada dupla em quatro ciclos de 15 minutos, seguidas de uma hora de lavagem com tripsina 0,02% (T4799-5G, Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA), ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) 0,05% (Master-dent, Dentonics Inc, EUA) em PBS (Invitrogen, 21600-051, Carlsbad, Califórnia, EUA) no agitador e então, lavadas com dodecilsulfato de sódio a 0,1% p / v (SDS, Sigma-Aldrich L4390) por 48 h em quatro ciclos de 12 h. Em seguida, foram lavadas por 24 h usando água desionizada dupla (trocada a cada hora) para remover o SDS residual.

Os autores ALQAHTANI et al., (2018) afirmam sucesso ao obter MEC descelularizada derivada de polpa dental suína. Para a descelularização, o tecido de polpa foi triturado por lâminas de bisturi ($<2 \times 2$ mm) e a proporção de tecido de volume de líquido foi de 1:20 para melhor lavagem de tecidos. O tecido da polpa triturada foi submetida a tratamento com 0,02% de tripsina, 0,05% de EDTA a 37° C durante 1 h. Em seguida, o tecido foi colocado em uma incubadora sob vácuo de 60 a 80 mm Hg. O tecido foi tratado com 3% de Triton X-100 durante 30 min e, em seguida, com ácido desoxicólico 4% durante 30 min. O tecido foi lavado 3 vezes com água desionizada destilada durante 20 min / lavagem. Após este procedimento, o tecido foi tratado com ácido peracético a 0,1% (PAA), em 4% de etanol (EtOH), durante 30 min. Uma lavagem final com PBS foi realizada durante 2 dias a 4° C, em que PBS foi trocado a cada 12 h. A MEC reteve suas proteínas e uma quantidade significativa de fatores de crescimento. Os autores afirmam por este estudo a viabilidade de produzir um *scaffold* de polpa dental descelularizada (DP-MEC) e encorajam seu uso para regeneração da polpa dental.

Os principais métodos de descelularização, bem como o modo de ação dos agentes e efeitos na MEC dos trabalhos selecionados podem ser apreciados na tabela 3.

Tabela 3: Principais métodos de descelularização, modo de ação e efeitos na MEC.

Metodo de descelularização	Modo de ação	Efeitos na MEC	Estudos selecionados que utilizaram
Detergente não iônico Triton X-100	Quebra as ligações lipídio-lipídio e proteína-lipídio, deixa as ligações proteína-proteína intactas.	Seu mecanismo de ação rompe as ligações lipídio-lipídio e lipídio-proteína, mas mantém as ligações proteína-proteína, assim são chamados de relativamente não-desnaturantes, deixando as proteínas do tecido em uma conformação funcional	SONG et al;(2017), HU et al; (2017), CHEN et al; (2015); ALQAHTANI et al., (2018).
Detergente iônico SDS	Solubiliza o citoplasma e membranas celulares nucleares; tendem a desnaturar proteínas.	Remove remanescentes nucleares e proteínas citoplasmáticas; tende a romper a estrutura do tecido nativo, remove GAGs e danifica o colágeno. Eficaz para solubilização da membrana celular e nuclear.	SONG et al; (2017), HU et al; (2017), CHEN et al; (2015); BACKHTIAR et al., (2020); MATOUG-ELWERFELLI et al., (2018) .
Soluções hipotônicas e hipertônicas	Lise celular por choque osmótico.	Eficiente para lise celular, mas não remove com eficácia os remanescentes celulares.	MATOUG-ELWERFELLI et al., (2018) ; Song et al.,(2017).
Agentes quelantes: EDTA	Agente quelante que se liga a íons metálicos divalentes , interrompendo assim a adesão celular a MEC.	Sem exposição isolada, normalmente usado com métodos enzimáticos (por exemplo, tripsina)	BACKHTIAR et al., (2020); MATOUG-ELWERFELLI et al., (2018) ; ALQAHTANI et al., (2018), SONG et al., (2017).
Enzima Tripsina	Cliva ligações peptídicas no lado C de Arg e Lys	A exposição prolongada pode perturbar a estrutura da MEC, remove laminina, fibronectina, elastina e GAGs	BACKHTIAR et al., (2020); ALQAHTANI et al., (2018)

Endonucleases	Catalisa a hidrólise do interior de ligações de ribonucleotídeos e cadeias de desoxirribonucleotídeos	Difícil de remover do tecido e pode desencadear uma resposta imunológica	HU et al.,(2017), MATOUG-ELWERFELLI et al., (2018), BACKHTIAR et al., (2020)
Agitação Mecânica	Pode causar lise celular, mas mais comumente usado para facilitar a exposição química e remoção de material celular	Agitação agressiva ou sonicação pode atrapalhar a MEC conforme o material celular é removido	SONG et al(2017); MATOUG-ELWERFELLI et al., (2018) ; HU et al., (2017), BACKHTIAR et al., (2020).
Aprotinina e coquetéis inibidores de proteases	Inibidora de proteases (Ser, Cys, Asp e metalopeptidases)	Durante o rompimento das células devido a solubilização das membranas pelo SDS, ocorre liberação de proteases que podem provocar danos na ultraestrutura da matriz extracelular. Coquetéis de inibidores de proteases, impedem a degradação de proteínas da matriz.	MATOUG-ELWERFELLI et al., (2018), SONG et al., (2017).

Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

4.1.3 Recelularização do scaffold obtido

Os autores HU et al., (2017) conduziram a regeneração pulpar pela semeadura de células-tronco da polpa dental humana em polpa descclularizada e transplantadas subcutaneamente em camundongos *Balb/c nude* por 8 semanas. A polpa descclularizada demonstrou forma e estrutura naturais preservadas sem nenhum componente celular. A coloração H&E mostrou que tecidos semelhantes à polpa foram regenerados na matriz recelularizada, que era rica em tecidos fibrosos em 70% da área total. Estruturas semelhantes às vasculares também foram encontradas no tecido pulpar regenerado. Assim, os autores concluem que a polpa dental suína descclularizada mantém componentes da MEC favorecendo a proliferação e diferenciação de células-tronco.

Proteínas naturais da matriz extracelular tem importantes funções no reparo e regeneração tecidual (Hu et al., 2017). No estudo de Hu et al.,(2017)

diferentes proteínas de matriz têm padrões de expressão específicos. Col-IV e laminina foram expressas em membranas basais derivadas de vasos vasculares e envolvidas na formação de vasos sanguíneos. A expressão de Col-IV e laminina foi concentrada na região da membrana basal do tipo vascular, sugerindo que essas duas proteínas podem participar da regeneração vascular da polpa. A fibronectina e a integrina foram amplamente expressas, sugerindo que essas duas proteínas estavam envolvidas na manutenção da estrutura bruta da polpa. A vimentina foi expressa principalmente na camada odontoblástica e pode estar relacionada à diferenciação odontoblástica e formação de dentina.

ALQAHTANI et al., (2018) utilizaram células tronco de polpa dentária humana (DPSC) para a recelularização dos scaffolds MEC. Os autores realizaram um estudo piloto *in vivo*, em que o scaffold de polpa dental foi implantado por 8 semanas em um modelo de canal radicular canino (canais radiculares desbridado de molares e pré-molares de cães da raça beagle). Os resultados desse estudo mostram que a MEC descelularizada suporta a infiltração celular juntamente com a expressão de marcadores vascular e de polpa-dentina (CD31 e DSP) comparados aos controles.

BACKHTIAR et al., (2020) avaliaram a proliferação celular dos scaffolds utilizando células tronco mesenquimais da medula óssea humana (hBMMSCs). A viabilidade celular mais alta e proliferação de hBMMSCs foi observada nos scaffolds reticulados de 3,00 mg / ml. A análise da expressão gênica mostrou um aumento significativo de *dmp-1* e colágeno-I em scaffolds reticulados de 3,00 mg / ml em comparação com os outros scaffolds. O exame histológico dos suportes implantados subcutâneos revelou baixa resposta imunológica e angiogênese aumentada em amostras reticuladas em comparação com amostras não reticuladas. As células-tronco mesenquimais têm um tamanho médio de 30 *mm* (GE et al., 2014); portanto, os tamanhos de poros estabelecidos para os scaffolds (60-90 *mm*) são considerados adequados para proliferação e diferenciação de células-tronco mesenquimais. (BACKHTIAR et al., 2020)

MATOUG-ELWERFELLI et al., (2018) realizaram a recelularização *in vitro* de 3 scaffolds de polpa humana descelularizada usando DPSC com a densidade de 5.5×10^4 cells mL⁻¹ (1×10^4 cells), estas amostras foram

semeadas dinamicamente durante 24 h. A viabilidade dos DPSCs humanos semeados no meio descelularizado foi avaliado após 7 e 14 dias de cultura e resultados mostraram que os scaffolds recelularizados foram capazes de sustentar o crescimento e proliferação de DPSCs em cultura.

SONG et al., (2017) conduziram a recelularização *in vitro* dos scaffolds obtidos, por células tronco da papila apical humana (SCAP). A recelularização mostrou proliferação de SCAP em todo o *scaffold* e diferenciação em odontoblastos perto das paredes dentinárias, além da capacidade do *scaffold* de apoiar a proliferação e diferenciação de células-tronco humanas da papila apical.

Os autores, CHEN et al., (2015) conduziram a recelularização através de células tronco do folículo dentário humanas (h-DFCs). Polpas dentárias nativas da matriz extracelular (DPEM) implantadas *in vivo* sem DFCs em camundongos *Balb/c nude* apresentaram remodelação e revascularização sem necrose no centro. Os vasos sanguíneos formados na DPEM asseguraram que as células infiltradas recebessem oxigênio e nutrientes suficientes e se beneficiaram das arquiteturas de vasos preservados. Em relação a implantação de DFSCs em DPEM, não houve diferenciação osteogênica ou odontogênica. Resultado que, segundo os autores, possivelmente, se deve ao menor tempo de cultura (SCAP).

4.2 RISCO DE VIÉS

A avaliação do risco de viés dos estudos inclusos nessa revisão sistemática pode ser apreciada nas tabelas 3 e 4.

Todos os estudos incluídos *in vivo*/ *in vitro* tiveram respaldos éticos para seu desenvolvimento e descreveram os procedimentos experimentais com detalhes precisos dos procedimentos realizados. Os estudos que apresentaram dados qualitativos não apresentaram cegamento na avaliação dos resultados.

Todos os estudos realizaram análises estatísticas dos seus resultados quantitativos.

Todos os estudos foram classificados como “baixo risco de viés” de acordo com os critérios adotados.

Tabela 4: Risco de viés em estudos laboratoriais.

Estudo	Cálculo do tamanho da amostra	Amostras com dimensões semelhantes	Grupo controle	Padronização de procedimentos	Análise estatística realizada	Descrição do procedimento experimental	Outros riscos de viés	Ítems da avaliação de qualidade atendidos / avaliados	Risco
SONG et al., 2017	1	1	1	1	1	1	1	7/7	Baixo
MATOUG-ELWERFELL et al., 2018	-	1	1	1	1	1	1	6/7	Baixo

Tabela 5: Risco de viés de estudos experimentais em animais.

Estudo	Ética	Descrição do procedimento experimental	Descrição do experimento animal	Análise de dados quantitativos	Dados qualitativos/ ocultação da avaliação de	Dados de resultados incompletos (viés de atrito)	Ítems de avaliação da qualidade / Atendidos	Risco
Chen et al., (2015)	1	1	1	1	-	1	5/5	Baixo
Hu et al. (2017)	1	1	1	1	--	1	5/5	Baixo
Alqahtani et al. (2018)	1	1	1	1	-	1	5/5	Baixo
Bakhtiar et al., (2020)	1	1	1	1	-	1	5/5	Baixo

Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

- Não se aplica

0 Não cumpriu com o ítem avaliado

1 Cumpriu com o ítem avaliado

5 DISCUSSÃO

Os Scaffolds ideais para engenharia de tecidos são biocompatíveis, e direcionam a proliferação, migração, adesão e diferenciação celular adequada no tecido alvo (CHEN et al., (2015), HU et al., (2017), SONG et al., (2017), MATOUG-ELWERFELLI et al., (2018) , ALQAHTANI et al., (2018), BACKHTIAR et al., (2020). Conforme o uso de scaffolds descelularizados tem crescido em popularidade, os métodos de descelularização foram adaptados para preservar MECs específicas de cada tipo de tecido (Guyette et al. 2014).

De acordo com a estrutura da MEC a ser descelularizada, tratamentos físicos, químicos e enzimáticos foram desenvolvidos. A membrana celular é rompida através de um processamento físico, como a agitação, pressão, congelamento, descongelamento para assim, liberar o conteúdo celular. Para quebrar as conexões extracelulares é necessária a utilização de tratamentos químicos, com soluções básicas, ácidas, solventes orgânicos, agentes quelantes, soluções hipotônicas ou hipertônicas. Para clivar as ligações de peptídeos e nucleotídeos, tratamentos enzimáticos com proteases e nucleases, são utilizados (HOSHIBA et al., 2010).

Os processos que ocorrem para que se possam utilizar as membranas extra-celulares são descelularização, desinfecção e esterilização, métodos que podem influenciar determinantemente a resposta de remodelação do tecido e seu resultado funcional (SCHANER et al., 2004). Geralmente, tais protocolos são adequadamente combinados para potencializar o efeito da descelularização (HOSHIBA et al., 2010).

A tabela 6 mostra os protocolos simplificados de descelularização (detergente utilizado, enzima, agente quelante) adotados pelos estudos selecionados, agrupados por autor, a fim de facilitar o entendimento das semelhanças de cada estudo.

Tabela 6: Protocolos de reagentes de descelularização agrupados por autor.

Protocolo	SDS + Triton x	SDS + TRIPSINA + EDTA	SDS + APROTININA + EDTA	Triton+ Tripsina + EDTA
Autores	Song et al; (2017), Hu et al; (2017), Chen et al; (2015)	Backhtiar et al., (2020)	MATOUG-ELWERFELLI et al., (2018)	ALQAHTANI et al., (2018)

Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

5.1 O PAPEL DE SOLUÇÕES HIPOTÔNICAS E HIPERTÔNICAS

Soluções hipotônicas e hipertônicas promovem lise de células por choque osmótico e rompem ligações DNA-proteína com mínimo efeito na MEC e na arquitetura original do órgão (CRAPO, GILBERT, BADYLACK 2011).

MATOUG-ELWERFELLI et al., (2018) utilizaram a solução hipotônica Tris- buffer (10 mM Tris e inibidores de proteases + 0,1% EDTA e aprotinina). As proteases foram utilizadas para clivar as ligações de peptídeos enquanto a solução hipertônica promoveu lise de células por choque osmótico e ruptura de ligações DNA-proteína.

Song et al., (2017), por sua vez, utilizaram uma solução hipertônica (0,01 M Tris- HCL e 1mm EDTA) para esse fim.

5.2 DETERGENTES IÔNICOS E NÃO IÔNICOS

Os detergentes iônicos e não iônicos estão entre os métodos mais comumente utilizados, uma vez que são detergentes bastante fortes e capazes de romper completamente a membrana celular. Dodecil Sulfato de Sódio (SDS) e Triton-X são muito utilizados nos protocolos de descelularização, visto que dissolvem com eficácia as membranas e lipídeos da célula (KEANE et al., 2015). O SDS, detergente iônico, foi utilizado em protocolos de descelularização dos autores CHEN et al., (2015), HU et al., (2017), SONG et al., (2017), MATOUG-ELWERFELLI et al., (2018), BACKHTIAR et al., (2020), em diferentes concentrações (Tabela 1).

O SDS é considerado um detergente eficaz para solubilização da

membrana celular e nuclear. Entretanto, existem preocupações quanto ao potencial de toxicidade ao tecido em que o detergente é utilizado. (Kheir et al. 2011).

SHUPE et al.; (2010) analisaram características de metodologias de descelularização de tecidos e concluíram que, muitas vezes, apenas um agente descelularizante não é capaz de fazer a completa remoção celular, existindo a necessidade de complementação com um outro agente.

Os autores SONG et al., (2017), HU et al., (2017) e CHEN et al., (2015) utilizaram a combinação dos detergentes SDS + Triton-X para dissolver as membranas e lipídeos das células para obtenção de seus scaffolds. Quanto a concentração desses detergentes, SONG et al., (2017) e CHEN et al., (2015) utilizaram 1% de SDS e 1% de Triton X 100 enquanto HU et al., (2017) utilizaram 10% de SDS e 1% Triton X 100.

Para minimizar os efeitos adversos sobre os constituintes da matriz remanescente do tecido descelularizado, protocolos que usam SDS idealmente aplicam múltiplas etapas de lavagens com baixa concentração e curto período de tempo de exposição. O tempo de exposição e número de ciclos foram diferentes nos estudos de SONG et al., (2017) e CHEN et al., (2015), apesar de utilizarem a mesma concentração dos detergentes. SONG et al., (2017) fizeram 3 ciclos de 24 horas de exposição ao SDS e 1 ciclo de exposição ao Triton-X 100, enquanto o tempo de exposição utilizado por CHEN et al., (2015) foi de 12 horas para SDS e Triton X-100 por 30 minutos. HU et al., (2017) submeteram sua amostra à solução de 10% SDS e 1% Triton X por 32 horas, com a solução trocada a cada 8 horas.

ALQAHTANI et al., (2018) não fizeram uso do detergente iônico SDS no seu estudo. Os autores combinaram 0,02% Tripsina e 0,05% de EDTA ao tempo de exposição de 1 hora acrescido de 3% de Triton X-100 para a descelularização das polpas dentais. A tripsina é uma enzima utilizada comumente em protocolos de descelularização e sua interação com o tecido biológico pode causar alteração no conteúdo de colágeno, laminina, fibronectina e GAGs. Assim, o tempo de exposição do tecido ao agente é um fator decisivo para o sucesso do processo de descelularização (Fu et al 2014, Hrebikova, Diaz, Mokry , 2013).

O detergente não iônico Triton X-100 foi utilizado em diferentes

concentrações pelos autores CHEN et al., (2015), HU et al., (2017), SONG et al., (2017), ALQAHTANI et al., (2018). O Triton X-100 é relatado como sendo mais eficaz em remoção celular de tecidos finos mas alguma interrupção da ultraestrutura e remoção de GAGs foram relatadas na literatura (Gilbert et al. 2006, Crapo et al. 2011). Detergentes não iônicos geralmente tem um efeito mínimo sobre a estrutura do tecido (Gilbert, Sellaro, Badylak 2006). Seu mecanismo de ação rompe as ligações lipídio-lipídio e lipídio-proteína, mas mantém as ligações proteína-proteína, assim são chamados de relativamente não- desnaturantes, deixando as proteínas do tecido em uma conformação funcional (SEDDON, CURNOW, BOOTH, 2004).

Os autores MATOUG-ELWERFELLI et al., (2018) defendem que o uso de SDS a 0,03% em tampão por 24 h e tratamento enzimático por nuclease, são capazes de descelularizar a polpa dentária humana sem utilizar o Triton X.

Backhtiar et al., (2020) também seguiram um protocolo de descelularização sem a utilização de Triton X, em polpa dentária bovina. Os autores fizeram uso de SDS a 0,01% por 48 h, juntamente com tripsina a 0,02% e EDTA a 0,05%, o que levou à preservação da estrutura da MEC, eliminando completamente os componentes celulares. A quantidade de GAG e colágeno preservados, demonstraram um protocolo eficaz na manutenção de importantes componentes da MEC.

5.3 TRATAMENTOS QUÍMICOS E ENZIMÁTICOS

O uso de tratamentos somente enzimáticos remove resíduos celulares, porém, a completa remoção celular é difícil e pode induzir a uma resposta imune (CRAPO, GILBERT, BADYLAK, 2011).

O EDTA foi utilizado nos protocolos de ALQAHTANI et al., (2018), MATOUG-ELWERFELLI et al., (2018) e Backhtiar et al., (2020) como agente quelante, para quebrar conexões extracelulares, atuando na dissociação de células das proteínas da MEC por sequestrar íons metálicos, removendo Ca^2 e Mg^2 , que são responsáveis por estabilizar proteínas de adesão das células ao colágeno e a fibronectina na matriz (Gailit and Ruoslahti, 1988; Gilbert et

al; 2006). O EDTA é geralmente utilizado em associação com outros agentes, pois são insuficientes para remover células superficiais (CRAPO, GILBERT, BADYAK, 2011). O tratamento enzimático de tripsina / EDTA pode ser adicionado antes do tratamento com detergente para ajudar a quebrar as ligações entre as membranas celulares e a MEC (GILBERT et al., 2006, e foi utilizado nos estudos de ALQAHTANI et al., (2018) e BACKTIAR et al., (2020).

A associação de tratamento enzimático (tripsina), agente quelante (EDTA) e detergente não iônico (Triton X) resultou em uma descelularização considerada bem sucedida por ALQAHTANI et al., (2018), uma vez que nenhum núcleo intacto era visível nas sessões histológicas DAPI ou H&E. A MEC reteve suas proteínas e uma quantidade significativa de fatores de crescimento. Os resultados do PicoGreen confirmaram que o DP- MEC tiveram significativamente menos resíduos de cadeia dupla de DNA comparado ao tecido pulpar nativo.

Para atingir o requisito padrão de menos de 50 ng de DNA residual por miligrama de tecido seco (Brown et al. 2011), marcador para a eficácia da descelularização, os autores realizaram várias modificações no protocolo original: Aplicar pressão de vácuo permitiu uma melhor penetração do tecido em comparação ao tratamento apenas com ácidos e detergentes (Gilbert et al. 2006).

Para o processo de descelularização é comum a utilização de inibidores de proteases (Ser, Cys, Asp e metalopeptidases), como aprotinina, utilizada por MATOUG-ELWERFELLI et al., (2018), e leupeptina. Durante o rompimento das células devido a solubilização das membranas pelo SDS, ocorre liberação de proteases que podem provocar danos na ultraestrutura da matriz extracelular (Gilbert et al., 2006). Com isso, é interessante utilizar coquetéis de inibidores de proteases, a fim de impedir a degradação de proteínas da matriz.

O grau de descelularização influencia a capacidade regenerativa da MEC. Protocolos de descelularização severos podem tornar a MEC citotóxica, devido ao efeito residual dos agentes descelularizantes na MEC. Portanto, é necessário um protocolo de descelularização otimizado para fornecer potencial regenerativo adequado.

Backhtiar et al; (2020) desenvolveu seus scaffolds usando uma nova abordagem com diferentes concentrações de MEC da polpa dentária (Crosslinked scaffolds). Os resultados dessa nova abordagem ao biomaterial mostraram que, enquanto a biodegradabilidade do scaffold foi reduzida pela reticulação, a biocompatibilidade do scaffold crosslinked foi significativamente melhorada. Este estudo destaca a importância da densidade da matriz extracelular e dos níveis de reticulação ao projetar enxertos para fins regenerativos.

Os autores observaram maior viabilidade celular e proliferação de hBMSCs nos *crosslinking scaffolds* de 3,00 mg / ml. A análise da expressão gênica mostrou significativo aumento de dmp-1 e colágeno-I em scaffolds crosslinked de 3,00 mg / ml em comparação aos outros scaffolds desenvolvidos no estudo. O exame histológico dos scaffolds implantados subcutaneamente revelou baixa resposta imunológica e angiogênese aumentada em amostras reticuladas em comparação com amostras não reticulada. A coloração com tricrômio e azul alciano de Masson confirmou a estrutura preservada de colágeno e glicosaminoglicana da polpa dentária

CHEN et al., (2015) e Song et al. (2017) relataram descélularização bem sucedida de tecidos dentários utilizando 1% de dodecilsulfato de sódio (SDS) e 1% Triton X-100. Apesar desses resultados, MATOUG-ELWERFELLI et al., (2018) advoga que, o uso de protocolos de descélularização com menores concentrações de detergentes é vantajoso para a regeneração futura do tecido. Assim, avaliaram a viabilidade de descélularizar toda a polpa dentária usando um único ciclo de concentrações mais baixas de SDS (0,03%) para desenvolver um scaffold biológico descélularizado para uso em regeneração pulpar.

Song et al., (2017) e MATOUG-ELWERFELLI et al., (2018), verificaram que a polpa dental humana de dentes saudáveis extraídos pode ser descélularizada para formar um scaffold de MEC.

SONG et al., (2017) desenvolveram seu estudo com a decelularização da polpa dentária humana , utilizando fatias de dente, essencialmente discos polpa-dentina de 1,5 mm de espessura; enquanto MATOUG-ELWERFELLI et al., (2018) afirmaram serem os pioneiros a obter sucesso com a descélularização de toda a polpa dentária humana

recuperada dos dentes extraídos. A eficiência de remoção de DNA (aproximadamente 98% do conteúdo de DNA) no estudo de MATOUG-ELWERFELLI et al., (2018) foi comparável ao relatado por SONG et al. (2017).

MATOUG-ELWERFELLI et al., (2018) utilizaram um único ciclo de SDS sem o uso de Triton X-100. O protocolo de descelularização utilizado no estudo de MATOUG-ELWERFELLI et al., (2018) resultou em preservação de ácidos polissacarídeos, fibronectina e distribuição de laminina com alterações mínimas nas estruturas de tecidos e morfologia.

SONG et al., (2017) avaliaram três protocolos diferentes para descelularização, sendo o protocolo mais eficaz aquele que incorporou três ciclos de 1% de SDS e 1 ciclo de 1% de Triton X-100. A avaliação adicional das amostras geradas com este protocolo demonstrou que a MEC foi preservada em morfologia e composição, e o SCAP semeado neste scaffold mostrou ligação e proliferação tridimensionais.

SONG et al., (2017) e MATOUG-ELWERFELLI et al., (2018) utilizaram polpa dental humana de dentes saudáveis extraídos para formar um scaffold MEC, entretanto, HU et al., (2017) sugeriram que com a limitada disponibilidade e pequeno tamanho de polpa dental humana, a utilização das mesmas poderia não atender a aplicações clínicas.

HU et al., (2017) propuseram a utilização de tecidos pulparem xenógenos para a revitalização pulpar. Tecidos acelulares xenógenos têm sido utilizados para regeneração e raramente causam reação imune. HU et al., (2017) defendem que os suínos são amplamente utilizados em estudos biomédicos, incluindo na regeneração da polpa dentária, uma vez que a estrutura da dentição suína é semelhante à de humanos.

HU et al., (2017) utilizaram dodecilsulfato de sódio a 10% (SDS) combinado com 1% Triton X-100 para a descelularização das polpas dentárias, após a extração do canal radicular. Métodos utilizados para polpas humanas não seriam eficientes em suínos, porque esta é maior que a polpa humana, foi utilizado um método de descelularização usado previamente nas glândulas submandibulares de ratos (Z. Gao et al., 2015).

CHEN et al., (2015) utilizaram o protocolo de 1% de dodecilsulfato de sódio (SDS) e 1% Triton X-100, para a descelularização de polpas de suínos

com tempo de exposição ao SDS , de 12 horas enquanto HU et al., (2017) submeteram sua amostra à solução por 32 horas, com a solução trocada a cada 8 horas. Os scaffolds de polpa suína, testados por HU et al.,(2017) quando combinado com DPSCs humanos e transplantado para camundongos *Balb/c nude*, promoveram novos tecidos mineralizados e crescimento de tecido semelhante a polpa dental, resultados que indicam que os scaffolds de MEC de polpa dentária xenógenas podem ser adequados para a regeneração de polpa dentária.

BACKHTIAR et al., (2020) também defendem o uso de fontes xenógenas de polpa dentária para regeneração endodôntica, devido a boa compatibilidade com os tecidos descelularizados de animais e a limitada fonte de polpas dentárias humanas para viabilizar a sua utilização clínica. A MEC bovina foi utilizada como fonte acessível para produzir um scaffold adequado para regeneração pulpar no seu estudo.

Quanto ao tipo de célula tronco utilizada para conduzir a regeneração pulpar, os autores: HU et al., (2017), ALQAHTANI et al., (2018), MATOUG-ELWERFELLIET et al., (2018) utilizaram células tronco da polpa dental humana (DPSC), BACKHTIAR et al., (2020) células tronco da medula óssea (BMMSCs), CHEN et al., (2015) células tronco do folículo dentário humano (hBMMSCs) e SONG et al., (2017) células tronco da papila apical humana (Tabelas 1 e 2).

Na última década, avanços substanciais foram feitos no campo da engenharia de tecidos dentários baseada em células-tronco. Na odontologia, no campo de regeneração da polpa, as hDPSCs mostraram ser eficazes em ampla gama de modelos in vivo (Lambrichts et al., 2017). As hDPSCs foram utilizadas nos estudos de HU et al., (2017), ALQAHTANI et al., (2018), MATOUG-ELWERFELLIET et al., (2018) com resultados promissores.

As células tronco da papila apical (SCAP) foram utilizadas por SONG et al., (2017) com ótimos resultados (Tabela 1). As células-tronco da papila apical são conhecidas por proliferação e mineralização mais rápidas, melhores capacidade de migração e atividade da telomerase do que as DPSCs (Huang et al. 2009).

Células-tronco mesenquimais derivadas da medula óssea (BMMSCs) são outra fonte que tem sido amplamente usada em procedimentos regenerativos (Lei et al. 2013) e foram utilizadas por BACKHTIAR et al., (2020)

para a recelularização dos scaffolds obtidos. O uso de tais células com um scaffold de matriz dentinária foi associado à diferenciação das células-tronco em células semelhantes a odontoblastos polarizadas com processos de penetração nos túbulos dentinários (Lei et al. 2013, BACKHTIAR et al., 2018). No estudo de BACKHTIAR et al., (2020) a avaliação da relação de hBMMSCs com os scaffolds, com base na fixação celular e morfologia, demonstrou que os scaffolds fornecem um ambiente de cultura adequado para as células, com fixação celular à superfície do scaffold.

Células-tronco do folículo dentário (DFSC) são capazes de diferenciação em multilinhagem, incluindo osteogênese (DAI et al., 2011). Esse tipo de célula tronco foi utilizada no estudo de Chen et al., (2015), entretanto no grupo e que o DPEM e DFSCs foram co-cultivados não houve diferenciação osteogênica ou odontogênica, o que foi possivelmente devido à co-cultura mais curta, segundo o autor.

6 CONCLUSÃO

É possível desenvolver um scaffold descelularizado biológico contendo a estrutura estrutural original da MEC de polpa dental, com componentes necessários para a regeneração específica do tecido (MATOUG-ELWERFELLI et al., 2018).

A polpa dental humana de dentes saudáveis extraídos pode ser descelularizada para formar um scaffold MEC capaz de apoiar a proliferação e diferenciação de SCAP (Song et al., 2017 , MATOUG-ELWERFELLI et al., 2018). Entretanto, devido a limitada disponibilidade e pequeno tamanho de polpa dental humana, a utilização das mesmas poderia não atender a aplicações clínicas (Hu et al., 2017).

O potencial de matrizes extracelulares xenogênicas foi demonstrado em estudos incluídos nessa revisão como uma promissora possibilidade regenerativa de polpas dentárias (HU et al., 2017, ALQAHTANI et al., BACKHTIAR et al., 2020, CHEN et al., 2015).

Muitas vezes, apenas um agente descelularizante não é capaz de fazer a completa remoção celular, existindo a necessidade de complementação com um outro agente (SHUPE et al.; 2010). Nos estudos recuperados os

detergentes iônicos SDS e Triton X-100 foram utilizados e demonstraram eficiência em descelularizar a MEC de popa dental, e a diminuição da concentração dos detergentes durante a descelularização mostrou resultados significativos quanto a preservação da MEC.

A preocupação de utilizar uma baixa concentração de detergentes que seja eficaz na descelularização da ECM, sem causar danos a estrutura, pode explicar a variedade de protocolos buscando aperfeiçoar esse processo.

Uma nova abordagem de biomaterial foi proposta por Backhtiar et al; (2020), com diferentes concentrações de MEC da polpa dentária, os chamados Crosslinked scaffolds. Os resultados dessa nova abordagem ao biomaterial mostraram que, enquanto a biodegradabilidade do scaffold foi reduzida pela reticulação, a biocompatibilidade do scaffold crosslinked foi significativamente melhorada. Este estudo destaca a importância da densidade da matriz extracelular e dos níveis de reticulação ao projetar enxertos para fins regenerativos.

Estudos in vitro e in vivo dos estudos recuperados demonstraram algum nível de resultados positivos em relação aos testes biológicos (CHEN et al., (2015), HU et al., (2017), SONG et al., (2017), MATOUG-ELWERFELLI et al., (2018) , ALQAHTANI et al., (2018), BACKHTIAR et al., (2020), mesmo à luz dos diferentes níveis de complexidade dos testes realizados entre os diferentes estudos, no entanto, os dados atuais são heterogêneos demais para comparar e identificar as vantagens de qualquer método específico utilizado nos estudos recuperados.

Encorajamos mais estudos sobre os métodos de descelularização de polpas dentárias humanas e de animais, bem como sua recelularização e aplicabilidade clínica para que se estabeleça um confiável protocolo de desenvolvimento desses scaffolds.

REFERÊNCIAS

ALQAHTANI, Q.; ZAKY, S.H.; PATIL, A.; BENIASH, E.; RAY, H.; SFEIR, C.. Decellularized Swine Dental Pulp Tissue for Regenerative Root Canal Therapy. **Journal Of Dental Research**, [S.L.], v. 97, n. 13, p. 1460-1467, 1 ago. 2018. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/0022034518785124>.

BAKHTIAR, Hengameh; ESMAEILI, Shahram; TABATABAYI, Setareh Fakh; ELLINI, Mohammad Reza; NEKOO FAR, Mohammad Hossein; DUMMER, Paul M.H. Second-generation Platelet Concentrate (Platelet-rich Fibrin) as a Scaffold in Regenerative Endodontics: a case series. **Journal Of Endodontics**, [S.L.], v. 43, n. 3, p. 401-408, mar. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2016.10.016>.

BAKHTIAR, Hengameh; S, Amir Mazidi; ASL, Saeed Mohammadi; ELLINI, M. R.; MOSHIRI, A.; NEKOO FAR, M. H.; DUMMER, P. M. H. The role of stem cell therapy in regeneration of dentine-pulp complex: a systematic review. **Progress In Biomaterials**, [S.L.], v. 7, n. 4, p. 249-268, 28 set. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s40204-018-0100-7>.

BAKHTIAR, Hengameh; PEZESHKI-MODARESS, Mohammad; KIAIPOUR, Zahra; SHAFIEE, Mahdieh; ELLINI, Mohammad Reza; MAZIDI, Amir; RAJABI, Sarah; BENISI, Soheila Zamanlui; OSTAD, Seyed Naser; GALLER, Kerstin. Pulp ECM-derived macroporous scaffolds for stimulation of dental-pulp regeneration process. **Dental Materials**, [S.L.], v. 36, n. 1, p. 76-87, jan. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.dental.2019.10.011>.

CENTRO COCHRANE DO BRASIL. Busca por informações nas principais bases de dados da literatura médica mundial: filtros para ensaios no pubmed. São Paulo: Centro Cochrane do Brasil, 2008.

CHEN, Gang; CHEN, Jinlong; YANG, Bo; LI, Lei; LUO, Xiangyou; ZHANG, Xuexin; FENG, Lian; JIANG, Zongting; YU, Mei; GUO, Weihua. Combination of aligned PLGA/Gelatin electrospun sheets, native dental pulp extracellular matrix and treated dentin matrix as substrates for tooth root regeneration. **Biomaterials**, [S.L.], v. 52, p. 56-70, jun. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2015.02.011>.

CRAPO, Peter M.; GILBERT, Thomas W.; BADYLAK, Stephen F. An overview of tissue and whole organ decellularization processes. **Biomaterials**, [S.L.], v. 32, n. 12, p. 3233-3243, abr. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.01.057>.

DEMATHE, A. et al. Odontologia baseada em evidências: otimizando a prática e a pesquisa. RFO UPF, v. 17, n. 1, p. 96-100, 2012.

DAI, Yuntao; HE, Hongzhi; WISE, Gary E.; YAO, Shaomian. Hypoxia promotes growth of stem cells in dental follicle cell populations. **Journal Of Biomedical Science And Engineering**, [S.L.], v. 04, n. 06, p. 454-461, 2011. Scientific

Research Publishing, Inc. <http://dx.doi.org/10.4236/jbise.2011.46057>.

DALEY, William P.; PETERS, Sarah B.; LARSEN, Melinda. Extracellular matrix dynamics in development and regenerative medicine. **Journal Of Cell Science**, [S.L.], v. 121, n. 3, p. 255-264, 1 fev. 2008. The Company of Biologists. <http://dx.doi.org/10.1242/jcs.006064>.

D'AQUINO, R; TIRINO, V; DESIDERIO, V; STUDER, M; ANGELIS, Gc de; LAINO, L; ROSA, A de; NUCCI, D di; MARTINO, S. Human neural crest-derived postnatal cells exhibit remarkable embryonic attributes either in vitro or in vivo. **European Cells And Materials**, [S.L.], v. 21, p. 304-316, 22 mar. 2011. European Cells and Materials. <http://dx.doi.org/10.22203/ecm.v021a23>.

GALVÃO, Cristina Maria; SAWADA, Namie Okino; TREVIZAN, Maria Auxiliadora. Revisão sistemática: recurso que proporciona a incorporação das evidências na prática da enfermagem. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, [S.L.], v. 12, n. 3, p. 549-556, jun. 2004. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0104-11692004000300014>.

GALLER, K.M.; D'SOUZA, R.N.; HARTGERINK, J.D.; SCHMALZ, G. Scaffolds for Dental Pulp Tissue Engineering. **Advances In Dental Research**, [S.L.], v. 23, n. 3, p. 333-339, 15 jun. 2011. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/0022034511405326>.

GE, Jianfeng; GUO, Ling; WANG, Shan; ZHANG, Yiling; CAI, Ting; ZHAO, Robert C. H.; WU, Yaojiong. The Size of Mesenchymal Stem Cells is a Significant Cause of Vascular Obstructions and Stroke. **Stem Cell Reviews And Reports**, [S.L.], v. 10, n. 2, p. 295-303, 7 jan. 2014. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12015-013-9492-x>.

GILBERT, T.W; SELLARO, T.L.; BADYLAK, S.F. Decellularization of tissues and organs. *Biomaterials*, [S.L.], v. 27, n. 19, p. 3675-83, jul. 2006. Epub 2006 Mar 7. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.02.014>.

GONÇALVES, A.M; CARDOSO, I. L. Dental Medicine applications of stem cells. *Journal of Dental & Oral Health Open Access*, v. 1, p. 1-11, 2017.

GRONTHOS, S.; MANKANI, M.; BRAHIM, J.; ROBEY, P. G.; SHI, S.. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and invivo. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, [S.L.], v. 97, n. 25, p. 13625-13630, 21 nov. 2000. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.240309797>.

GUYETTE, J.P; GILPIN S.E; CHAREST, J.M; TAPIAS L.F; REN, X; OTT, H.C. 2014. Descelularização da perfusão de órgãos inteiros. *Nat Protoc*. 9 (6): 1451-1468.

GUYATT, Gordon H; OXMAN, Andrew D; VIST, Gunn e; KUNZ, Regina; FALCK-YTTER, Yngve; ALONSO-COELLO, Pablo; SCHÜNEMANN, Holger J. GRADE: an emerging consensus on rating quality of evidence and strength of

recommendations. **Bmj**, [S.L.], v. 336, n. 7650, p. 924-926, 24 abr. 2008. BMJ. <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.39489.470347.ad>.

HANDA, Keisuke; SAITO, Masahiro; TSUNODA, Akira; YAMAUCHI, Masato; HATTORI, Shintaro; SATO, Sadao; TOYODA, Minoru; TERANAKA, Toshio; NARAYANAN, A. Sampath. Progenitor Cells From Dental Follicle Are Able to Form Cementum Matrix In Vivo. **Connective Tissue Research**, [S.L.], v. 43, n. 2-3, p. 406-408, jan. 2002. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/03008200290001023>.

HASEGAWA, Masateru; YAMATO, Masayuki; KIKUCHI, Akihiko; OKANO, Teruo; ISHIKAWA, Isao. Human Periodontal Ligament Cell Sheets Can Regenerate Periodontal Ligament Tissue in an Athymic Rat Model. **Tissue Engineering**, [S.L.], v. 11, n. 3-4, p. 469-478, mar. 2005. Mary Ann Liebert Inc. <http://dx.doi.org/10.1089/ten.2005.11.469>.

HIGGINS, J. P. T.; GREEN, S. (Ed.). Cochrane handbook for systematic reviews of interventions. Version 5.0.2. The Cochrane Collaboration, 2009. Disponível em: <<http://www.cochrane.org/resources/handbook/>> . Acesso em: 24 out. 2019.

HUANG, George T.-J.; SONOYAMA, Wataru; LIU, Yi; LIU, He; WANG, Songlin; SHI, Songtao. The Hidden Treasure in Apical Papilla: the potential role in pulp/dentin regeneration and bioroot engineering. **Journal Of Endodontics**, [S.L.], v. 34, n. 6, p. 645-651, jun. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2008.03.001>.

IKEDA, Etsuko; YAGI, Kiyohito; KOJIMA, Midori; YAGYUU, Takahiro; OHSHIMA, Akira; SOBAJIMA, Satoshi; TADOKORO, Mika; KATSUBE, Yoshihiro; ISODA, Katsuhiko; KONDOH, Masuo. Multipotent cells from the human third molar: feasibility of cell-based therapy for liver disease. **Differentiation**, [S.L.], v. 76, n. 5, p. 495-505, jun. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1432-0436.2007.00245.x>.

WILSHAW, Stacy-Paul; KEARNEY, John N.; FISHER, John; INGHAM, Eileen. Production of an Acellular Amniotic Membrane Matrix for Use in Tissue Engineering. **Tissue Engineering**, [S.L.], v. 12, n. 8, p. 2117-2129, ago. 2006. Mary Ann Liebert Inc. <http://dx.doi.org/10.1089/ten.2006.12.2117>.

LANOCE, Marcella; PAINO, Francesca; SPINA, Anna; NADDEO, Pasqualina; MONTELLA, Roberta; DESIDERIO, Vincenzo; ROSA, Alfredo de; PAPACCIO, Gianpaolo; TIRINO, Virginia; LAINO, Luigi. Dental pulp stem cells: state of the art and suggestions for a true translation of research into therapy. **Journal Of Dentistry**, [S.L.], v. 42, n. 7, p. 761-768, jul. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdent.2014.02.018>.

LAMBRICHTS, Ivo; DRIESEN, Ronald B.; DILLEN, Jörg; GERVOIS, Pascal; RATAJCZAK, Jessica; VANGANSEWINKEL, Tim; WOLFS, Esther; BRONCKAERS, Annelies; HILKENS, Petra. Dental Pulp Stem Cells: their potential in reinnervation and angiogenesis by using scaffolds. **Journal Of**

Endodontics, [S.L.], v. 43, n. 9, p. 12-16, set. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2017.06.001>.

HOSHIBA, Takashi; LU, Hongxu; KAWAZOE, Naoki; CHEN, Guoping. Decellularized matrices for tissue engineering. **Expert Opinion On Biological Therapy**, [S.L.], v. 10, n. 12, p. 1717-1728, 9 nov. 2010. Informa Healthcare. <http://dx.doi.org/10.1517/14712598.2010.534079>.

HUANG, G.T.-J.; GRONTHOS, S.; SHI, S. Mesenchymal Stem Cells Derived from Dental Tissues vs. Those from Other Sources: their biology and role in regenerative medicine. **Journal Of Dental Research**, [S.L.], v. 88, n. 9, p. 792-806, set. 2009. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/0022034509340867>.

LEI, Gang; YU, Yan; JIANG, Yujiao; WANG, Sainan; YAN, Ming; SMITH, Anthony J.; SMITH, Gay; COOPER, Paul R.; TANG, Chunbo; ZHANG, Guangdong. Differentiation of BMMSCs into odontoblast-like cells induced by natural dentine matrix. **Archives Of Oral Biology**, [S.L.], v. 58, n. 7, p. 862-870, jul. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.archoralbio.2013.01.002>.

LINDE, A.. Session II: cells and extracellular matrices of the dental pulp .: c.t. hanks, chairman. **Journal Of Dental Research**, [S.L.], v. 64, n. 4, p. 523-529, abr. 1985. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/002203458506400405>.

MATOUG-ELWERFELLI, M.; DUGGAL, M. S.; NAZZAL, H.; ESTEVES, F.; RAÏF, E. A biocompatible decellularized pulp scaffold for regenerative endodontics. **International Endodontic Journal**, [S.L.], v. 51, n. 6, p. 663-673, 16 dez. 2017. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/iej.12882>.

MATSUBARA, Takehiro; SUARDITA, Ketut; ISHII, Masakazu; SUGIYAMA, Masaru; IGARASHI, Akira; ODA, Ryo; NISHIMURA, Masahiro; SAITO, Masahiro; NAKAGAWA, Keigo; YAMANAKA, Katsuyuki. Alveolar Bone Marrow as a Cell Source for Regenerative Medicine: differences between alveolar and iliac bone marrow stromal cells. **Journal Of Bone And Mineral Research**, [S.L.], v. 20, n. 3, p. 399-409, 29 nov. 2004. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1359/jbmr.041117>.

MITSIADIS, Thimios A.; GRAF, Daniel. Cell fate determination during tooth development and regeneration. **Birth Defects Research Part C: Embryo Today**, [S.L.], v. 87, n. 3, p. 199-211, set. 2009. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/bdrc.20160>.

MIURA, M.; GRONTHOS, S.; ZHAO, M.; LU, B.; FISHER, L. W.; ROBEY, P. G.; SHI, S. SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, [S.L.], v. 100, n. 10, p. 5807-5812, 25 abr. 2003. Proceedings of the National Academy of Sciences. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0937635100>.

MOHER, David. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-

Analyses: the prisma statement. **Annals Of Internal Medicine**, [S.L.], v. 151, n. 4, p. 264, 18 ago. 2009. American College of Physicians. <http://dx.doi.org/10.7326/0003-4819-151-4-200908180-00135>.

MORSCZECK, C.; GÖTZ, W.; SCHIERHOLZ, J.; ZEILHOFER, F.; KÜHN, U.; MÖHL, C.; SIPPEL, C.; HOFFMANN, K.H. Isolation of precursor cells (PCs) from human dental follicle of wisdom teeth. **Matrix Biology**, [S.L.], v. 24, n. 2, p. 155-165, abr. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.matbio.2004.12.004>.

MURRAY, Peter E.; GARCIA-GODOY, Franklin; HARGREAVES, Kenneth M. Regenerative Endodontics: a review of current status and a call for action. **Journal Of Endodontics**, [S.L.], v. 33, n. 4, p. 377-390, abr. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2006.09.013>.

PAGE, M. et al. Registration of systematic reviews in PROSPERO: 30,000 records and counting. *Systematic reviews*, v. 7, n. 1, p. 32, 2018.

PORZIONATO, Andrea; STOCCO, Elena; BARBON, Silvia; GRANDI, Francesca; MACCHI, Veronica; CARO, Raffaele de. Tissue-Engineered Grafts from Human Decellularized Extracellular Matrices: a systematic review and future perspectives. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 19, n. 12, p. 4117, 18 dez. 2018. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms19124117>.

RIEDER, Erwin; KASIMIR, Marie-Theres; SILBERHUMER, Gerd; SEEBACHER, Gernot; WOLNER, Ernst; SIMON, Paul; WEIGEL, Guenter. Decellularization protocols of porcine heart valves differ importantly in efficiency of cell removal and susceptibility of the matrix to recellularization with human vascular cells. **The Journal Of Thoracic And Cardiovascular Surgery**, [S.L.], v. 127, n. 2, p. 399-405, fev. 2004. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtcvs.2003.06.017>.

SANGKERT, Supaporn; MEESANE, Jirut; KAMONMATTAYAKUL, Suttatip; CHAI, Wen Lin. Modified silk fibroin scaffolds with collagen/decellularized pulp for bone tissue engineering in cleft palate: morphological structures and biofunctionalities. **Materials Science And Engineering: C**, [S.L.], v. 58, p. 1138-1149, jan. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2015.09.031>.

SANGKERT, Supaporn; KAMONMATTAYAKUL, Suttatip; CHAI, Wen Lin; MEESANE, Jirut. Modified porous scaffolds of silk fibroin with mimicked microenvironment based on decellularized pulp/fibronectin for designed performance biomaterials in maxillofacial bone defect. **Journal Of Biomedical Materials Research Part A**, [S.L.], v. 105, n. 6, p. 1624-1636, 27 mar. 2017. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jbm.a.35983>.

SCHENKE-LAYLAND, K.; VASILEVSKI, O.; OPITZ, F.; KÖNIG, K.; RIEMANN, I.; HALBHUBER, K.J.; WAHLERS, Th; STOCK, U.A. Impact of decellularization of xenogeneic tissue on extracellular matrix integrity for tissue engineering of

heart valves. **Journal Of Structural Biology**, [S.L.], v. 143, n. 3, p. 201-208, set. 2003. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsb.2003.08.002>.

SEO, Byoung-Moo; MIURA, Masako; GRONTHOS, Stan; BARTOLD, Peter Mark; BATOULI, Sara; BRAHIM, Jaime; YOUNG, Marian; ROBEY, Pamela Gehron; WANG, Cun Yu; SHI, Songtao. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. **The Lancet**, [S.L.], v. 364, n. 9429, p. 149-155, jul. 2004. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(04\)16627-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(04)16627-0).

SONG, J.s.; TAKIMOTO, K.; JEON, M.; VADAKEKALAM, J.; RUPAREL, N.B.; DIOGENES, A. Decellularized Human Dental Pulp as a Scaffold for Regenerative Endodontics. **Journal Of Dental Research**, [S.L.], v. 96, n. 6, p. 640-646, 14 fev. 2017. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/0022034517693606>.

SONOYAMA, Wataru; LIU, Yi; YAMAZA, Takayoshi; TUAN, Rocky S.; WANG, Songlin; SHI, Songtao; HUANG, George T.-J. Characterization of the Apical Papilla and Its Residing Stem Cells from Human Immature Permanent Teeth: a pilot study. **Journal Of Endodontics**, [S.L.], v. 34, n. 2, p. 166-171, fev. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2007.11.021>.

Sutherland SE. Evidence-based Dentistry: Part I. Getting Started. Disponivel em URL: < <http://www.cda-adc.ca/jcda/vol-67/issue-4/204.html>

THAI, Thanh H; NUNTANARANONT, Thongchai; KAMOLMATYAKUL, Suttatip; MEESANE, Jirut. In vivo evaluation of modified silk fibroin scaffolds with a mimicked microenvironment of fibronectin/decellularized pulp tissue for maxillofacial surgery. **Biomedical Materials**, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 015009, 22 nov. 2017. IOP Publishing. <http://dx.doi.org/10.1088/1748-605x/aa853e>.

TRAPHAGEN, Samantha B.; FOURLIGAS, Nikos; XYLAS, Joanna F.; SENGUPTA, Sejuti; KAPLAN, David L.; GEORGAKOUDI, Irene; YELICK, Pamela C. Characterization of natural, decellularized and reseeded porcine tooth bud matrices. **Biomaterials**, [S.L.], v. 33, n. 21, p. 5287-5296, jul. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.04.010>.

WOODS, Terence; GRATZER, Paul F. Effectiveness of three extraction techniques in the development of a decellularized bone–anterior cruciate ligament–bone graft. **Biomaterials**, [S.L.], v. 26, n. 35, p. 7339-7349, dez. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.05.066>.

GAO, Zhenhua; WU, Tingting; XU, Junji; LIU, Guolin; XIE, Yilin; ZHANG, Chunmei; WANG, Jinsong; WANG, Songlin. Generation of Bioartificial Salivary Gland Using Whole-Organ Decellularized Bioscaffold. **Cells Tissues Organs**, [S.L.], v. 200, n. 3-4, p. 171-180, 2014. S. Karger AG. <http://dx.doi.org/10.1159/000371873>.

ZHANG, W.; VAZQUEZ, B.; OREADI, D.; YELICK, P.C. Decellularized Tooth Bud Scaffolds for Tooth Regeneration. **Journal Of Dental Research**, [S.L.], v.

96, n. 5, p. 516-523, 24 jan. 2017. SAGE Publications.
<http://dx.doi.org/10.1177/0022034516689082>.

ZHU, Xiaofei; LIU, Jie; YU, Zongdong; CHEN, Chao-An; AKSEL, Hacer; AZIM, Adham A.; HUANG, George T.-J. A Miniature Swine Model for Stem Cell-Based De Novo Regeneration of Dental Pulp and Dentin-Like Tissue. **Tissue Engineering Part C: Methods**, [S.L.], v. 24, n. 2, p. 108-120, fev. 2018. Mary Ann Liebert Inc. <http://dx.doi.org/10.1089/ten.tec.2017.0342>.

APÊNDICE A: Artigos excluídos após leitura de texto completo

Autores e ano de publicação.	Título original	Motivo de exclusão
Traphagen et al, 2012	Characterization of natural, decellularized and reseeded porcine tooth bud matrices	Scaffold de órgão dental, não focado em polpa dental
Zhang et al, 2017	Decellularized Tooth Bud Scaffolds for Tooth Regeneration	Scaffold de órgão dental, não focado em polpa dental
Zhu et al, 2018	A Miniature Swine Model for Stem Cell-Based De Novo Regeneration of Dental Pulp and Dentin-Like Tissue	Scaffold não baseado em polpa dental e não descreve método de descelularização do mesmo.
SANGKERT et al., 2016	Modified silk fibroin scaffolds with collagen/decellularized pulp for bone tissue engineering in cleft palate: Morphological structures and biofunctionalities	Scaffolds baseados em polpa dental humana para regeneração óssea
SANGKERT et al.,2017	Modified porous scaffolds of silk fibroin with mimicked microenvironment based on decellularized pulp/fibronectin for designed performance biomaterials in maxillofacial bone defect	Scaffolds baseados em polpa dental humana para regeneração óssea
Thai TH et al.,2017	In vivo evaluation of modified silk fibroin scaffolds with a mimicked microenvironment of fibronectin/decellularized pulp tissue for maxillofacial surgery	Scaffolds baseados em polpa dental humana para regeneração óssea

ANEXO A: Registro PROSPERO

UNIVERSITY *of York*
Centre for Reviews and Dissemination

NOTICE: PROSPERO will not be available from Fri Nov 22 2019 01:00:00 GMT-0300 (Horário Padrão de Brasília) for approximately two hours. Please do not use PROSPERO during this time

Systematic review

1. * Review title.

Give the working title of the review, for example the one used for obtaining funding. Ideally the title should state succinctly the interventions or exposures being reviewed and the associated health or social problems. Where appropriate, the title should use the PI(E)COS structure to contain information on the Participants, Intervention (or Exposure) and Comparison groups, the Outcomes to be measured and Study designs to be included.

Current advances in the development of natural dental pulp scaffolds: innovative approaches of decellularization and recellularization. A systematic review

2. Original language title.

For reviews in languages other than English, this field should be used to enter the title in the language of the review. This will be displayed together with the English language title.

3. * Anticipated or actual start date.

Give the date when the systematic review commenced, or is expected to commence. 08/07/2019

4. * Anticipated completion date.

Give the date by which the review is expected to be completed.

31/05/2020

5. * Stage of review at time of this submission.

Indicate the stage of progress of the review by ticking the relevant Started and Completed boxes. Additional information may be added in the free text box provided.

Please note: Reviews that have progressed beyond the point of completing data extraction at the time of initial registration are not eligible for inclusion in PROSPERO. Should evidence of incorrect status and/or completion date being supplied at the time of submission come to light, the content of the PROSPERO record will be removed leaving only the title and named contact details and a statement that inaccuracies in the stage of the review date had been identified.

This field should be updated when any amendments are made to a published record and on completion and publication of the review. If this field was pre-populated from the initial screening questions then you are notable to edit it until the record is published.

The review has not yet started: No

Review stage **Started** **Completed**

Preliminary searches	Yes	No
Piloting of the study selection process	Yes	No
Formal screening of search results against eligibility criteria	Yes	No
Data extraction	Yes	No
Risk of bias (quality) assessment	Yes	No
Data analysis	Yes	No

Provide any other relevant information about the stage of the review here (e.g. Funded proposal, protocol not yet finalised).

Protocol not yet finalised
Protocol
not yet finalised

6. * Named contact.

The named contact acts as the guarantor for the accuracy of the information presented in the register record. Raysa Amorim

Email salutation (e.g. "Dr Smith" or "Joanne") for correspondence:

Miss Amorim

7. * Named contact email.

Give the electronic mail address of the named contact.

raysaamorim14@hotmail.com

8. Named contact address

Give the full postal address for the named contact.

9. Named contact phone number.

Give the telephone number for the named contact, including international dialling code.

10. * Organisational affiliation of the review.

Full title of the organisational affiliations for this review and website address if available. This field may be completed as 'None' if the review is not affiliated to any organisation.

Universidade Federal de Juiz de Fora

Organisation web address:

ppg.odontologia@ufjf.edu.br

11. * Review team members and their organisational affiliations.

Give the title, first name, last name and the organisational affiliations of each member of the review team. Affiliation refers to groups or organisations to which review team members belong.

Miss Raysa Amorim. Universidade Federal de Juiz de Fora
 Professor Antonela Polimeni. Sapienza Universita di Roma
 Dr Simone Staffoli. Sapienza Universita di Roma
 Dr Carlos Maranduba. Universidade Federal de Juiz de Fora
 Professor Antonio Marcio Carmo. Universidade Federal de Juiz de Fora
 Mr Paulo Victor Doriguetto. Universidade Federal de Juiz de Fora

12. * Funding sources/sponsors.

Give details of the individuals, organizations, groups or other legal entities who take responsibility for initiating, managing, sponsoring and/or financing the review. Include any unique identification numbers assigned to the review by the individuals or bodies listed.

Master's dissertation for the title of Master of Dentistry by the universidade Federal de Juiz de Fora

13. * Conflicts of interest.

List any conditions that could lead to actual or perceived undue influence on judgements concerning the main topic investigated in the review.

None

14. Collaborators.

Give the name and affiliation of any individuals or organisations who are working on the review but who are not listed as review team members.

15. * Review question.

State the question(s) to be addressed by the review, clearly and precisely. Review questions may be specific or broad. It may be appropriate to break very broad questions down into a series of related more specific questions. Questions may be framed or refined using PI(E)COS where relevant.

What are the best strategies to decellularize and recellularize the dental pulp in order to produce a natural scaffold for endodontic regeneration?

16. * Searches.

State the sources that will be searched. Give the search dates, and any restrictions (e.g. language or publication period). Do NOT enter the full search strategy (it may be provided as a link or attachment.)

We will search the following electronic bibliographic databases: MEDLINE/PubMed, Web of Science, Cochrane Library, SciELO, LILACS, Scopus. The full search strategy is based on the search components "Tissue Engineering", "Stem Cells", "Tissue Scaffolds", "Dental Pulp", "Regenerative Endodontics". No publication date or language restrictions will be applied. We will screen the reference

lists of included studies for additional eligible studies not retrieved by our search. The searches will be re-run just before the final analyses to retrieve the most recent studies eligible for inclusion. No language or publication period restrictions

17. URL to search strategy.

Give a link to a published pdf/word document detailing either the search strategy or an example of a search strategy for a specific database if available (including the keywords that will be used in the search strategies), or upload your search strategy. Do NOT provide links to your search results.

https://www.crd.york.ac.uk/PROSPEROFILES/146425_STRATEGY_20191121.pdf

Alternatively, upload your search strategy to CRD in pdf format. Please note that by doing so you are consenting to the file being made publicly accessible.

Do not make this file publicly available until the review is complete

18. * Condition or domain being studied.

Give a short description of the disease, condition or healthcare domain being studied. This could include health and wellbeing outcomes.

Tissue engineering in endodontics and odontology comes as an ally in the recovery of "devitalized" teeth with pulp infection, or damaged oral tissues, and conventional endodontic treatment. The confection of natural scaffolds seeks to preserve dental vitality and revolutionize current odontology.

19. * Participants/population.

Give summary criteria for the participants or populations being studied by the review. The preferred format includes details of both inclusion and exclusion criteria.

Inclusion criteria:

- 1) all animal and human dental pulp (all species, all sexes) that described the decellularization protocol.
- 2) In vivo studies: All animal and human species, approved by the ethics committee of each study institution of the included articles.

20. * Intervention(s), exposure(s).

Give full and clear descriptions or definitions of the nature of the interventions or the exposures to be reviewed.

Current methods for decellularization of dental pulp and methods for recellularization of dental pulp for tissue and other protocols for making viable natural scaffolds.

The use of stem cells for pulp revitalization will be addressed as well as their typology.

21. * Comparator(s)/control.

Where relevant, give details of the alternatives against which the main subject/topic of the review will be compared (e.g. another intervention or a non-exposed control group). The preferred format includes

details of both inclusion and exclusion criteria.

Inclusion criteria: -Natural animal and human dental pulps control group, according to each selected study.
-comparison between decellularization protocols of each study included

Exclusion criteria: Another intervention at dental pulp.

22. * Types of study to be included.

Give details of the types of study (study designs) eligible for inclusion in the review. If there are no restrictions on the types of study design eligible for inclusion, or certain study types are excluded, this should be stated. The preferred format includes details of both inclusion and exclusion criteria.

Articles dealing with decellularization and recellularization methods of dental pulp.

Inclusion criteria are studies that describe dental pulp decellularization protocols for natural scaffold making and dental pulp recellularization with stem cells.

23. Context.

Give summary details of the setting and other relevant characteristics which help define the inclusion or exclusion criteria.

24. * Main outcome(s).

Give the pre-specified main (most important) outcomes of the review, including details of how the outcome is defined and measured and when these measurements are made, if these are part of the review inclusion criteria.

Inclusion criteria: -A viable dental pulp scaffold produced -the best decellularization protocols-the best strategies for recellularization

Exclusion criteria: no relevant outcomes reported

Outcomes will be assessed for risk of bias and GRADE quality control

Timing and effect measures

Better decellularization and recellularization protocols may encourage the production of new studies in tissue engineering. A viable dental pulp scaffold can be used to rehabilitate patients.

25. * Additional outcome(s).

List the pre-specified additional outcomes of the review, with a similar level of detail to that required for main outcomes. Where there are no additional outcomes please state 'None' or 'Not applicable' as appropriate to the review Not

applicable

Timing and effect measures

Not Applicable

26. * Data extraction (selection and coding).

Describe how studies will be selected for inclusion. State what data will be extracted or obtained. State how this will be done and recorded.

For each included study, the following general data were systematically

reported: publication details (authors and year), methodological details (stem cell type, scaffold type, adopted pulp decellularization / recellularization method) and outcome evaluation

(regeneration of dentinal pulp.). In both phases, discrepancies between the review authors were resolved by discussion.

All identified duplicate articles have been manually deleted.

Studies were uploaded to Endnote Basic (www.my-endnoteweb.com) to delete and build a virtual library.

Theses / abstracts that present the eligibility criteria that were included in the systematic review. For titles / resumes with insufficient information for an assessment, the full text was retrieved and evaluated. Full texts including eligibility criteria have been included.

All study titles and curricula were selected by two trained reviewers and calibrated for study selection based on the inclusion criteria.

27. * Risk of bias (quality) assessment.

Describe the method of assessing risk of bias or quality assessment. State which characteristics of the studies will be assessed and any formal risk of bias tools that will be used.

Two review authors will assess the risk of bias in the included studies according to the guidelines provided in Chapter 8 of the Cochrane Manual for Systematic Intervention Reviews (Higgins 2011). Any disagreement will be resolved by discussion between the authors. All included studies will be evaluated on the following seven specific key points: 1. sequence generation (selection bias); 2. allocation concealment (selection bias); 3. concealment of participants and staff (performance bias); 4. concealment

of outcome evaluator (detection bias);5. integrity of outcome data (friction bias);6. risk of selective data reporting (reporting bias);7. risk of another bias.

28. * Strategy for data synthesis.

Provide details of the planned synthesis including a rationale for the methods selected. This **must not be generic text** but should be **specific to your review** and describe how the proposed analysis will be applied to your data.

We will provide a narrative synthesis of the findings from the included studies, structured around the type of intervention, target population characteristics, type of outcome and intervention content. We will provide summaries of intervention effects for each study by calculating risk ratios (for dichotomous outcomes) or standardized mean differences (for continuous outcomes). We anticipate that there will be limited scope for meta-analysis because of the range of different outcomes measured across the small number of existing trials. Then this will be a qualitative systematic review.

29. * Analysis of subgroups or subsets.

State any planned investigation of 'subgroups'. Be clear and specific about which type of study or participant will be included in each group or covariate investigated. State the planned analytic approach.

This is a qualitative synthesis and while subgroup analyzes may be realized it is not possible to specify the groups in advance

30. * Type and method of review.

Select the type of review and the review method from the lists below. Select the health area(s) of interest for your review.

Type of review Cost effectivenessNo
 DiagnosticNo
 EpidemiologicNo
 Individual patient data (IPD) meta-analysisNo
 InterventionNo
 Meta-analysisNo
 MethodologyYes
 Narrative synthesisNo
 Network meta-analysisNo
 Pre-clinicalNo
 PreventionNo
 PrognosticNo
 Prospective meta-analysis (PMA)No
 Review of reviewsNo
 Service deliveryNo
 Synthesis of qualitative studiesNo

Systematic review Yes

Other No

Health area of the review

Alcohol/substance misuse/abuse No

Blood and immune system No

Cancer No

Cardiovascular No

Care of the elderly No

Child health No

Complementary therapies No

Crime and justice No

Dental Yes

Digestive system No

Ear, nose and throat No

Education No

Endocrine and metabolic disorders No

Eye disorders No

General interest No

Genetics No

Health inequalities/health equity No

Infections and infestations No

International development No

Mental health and behavioural conditions No

Musculoskeletal No

Neurological No

Nursing No

Obstetrics and gynaecology No

Oral health Yes

Palliative care No

Perioperative care No

PhysiotherapyNo
 Pregnancy and childbirthNo
 Public health (including social determinants of health)No
 RehabilitationNo
 Respiratory disordersNo
 Service deliveryNo
 Skin disordersNo
 Social careNo
 SurgeryNo
 Tropical MedicineNo
 UrologicalNo
 Wounds, injuries and accidentsNo
 Violence and abuseNo

31. Language.

Select each language individually to add it to the list below, use the bin icon to remove any added in error.English

There is not an English language summary

32. * Country.

Select the country in which the review is being carried out from the drop down list. For multi-nationalcollaborations select all the countries involved.

BrazilItaly

33. Other registration details.

Give the name of any organisation where the systematic review title or protocol is registered (such as with The Campbell Collaboration, or The Joanna Briggs Institute) together with any unique identification numberassigned. (N.B. Registration details for Cochrane protocols will be automatically entered). If extracted data will be stored and made available through a repository such as the Systematic Review Data Repository (SRDR), details and a link should be included here. If none, leave blank.

34. Reference and/or URL for published protocol.

Give the citation and link for the published protocol, if there is one

Give the link to the published protocol.

Alternatively, upload your published protocol to CRD in pdf format. Please note that by doing so you areconsenting to the file being made publicly accessible.

No I do not make this file publicly available until the review is complete

Please note that the information required in the PROSPERO registration form must be completed in full evenif access to a protocol is given.

35. Dissemination plans.

Give brief details of plans for communicating essential messages from the review to the appropriate audiences.

Do you intend to publish the review on completion?

Yes

36. Keywords.

Give words or phrases that best describe the review. Separate keywords with a semicolon or new line. Keywords will help users find the review in the Register (the words do not appear in the public record but are included in searches). Be as specific and precise as possible. Avoid acronyms and abbreviations unless these are in wide use.

37. Details of any existing review of the same topic by the same authors.

Give details of earlier versions of the systematic review if an update of an existing review is being registered, including full bibliographic reference if possible.

38. * Current review status.

Review status should be updated when the review is completed and when it is published. For new registrations the review must be Ongoing. Please provide anticipated publication date

Review_Ongoing

39. Any additional information.

Provide any other information the review team feel is relevant to the registration of the review.

40. Details of final report/publication(s).

This field should be left empty until details of the completed review are available.

Give the link to the published review.

ANEXO B- CHECKLIST PRISMA

Section/topic	#	Checklist item	Reported on page #
TITLE			
Title	1	Identify the report as a systematic review, meta-analysis, or both.	#paginas iniciais.
ABSTRACT			
Structured summary	2	Provide a structured summary including, as applicable: background; objectives; data sources; study eligibility criteria, participants, and interventions; study appraisal and synthesis methods; results; limitations; conclusions and implications of key findings; systematic review registration number.	#8,9
INTRODUCTION			
Rationale	3	Describe the rationale for the review in the context of what is already known.	#15,16,17
Objectives	4	Provide an explicit statement of questions being addressed with reference to participants, interventions, comparisons, outcomes, and study design (PICOS).	#18
METHODS			
Protocol and registration	5	Indicate if a review protocol exists, if and where it can be accessed (e.g., Web address), and, if available, provide registration information including registration number.	#17,18
Eligibility criteria	6	Specify study characteristics (e.g., PICOS, length of follow-up) and report characteristics (e.g., years considered, language, publication status) used as criteria for eligibility, giving rationale.	#18,19
Information sources	7	Describe all information sources (e.g., databases with dates of coverage, contact with study authors to identify additional studies) in the search and date last searched.	#19,20
Search	8	Present full electronic search strategy for at least one database, including any limits used, such that it could be repeated.	#19,20
Study selection	9	State the process for selecting studies (i.e., screening, eligibility, included in systematic review, and, if applicable, included in the meta-analysis).	#19,20,21
Data collection process	10	Describe method of data extraction from reports (e.g., piloted forms, independently, in duplicate) and any processes for obtaining and confirming data from investigators.	#20,21
Data items	11	List and define all variables for which data were sought (e.g., PICOS, funding sources) and any assumptions and simplifications made.	#18,19,20,21
Risk of bias in individual studies	12	Describe methods used for assessing risk of bias of individual studies (including specification of whether this was done at the study or outcome level), and how this information is to be used in any data synthesis.	#21,22
Summary measures	13	State the principal summary measures (e.g., risk ratio, difference in means).	#22
Synthesis of results	14	Describe the methods of handling data and combining results of studies, if done, including measures of consistency (e.g., I^2) for each meta-analysis.	#23

Section/topic	#	Checklist item	Reported on page #
---------------	---	----------------	--------------------

Risk of bias across studies	15	Specify any assessment of risk of bias that may affect the cumulative evidence (e.g., publication bias, selective reporting within studies).	#34,35
Additional analyses	16	Describe methods of additional analyses (e.g., sensitivity or subgroup analyses, meta-regression), if done, indicating which were pre-specified.	#35
RESULTS			
Study selection	17	Give numbers of studies screened, assessed for eligibility, and included in the review, with reasons for exclusions at each stage, ideally with a flow diagram.	#24,25
Study characteristics	18	For each study, present characteristics for which data were extracted (e.g., study size, PICOS, follow-up period) and provide the citations.	#15,19,20,21,22,23
Risk of bias within studies	19	Present data on risk of bias of each study and, if available, any outcome level assessment (see item 12).	#35
Results of individual studies	20	For all outcomes considered (benefits or harms), present, for each study: (a) simple summary data for each intervention group (b) effect estimates and confidence intervals, ideally with a forest plot.	#26
Synthesis of results	21	Present results of each meta-analysis done, including confidence intervals and measures of consistency.	#Estudos heterogêneos. Não se aplica meta-análise.
Risk of bias across studies	22	Present results of any assessment of risk of bias across studies (see Item 15).	#35
Additional analysis	23	Give results of additional analyses, if done (e.g., sensitivity or subgroup analyses, meta-regression [see Item 16]).	#Não foi feita meta análise
DISCUSSION			
Summary of evidence	24	Summarize the main findings including the strength of evidence for each main outcome; consider their relevance to key groups (e.g., healthcare providers, users, and policy makers).	#36
Limitations	25	Discuss limitations at study and outcome level (e.g., risk of bias), and at review-level (e.g., incomplete retrieval of identified research, reporting bias).	#37,38,39,40,41,42,43
Conclusions	26	Provide a general interpretation of the results in the context of other evidence, and implications for future research.	#45
FUNDING			
Funding	27	Describe sources of funding for the systematic review and other support (e.g., supply of data); role of funders for the systematic review.	#Não se aplica

From: Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, The PRISMA Group (2009). Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. PLoS Med 6(7): e1000097. doi:10.1371/journal.pmed1000097

For more information, visit: www.prisma-statement.org.

ANEXO C- comprovante de envio de artigo científico a revista

[Traduzir a mensagem para: Português \(Brasil\)](#) | [Nunca traduzir do: Inglês](#)

JD

Journal of Dentistry <em@editorialmanager.com>

Qua, 13/10/2021 02:48

Dear miss Amorim,

Your submission entitled "Decellularization and recellularization of dental pulps for the development of natural scaffolds - Systematic review Abstract" has been assigned the following manuscript number: JJOD-D-21-01307.

You will be able to check on the progress of your paper by logging on to the Editorial Manager as an author.

The URL is <https://www.editorialmanager.com/jjod/>.

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

Journal of Dentistry

#AU_JJOD#

To ensure this email reaches the intended recipient, please do not delete the above code

Submission Confirmation for Journal of Dentistry



[Traduzir a mensagem para: Português \(Brasil\)](#) | [Nunca traduzir do: Inglês](#)

JD

Journal of Dentistry <em@editorialmanager.com>

Dom, 10/10/2021 23:17

Para: Você

Dear miss Amorim,

Your submission entitled "Decellularization and recellularization of dental pulps for the development of natural scaffolds - Systematic review Abstract" has been received by the Journal of Dentistry.

You will be able to check on the progress of your paper by logging on to Editorial Manager as an author. The URL is <https://www.editorialmanager.com/jjod/>.

Your manuscript will be given a reference number once an Editor has been assigned.

Thank you for submitting your work to the Journal of Dentistry.

Kind regards,

Journal of Dentistry

#AU_JJOD#

To ensure this email reaches the intended recipient, please do not delete the above code

In compliance with data protection regulations, you may request that we remove your personal registration details at any time. (Use the following URL: <https://www.editorialmanager.com/jjod/login.asp?a=r>). Please contact the publication office if you have any questions.