

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

Grazielle Cristhina de Barros Oliveira

**Regeneração pulpar baseada em scaffolds: Engenharia Tecidual aplicada à
Endodontia**

Juiz de Fora
2023

Grazielle Cristhina de Barros Oliveira

Regeneração pulpar baseada em scaffolds: Engenharia Tecidual aplicada à Endodontia

Monografia apresentada ao curso de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Cirurgiã-Dentista.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Márcio Resende do Carmo

Juiz de Fora

2023

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

de Barros Oliveira, Grazielle Cristhina .

Regeneração pulpar baseada em scaffolds : Engenharia Tecidual aplicada à Endodontia / Grazielle Cristhina de Barros Oliveira. -- 2023.

41 p.

Orientador: Antônio Márcio Resende do Carmo
Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Odontologia, 2023.

1. Scaffolds. 2. Biomateriais. 3. Polpa Dentária. 4. Regeneração Pulpar. I. Resende do Carmo, Antônio Márcio , orient. II. Título.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
REITORIA - FACODONTO - Coordenação do Curso de Odontologia

GRAZIELLE CRISTHINA DE BARROS OLIVEIRA

Regeneração pulpar baseada em scaffolds: Engenharia tecidual aplicada à endodontia

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Cirurgião-Dentista.

Aprovado em 09 de março de 2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Antônio Marcio Resende do Carmo
Universidade Federal de Juiz de Fora

Profª. Drª. Graciele Prado Elias
Universidade Federal de Juiz de Fora

Profª. Drª. Aneliese Holetz de Toledo Lourenço
Universidade Federal de Juiz de Fora

Dedico este trabalho aos meus pais, Sandro Luiz de Oliveira e Monica B. S. Oliveira, aos meus irmãos Sandro Jr. e Luiz Augusto, e ao meu amor Wendell Almeida que estiveram sempre presentes, me dando todo apoio, amor e suporte.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus que tem sido minha fortaleza, aquele que me vê nos momentos em que ninguém me vê, em sua grandeza me observa com carinho e amor, supre minhas necessidades, e me faz entender que Ele é capaz de fazer infinitamente mais do que sou capaz de sonhar ou desejar, que é melhor estar em Suas mãos do que em minhas próprias mãos, a Ele toda honra e toda Glória.

Agradeço em especial a minha família, só nós e Deus sabemos as provas que enfrentamos para que hoje eu estivesse aqui. Em cada passo dado eles estavam comigo. Por trás de cada mensalidade de cursinho tinha um sacrifício seja da mamãe investindo quase tudo do pagamento, do papai trabalhando a semana toda e ainda pegando serviço extra sábado, dos avós contribuindo para as aulas de exatas. Agradeço também ao meu namorado pelo carinho apoio e companheirismo nessa jornada. Sem as palavras que ouvi, sem a dedicação, educação e altruísmo deles para comigo eu seria alguém em um labirinto correndo contra o tempo sem conseguir chegar à saída. Vocês foram um farol em meio a tudo isso, para onde eu voltava quando a tempestade não cessava e a minha festa quando finalmente o sol chegava. A minha alegria é ter vocês para compartilhar esse momento.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Antônio Márcio Resende do Carmo, pela dedicação, paciência e por acreditar que eu era capaz de desenvolver este trabalho mesmo com um tema de relevante complexidade. Simplesmente me orientou com naturalidade, digo isso pois em tantos momentos eu já fui subestimada e desencorajada, mas através do senhor, e sua forma de encarar esse desafio, pude aprender muito e entender que eu também sou capaz. Muito obrigada!

RESUMO

A utilização de scaffolds na regeneração pulpar é uma técnica promissora que apresenta diversas vantagens em relação às técnicas convencionais de endodontia. Este estudo foi realizado com o objetivo de fornecer uma visão ampla dos biomateriais empregados como scaffolds na endodontia regenerativa, suas propriedades favoráveis e limitações. A pesquisa foi feita através do portal “PubMed”, utilizando como descritores: “dental pulp regeneration”, “regenerative endodontics”, “pulp regeneration scaffolds”, “biomaterials for pulp regeneration”. A terapia endodôntica convencional propõe a remoção do tecido pulpar inflamado ou infectado, através da desinfecção do espaço do canal radicular, conformação do canal e obturação com material inerte. A justificativa biológica para essa técnica é baseada no fato de que o tecido pulpar infectado pode levar a uma resposta inflamatória no tecido periapical, resultando em dor, inchaço e, em casos mais graves, abscesso ou celulite. No entanto, a remoção do tecido pulpar pode enfraquecer a estrutura do dente, tornando-o mais propenso a fraturas, a técnica convencional também pode resultar na remoção excessiva de dentina, o que pode comprometer a resistência do dente às forças oclusais. Dessa forma a regeneração pulpar baseada em scaffolds pode ser a terapia ideal para evitar o enfraquecimento da estrutura dentária causada pela terapia endodôntica convencional, isso porque essa nova técnica visa estimular a regeneração e formação de um novo tecido pulpar funcional, mantendo a integridade estrutural do dente e reduzir a necessidade de intervenções adicionais. Através da aplicação dos princípios de engenharia de tecidos, ao transplantar células-tronco juntamente com fatores de crescimento e um scaffold biológico na cavidade pulpar preparada, as células-tronco podem proliferar e se diferenciar em várias células para alcançar a regeneração funcional da polpa. Foi possível constatar que, embora essa técnica ainda esteja em fase de desenvolvimento e aprimoramento, as evidências científicas disponíveis sugerem que ela pode ser uma alternativa viável à terapia endodôntica convencional.

Palavras-chave: Scaffolds. Biomateriais. Polpa Dentária. Regeneração Pulpar.

ABSTRACT

The use of scaffolds in pulpal regeneration is a promising technique that has several advantages over conventional endodontic techniques. This study was carried out with the aim of providing a broad view of the biomaterials used as scaffolds in regenerative endodontics, their favorable properties and limitations. The research was carried out through the “PubMed” portal, using the following descriptors: “dental pulp regeneration”, “regenerative endodontics”, “pulp regeneration scaffolds”, “biomaterials for pulp regeneration”. Conventional endodontic therapy proposes the removal of inflamed or infected pulp tissue, through disinfection of the root canal space, canal conformation and obturation with inert material. The biological rationale for this technique is based on the fact that infected pulpal tissue can lead to an inflammatory response in the periapical tissue, resulting in pain, swelling and, in more severe cases, abscess or cellulitis. However, removal of pulp tissue can weaken the structure of the tooth, making it more prone to fractures, the conventional technique can also result in excessive removal of dentin, which can compromise the resistance of the tooth to occlusal forces. In this way, pulp regeneration based on scaffolds can be the ideal therapy to avoid the weakening of the tooth structure caused by conventional endodontic therapy, because this new technique aims to stimulate the regeneration and formation of a new functional pulp tissue, maintaining the structural integrity of the tooth. and reduce the need for additional interventions. Through the application of tissue engineering principles, by transplanting stem cells along with growth factors and a biological scaffold into the prepared pulp cavity, the stem cells can proliferate and differentiate into various cells to achieve functional regeneration of the pulp. It was found that, although this technique is still in the development and improvement phase, the available scientific evidence suggests that it may be a viable alternative to conventional endodontic therapy.

Key Words: Scaffolds. Biomaterials. Dental Pulp. Pulp Regeneration.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3D	Tridimensional
AH	Ácido hialurônico
ALP	Fosfatase alcalina
BMP	Proteína morfogenética óssea
CGF	Fatores de Crescimento Concentrados
CIV	Cimento de ionômero de vidro
CSF	Colágeno tipo I/fibroína de seda
DPSCs	Células-tronco da polpa dentária
DSPP	Sialofosfoproteína da Dentina
EC	Células- endoteliais
ECM	Matriz extracelular
FM	Fibrina
GM	Gelatina
hDPSCs	Células-tronco derivadas da polpa dental humana
HUVECs	Células endoteliais da veia umbilical humana
JEC	Matriz Extracelular Colagenosa
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MSCs	Células-Tronco Mesenquimais
MTT	Mistura de três antibióticos
ODPC	Células da polpa dentária de ovinos cultivadas
PBMT	Terapia de fotobiomodulação
PC	Coágulo sanguíneo autólogo
PEG	Poli(etil)enoglicol
PPP	Plasma pobre em plaquetas
PRF	Fibrina rica em plaquetas
PRP	Plasma rico em plaquetas
RAD	Regeneração Assistida por Dispositivo
RET	Terapia endodôntica regenerativa
RM	Ressonância Magnética
SCAPs	Células-tronco da papila apical
SF	Fibroína de seda
SF-RGD-SCF	Fator de célula-tronco de fibroína-RGD de seda

VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular
HMSCs	Células-tronco mesenquimais humanas

LISTA DE SÍMBOLOS

°C Graus celsius

% Por cento

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 PROPOSIÇÃO	16
3 REVISÃO DE LITERATURA	17
4 DISCUSSÃO	33
5 CONCLUSÃO	39
REFERÊNCIAS	40

1 INTRODUÇÃO

Com o desenvolvimento da medicina regenerativa, a regeneração da polpa com funções biológicas é uma nova direção para o tratamento de doenças da polpa dentária. Ao transplantar células-tronco juntamente com fatores de crescimento e um scaffold biológico na cavidade pulpar preparada, as células-tronco podem proliferar e se diferenciar em várias células na polpa para alcançar a regeneração pulpar funcional. (HU et al., 2017).

Um dos aspectos-chave dessa estratégia moderna diz respeito ao uso de materiais biodegradáveis como scaffolds para o crescimento tridimensional (3D) das células previamente expandidas in vitro (FERRONI et al., 2015). Os scaffolds desempenham um papel importante na engenharia de tecidos, fornecendo uma estrutura espacial tridimensional temporária e um componente de matriz extracelular (ECM) para manter o ambiente regenerativo e a função das células-tronco (HU et al., 2017). O desenvolvimento e a seleção de scaffolds apropriados que conduzam à regeneração pulpar-dentinária são um dos desafios da endodontia regenerativa. Para a regeneração pulpar, um scaffold do tipo gel injetável é preferível porque se adapta bem a geometrias irregulares do canal radicular e complexidade do canal radicular para permitir interação célula-matriz eficiente e entrega controlada de moléculas bioativas (JANG et al., 2020).

Os scaffolds mais utilizados com células-tronco variam de acordo com a aplicação desejada e a fonte das células. Algumas opções comuns incluem: os hidrogéis, matrizes de colágeno, scaffolds eletrospun e scaffolds impressos em 3D. Os hidrogéis são uma opção popular para aplicações de engenharia de tecidos, pois são altamente hidratados e podem imitar a matriz extracelular natural do tecido. Há uma grande variedade de hidrogéis disponíveis, cada um com diferentes propriedades físicas e químicas que podem ser ajustadas para se adequar às necessidades específicas da aplicação. Os hidrogéis podem ser derivados de fontes naturais, como colágeno ou gelatina, ou sintéticas, como o polietilenoglicol (PEG). O colágeno é uma proteína estrutural importante encontrada em muitos tecidos do corpo, incluindo pele, ossos e cartilagem. Matrizes de colágeno podem ser usadas para fornecer um ambiente tridimensional (3D) para as células-tronco se desenvolverem e se diferenciarem. Além disso, matrizes de colágeno podem ser modificadas para imitar as propriedades mecânicas e químicas do tecido nativo. Scaffolds eletrospun são

feitos através de um processo que usa um campo elétrico para criar fibras ultrafinas a partir de soluções poliméricas. Essas fibras podem ser organizadas em um arranjo tridimensional para imitar a estrutura do tecido nativo. Os scaffolds eletrospun podem ter propriedades variadas, dependendo do tipo de polímero utilizado e das condições de produção. Os scaffolds impressos em 3D são produzidos por meio de impressoras 3D que depositam camadas de material para construir uma estrutura tridimensional. Esses scaffolds podem ser personalizados para se adequar às necessidades específicas de cada paciente, e podem ser projetados para liberar fatores de crescimento ou outros compostos bioativos para ajudar a promover a diferenciação celular. Existem muitas outras opções de scaffolds disponíveis, e a escolha do scaffold certo depende da aplicação específica e do tipo de célula-tronco que está sendo usado (MURPHY e ATALA, 2014).

Dentre os scaffolds mais utilizados com células-tronco da polpa dentária, destacam-se hidrogéis, biomateriais à base de colágeno, matrizes extracelulares, materiais à base de quitosana e nanofibras (HUANG et al., 2009). De acordo com Wang et al., 2011, o scaffold mais utilizado com células-tronco da polpa dentária é o hidrogel. Hidrogéis são materiais biocompatíveis que possuem alta capacidade de retenção de água, o que os torna adequados para suportar o crescimento celular e a diferenciação. O hidrogel pode ser usado como uma matriz para incorporar as células-tronco da polpa dentária e fornecer um ambiente tridimensional que promove a sua proliferação e diferenciação.

2 PROPOSIÇÃO

O propósito deste trabalho foi estudar através da revisão da literatura a regeneração pulpar baseada em scaffolds por meio da engenharia tecidual aplicada à endodontia.

3 REVISÃO DE LITERATURA

Dissanayaka et al. (2015) realizaram um estudo com o objetivo de investigar o papel das células-tronco da polpa dentária (DPSCs) no desencadeamento da angiogênese e o potencial de regeneração da polpa vascularizada usando o peptídeo hidrogel PuraMatrix™ como scaffold. Foram isoladas DPSCs de terceiros molares hígidos recém-extraídos de seres humanos com idades entre 18 e 25 anos. DPSCs isoladas de três doadores humanos foram caracterizadas e usadas individualmente em experimentos em triplicata. As células endoteliais da veia umbilical humana (HUVECs) que foram obtidas comercialmente foram cultivadas em meio de células endoteliais a 37°C com 5% de CO₂. As HUVECs e DPSCs ou coculturas de ambos os tipos de células foram encapsuladas em PuraMatrix tridimensional. Como resultado foi possível observar que as DPSCs isoladas mostraram diferenciação odonto/osteogênica, neurogênica e adipogênica após serem induzidas por meios de indução relevantes por um período de 3 semanas; Secretam fatores de crescimento pró-angiogênicos que inibem a apoptose de células- endoteliais (EC) e promovem a formação de tubos endoteliais; Aumentaram a formação precoce da rede vascular, facilitando a migração de HUVECs e aumentando a expressão do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF). Ambos os grupos DPSC-monocultura e cocultura exibiram tecido vascularizado semelhante a polpa com manchas de osteodentina após transplante em camundongos. Os grupos cocultivados exibiram mais matriz extracelular, vascularização e mineralização do que as monoculturas DPSC in vivo. Os autores concluíram que um ambiente nanofibroso peptídico pode ser exclusivamente apropriado como um scaffolds de engenharia de tecidos para a regeneração de tecidos vasculares além da importância de criar um microambiente que suporte a comunicação celular e a migração celular, o que contribui para a criação de um ambiente ideal para a regeneração da polpa dentária.

Ferroni et al. (2015) realizaram um estudo com o objetivo de apresentar um método de regeneração endodôntica baseado no uso de um scaffold de hialuronano tridimensional (3D) e células-tronco da polpa dentária humana (DPSCs) para produzir um tecido semelhante à polpa dentária funcional in vitro. Uma população enriquecida de DPSCs foi isolada de terceiros molares de seres humanos saudáveis removidos para fins ortodônticos de adultos de 18 a 35 anos de idade e expandida em placas de cultura de tecidos na presença de meio basal. As DPSCs expandidas revelaram um

bom potencial proliferativo e a capacidade de alcançar a confluência rapidamente. A fim de regenerar o tecido da polpa dentária formado por diferentes tipos de células (odontoblastos, células endoteliais, neurônios e células gliais) as DPSCs foram semeadas em scaffolds à base de hialuronano previamente incorporados com fatores neuronais e gliais, depois cultivados com meio de diferenciação osteoendotelial por 21 dias. Para avaliar a produção de ECM por DPSCs, foi realizada coloração IF de colágeno tipo I, o principal componente fibroso da ECM da polpa dentária. Ao mesmo tempo, a análise da expressão gênica de marcadores de diferenciação múltipla foi realizada. A expressão de marcadores endoteliais, osteo/odontogênicos, neuronais e gliais foi avaliada após 21 dias em DPSCs semeadas em scaffolds à base de hialuronano na presença do meio de diferenciação em relação às construções 3D cultivadas em meio basal. Como resultado a coloração positiva para colágeno tipo I confirmou a capacidade de DPSCs para sintetizar componentes ECM dentro de fibras de hialuronano. Após 21 dias de cultivo 3D in vitro, as DPSCs apresentaram aquisição dos fenótipos endotelial, neuronal e glial. Quanto a análise de expressão gênica altos níveis de expressão foram detectados. A construção de hialuronano-DPSCs mostrou uma morfologia semelhante à polpa dentária que consiste em várias células especializadas crescendo dentro das fibras de hialuronano. Os autores concluíram que a combinação de um biomaterial à base de hialuronano e DPSCs pode ser uma boa estratégia para gerar um tecido semelhante à polpa dentária.

Gathani e Raghavendra (2016) realizaram uma revisão de literatura sobre os diferentes tipos de scaffolds tendo como objetivo fornecer uma visão sobre as novas abordagens de desenvolvimento atualmente. Foi realizada uma busca usando os bancos de dados Pubmed e MEDLINE para artigos com os critérios 'Platelet rich plasma', 'Platelet rich fibrin', 'Stem cells', 'Natural and artificial scaffolds' rastreando artigos relevantes publicados entre o período de 1982 a 2015. Como resultado os autores observaram que os três principais ingredientes para a regeneração são fatores de crescimento, progenitoras/células-tronco e o scaffold da matriz extracelular. Os fatores de crescimento regulam as células transplantadas ou as células endógenas na regeneração da polpa e da dentina. Eles são polipeptídios ou proteínas que se ligam a receptores específicos na superfície das células-alvo (por exemplo, receptores de proteína morfogenética óssea [BMP]) que afetam uma ampla gama de atividades celulares, incluindo migração, proliferação, diferenciação e apoptose de todas as células da polpa dentária, incluindo células-tronco/progenitoras. Scaffolds são

biomateriais sólidos porosos tridimensionais (3D) projetados para: Fornecer uma posição espacialmente correta da localização da célula; Promover interações célula-biomaterial, adesão celular e deposição de ECM; Permitir o transporte suficiente de gases, nutrientes e fatores reguladores para permitir a sobrevivência, proliferação e diferenciação celular; Biodegradar a uma taxa controlável que se aproxima da taxa de regeneração do tecido; Provocar um grau mínimo de inflamação ou toxicidade in vivo. Além das células sanguíneas, a maioria das células normais nos tecidos humanos são dependentes de ancoragem, residindo em uma matriz sólida chamada ECM. O melhor scaffold para um tecido manipulado deve ser o ECM do tecido alvo em seu estado nativo. O colágeno é o principal componente das matrizes extracelulares como scaffold permite a fácil colocação de células e fatores de crescimento e possibilita a substituição por tecidos naturais após sofrer degradação. O colágeno também pode ser processado em uma variedade de formatos. Entretanto é mecanicamente fraco e sofre rápida degradação e contração (encolhimento). A quitosana é produzida comercialmente pela desacetilação da quitina, é atóxica, facilmente bioabsorvível, apresenta atividade antibacteriana, tem capacidade de formação de gel, apresenta proliferação de fibroblastos e odontoblastos, aumenta a adesão e proliferação celular. Porém apresenta baixa resistência e comportamento inconsistente com células semeadas, difícil de controlar com precisão o tamanho dos poros do hidrogel e modificações químicas em sua estrutura podem induzir toxicidade. O ácido hialurônico (AH) ajuda na diferenciação de células mesenquimais dentárias em odontoblastos, contribui para a formação da matriz dentinária e da polpa dentária, é biocompatível, biodegradável, bioativo, não imunogênico e não trombogênico, desempenha um papel benéfico na cicatrização de feridas, pode ser usado como scaffold injetável e também como esponja HA. Contudo é altamente solúvel em água, degrada-se rapidamente por enzimas como a hialuronidase, especialmente quando não está na forma de hidrogel e carece de integridade mecânica em meio aquoso. No entanto, essas desvantagens podem ser superadas pela reticulação e modificação do HÁ. Os autores concluíram que diferentes scaffolds facilitam a regeneração de diferentes tecidos. Para garantir um procedimento regenerativo bem-sucedido, é essencial ter um conhecimento completo e preciso sobre o scaffold adequado para o tecido necessário.

Altall et al. (2017) realizaram um estudo in vitro com objetivo de avaliar o efeito do scaffold de plasma rico em plaquetas (PRP) na proliferação, migração e diferenciação de células da polpa dentária de ovinos cultivadas (ODPC) na presença

de dentina. O PRP foi preparado a partir da coleta do sangue venoso de ovelhas saudáveis com 1 ano de idade em tubos de sangue de 3,5 mL contendo 3,2% de citrato de sódio. O sangue foi centrifugado a 140 g por 12 min. ODPC foram cultivadas sozinhas ou em scaffolds de PRP ou plasma pobre em plaquetas (PPP) em placas de 48 poços. Cada um dos grupos experimental e controle incluiu 12 poços, com seis contendo um único disco de dentina. O método de avaliação usado foram as taxas de proliferação, migração e diferenciação celular. Como resultado as taxas de proliferação, migração e mineralização foram significativamente maiores em ODPC cultivado em scaffold de PRP do que em PPP ou sem scaffolds. Entretanto o potencial de proliferação e mineralização das células foi reduzido pelos discos de dentina. Os autores concluíram que o scaffolds de PRP preparado usando um protocolo simples de centrifugação de sangue tem um efeito positivo no aumento da proliferação, migração e diferenciação de ODPC. Sugerindo um protocolo promissor para uso clínico no tratamento de regeneração/revitalização endodôntica. Entretanto o efeito adverso da dentina e/ou soluções de irrigação nas atividades das células da polpa dentária requer investigação adicional.

Hu et al. (2017) realizaram uma pesquisa com o objetivo de investigar as características da ECM de polpa dentária descelularizada de suínos e avaliar se ela poderia mediar a regeneração pulpar. O estudo foi realizado laboratorialmente utilizando-se de uma amostra de polpas dentárias de dentes anteriores localizados na mandíbula de oito suínos com 12 meses de idade. As polpas foram descelularizadas com dodecil sulfato de sódio 10% combinado com Triton X-100. Durante 8 semanas a regeneração da polpa dentária foi guiada pela semeadura de células-tronco da polpa dentária humana em polpa descelularizada e transplantada subcutaneamente em camundongos nude. Como resultado a análise histológica evidenciou que após a descelularização a forma da polpa natural foi mantida e a estrutura da matriz extracelular (principalmente colágeno) foi preservada, além disso tecidos mineralizados recém-formados foram regenerados após serem transplantados in vivo. Os autores concluíram que a polpa dentária suína descelularizada mantém os componentes da ECM favorecendo a proliferação e diferenciação de células-tronco, representando assim um scaffold adequado para melhorar os resultados clínicos e as funções de dentes com doenças da polpa dentária.

Liu et al. (2017) realizaram uma pesquisa com o objetivo de combinar RAD e Dentonin para formar um scaffold de hidrogel de peptídeo automontado

RAD/Dentonina funcionalizado para promover regeneração pulpar. As amostras foram personalizadas e sintetizadas em fase sólida de peptídeos, projetando um novo peptídeo automontado funcionalizado RAD/Dentonin. O scaffold RAD/Dentonin foi analisado em 3 aspectos, quanto as suas propriedades físico-químicas, biocompatibilidade e capacidade de provocar diferenciação odontogênica. As propriedades físico-químicas do RAD/Dentonin foram analisadas por meio de dicroísmo circular, varredura morfológica e reologia. Os espectros de dicroísmo circular foram usados para investigar a estrutura secundária do peptídeo automontado funcional RAD/Dentonina. A análise morfológica SEM proporcionou a visualização da morfologia da superfície do scaffold de hidrogel de peptídeo após a secagem. E o reômetro estudou as propriedades mecânicas de hidrogéis de peptídeos. Para examinar a biocompatibilidade foram utilizados, coloração imunofluorescente, método CCK-8, coloração fluorescente Live/Dead e reconstrução 3D. Através da coloração imunofluorescente foi avaliada a adesão e extensão de hDPSCs (células-tronco derivadas da polpa dental humana) em RAD e RAD/Dentonina. Por meio da análise dos resultados do método CCK-8 foi avaliada a capacidade de proliferação de hDPSCs em scaffolds RAD e peptídeo funcionalizado RAD/Dentonina. A coloração fluorescente foi usada para determinar a proporção de células vivas e mortas de hDPSCs no scaffold de hidrogel de peptídeo automontado indicando a biocompatibilidade do scaffold. Com relação a reconstrução 3D as hDPSCs foram inoculadas em superfícies de hidrogel de peptídeos e observadas sua capacidade de migração 3D por microscopia confocal a laser. Para detectar efeito de RAD/Dentonina na diferenciação odontogênica de hDPSCs foi realizado o ensaio de atividade de ALP, RT-qPCR, e coloração com vermelho S de alizarina, nesse ensaio os complexos de scaffold celular foram induzidos por diferenciação osteogênica. Como resultado foi possível observar que RAD/Dentonin se monta espontaneamente em um hidrogel com uma estrutura de rede de nanofibra baseada em folha β . In vitro, RAD/Dentonin tem biocompatibilidade superior e aumenta a proliferação adesiva, migração, diferenciação odontogênica e deposição de mineralização de hDPSCs. Os autores concluíram que o novo peptídeo automontado RAD/Dentonin é um novo material de suporte adequado para cultura de células e tem aplicações promissoras como suporte para engenharia de tecidos endodônticos.

Huang et al. (2018) realizaram uma pesquisa com o objetivo de avaliar o potencial dos scaffolds de ECM duplos quanto sua capacidade de promover

vascularização, fixação, proliferação e diferenciação de células-tronco mesenquimais (MSC) quando comparados aos scaffolds de ECM de polpa. Um hidrogel à base de colágeno-quitosana foi usado como material de partida para a geração de scaffolds embutidos em ECM, as DPSCs foram incorporadas dentro de hidrogéis de quitosana de colágeno e o scaffold de ECM de polpa foi gerado por descelularização após uma cultura de 2 semanas das DPSCs dentro do hidrogel. Os scaffolds de ECM duplos foram gerados com os scaffolds de ECM de polpa como material base. Para a geração dos scaffolds de ECM duplos, HUVECs foram semeados dentro dos scaffolds de ECM de polpa descelularizada e os construtos foram cultivados em meio de cultura HUVEC por 1 semana. In vitro foi realizada a proliferação de DPSCs e células-tronco mesenquimais humanas (HMSCs) em ECM de polpa e scaffolds de ECM duplos onde 20.000 células foram semeadas nos respectivos suportes colocados em placas de ensaio de 96 poços e o aumento no número de células foi medido durante um período de 10 dias usando o kit de titulação de células (Promega). In vivo foi realizado um modelo de Implantação subcutânea de fatia de raiz dentária, para isso 100.000 células (DPSC ou HMSCs) foram semeadas nos suportes de controle, polpa ou ECM duplos. As fatias da raiz foram então preenchidas com os respectivos scaffolds no espaço correspondente ao canal radicular e implantados subcutaneamente bilateralmente nas costas de camundongos imunocomprometidos por um período de 4 semanas. Como resultado do experimento in vitro foi possível observar que os scaffolds de ECM duplos possuem propriedades semelhantes ao scaffold polpa-ECM para promover a adesão de MSC e diferenciação odontogênica. O estudo in vivo revelou que os scaffolds de ECM duplos promoveram uma diferenciação odontogênica robusta de MSCs derivadas de polpa dentária e medula óssea, e extensa vascularização. Os autores concluíram que tais scaffolds têm o potencial de substituir a terapia de canal radicular como tratamento para cárie dentária crônica.

Jin et al. (2018) realizaram um estudo com objetivo de investigar os efeitos biológicos do fator de crescimento concentrado em células-tronco da polpa dental humana. O fator de crescimento concentrado foi preparado por um programa especial de centrifugação onde o sangue venoso foi coletado de oito voluntários saudáveis. Para sua caracterização os scaffolds de fatores de crescimento concentrados (CGF) foram cortados em pequenos discos em que foram semeados um total de 10.000 DPSCs e incubados a 37°C por 7 dias. As propriedades de ultraestrutura dos scaffolds de CGF e sua biocompatibilidade com DPSCs foram avaliadas por microscopia

eletrônica de varredura. Como resultado foi observado que a morfologia da superfície por microscopia eletrônica de varredura (MEV) indicou que os scaffolds de CGF tinham redes 3D complexas compostas de fibras de fibrina intimamente entrelaçadas com numerosas plaquetas e leucócitos presos dentro de suas malhas. Além disso, as DPSCs aderiram bem à superfície do scaffold enviando processos celulares para os poros do CGF. O que indica grande biocompatibilidade dos scaffolds de CGF com células-tronco da polpa dentária. As taxas de proliferação celular foram testadas pelo ensaio CCK-8 em diferentes cursos de tempo, o CGF promoveu a proliferação de DPSC de maneira dose-dependente. A atividade quimiotática de CGF em DPSCs foi avaliada por ensaio in vitro de cicatrização de feridas. Os resultados indicaram que as baixas concentrações (10% e 20%) de CGF estimularam significativamente a migração celular em comparação com os controles ($p < 0,05$). Após a indução proliferativa a atividade de ALP e a expressão de DSPP e DMP-1 foram detectadas para comparação da eficiência de diferenciação celular. Observou-se que, em comparação com os controles, o tratamento com 20% de CGF aumentou significativamente a atividade da enzima celular no dia 9 e a expressão de DSPP e DMP-1 em ambos os genes e níveis de proteína. Os autores concluíram que o fator de crescimento concentrado promoveu a proliferação celular, migração e o processo de dentinogênese e angiogênese mediado por células-tronco da polpa dentária, pelo qual pode atuar como um scaffold carregado de fator de crescimento para facilitar a cicatrização do complexo dentina-polpa.

Matoug-Elwerfelli et al. (2018) realizaram um estudo com o objetivo de investigar a viabilidade da descelularização pulpar para desenvolver uma scaffold de ECM biológica descelularizada para uso em procedimentos endodônticos regenerativos. Polpas dentárias humanas descelularizadas foram avaliadas por métodos histológicos e imuno-histoquímicos. Ensaio de citotoxicidade para determinar a biocompatibilidade do scaffold descelularizado também foram realizados. Como resultado a coloração H&E dos tecidos de controle revelou uma estrutura altamente celular cercada por ECM frouxa. A histoarquitetura pulpar normal, com zonas distintas era evidente. A coloração com vermelho Picrosirius resultou em uma rica rede porosa de fibras de colágeno nos tecidos de controle. A imunomarcagem dos tipos de colágeno I e III mostrou uma forte coloração intensa de uma rica rede de fibras de colágeno nos tecidos de controle. Após a descelularização, a distribuição e a qualidade da estrutura do colágeno foram amplamente mantidas. Nos tecidos de

controle, a marcação de fibronectina apareceu como um plexo fibroso em toda a matriz com concentração densa ao redor dos vasos sanguíneos, enquanto a marcação de laminina foi vista principalmente ao redor dos vasos sanguíneos. Os tecidos descelularizados não apresentaram evidência de citotoxicidade, com crescimento celular em contato direto com o scaffold e sem redução da atividade celular após a incubação do extrato. Além disso, o scaffold foi capaz de suportar a viabilidade e a adesão das células-tronco da polpa dentária humana após a recelularização. Os autores concluíram que resultados promissores foram observados no desenvolvimento de um scaffold biológico descelularizado derivado da polpa dentária com a preservação de componentes estruturais extracelulares que são necessários para a regeneração específica do tecido.

Renata-Lobo (2018) realizou uma revisão de literatura com objetivo de mostrar insights sobre regeneração pulpar. Como resultado os autores observaram que o processo de regeneração do complexo dentino-pulpar é guiado pela complexa interação entre: Sinais moleculares que induzem a diferenciação de células que constituem a polpa dentária; Células que responderão a esses sinais; Scaffolds que transportarão ou atrairão essas células e fornecerão um ambiente para proliferar, diferenciar e desenvolver um tecido com as características e funções da polpa normal. Os sinais moleculares são necessários para a síntese e secreção da matriz mineralizada nos tecidos duros. Vários reguladores da formação óssea estão relacionados ao desenvolvimento dos odontoblastos. É bem conhecido que o fator de crescimento de fibroblastos, fator de crescimento epidérmico e fator de necrose tumoral- β , entre outros, regulam a proliferação e diferenciação de precursores de odontoblastos. Na terapia odontológica, algumas moléculas dentro da matriz extracelular podem ter potencial como agentes bioativos para reparação pulpar ou engenharia de tecidos. As células-tronco são o segundo elemento chave para a engenharia da polpa dentária. A descoberta de DPSCs evoca uma fonte importante e acessível de células indiferenciadas, com potencial para uso por semeadura ou recrutamento em muitas terapias potenciais. Como resposta de defesa, os odontoblastos podem ser substituídos por meio da migração e diferenciação de DPSCs residentes. Essas células produzem uma matriz colagenosa e depois se mineralizam para manter o equilíbrio e a vitalidade da polpa dentária. A compreensão dos mecanismos intrínsecos associados à capacidade protetora da polpa dentária é a base fundamental para a aplicação de abordagens semelhantes para induzir a

regeneração pulpar terapeuticamente. DPSCs isoladas podem se diferenciar em células semelhantes a odontoblastos *in vitro*, positivas para fatores de mineralização e, portanto, adequadas para a formação do novo complexo dental-polpa. A associação de células-tronco e sinais moleculares deve se desenvolver em um microambiente útil, chamado de scaffolds bioativos. Esses microambientes devem fornecer uma estrutura para fixação, diferenciação e proliferação de células-tronco guiadas por moléculas morfogênicas. Vários materiais e modelos têm sido desenvolvidos, por exemplo, polímeros com flexibilidade e degradabilidade adequadas, polímeros sintéticos (ácido poli-L-láctico) como modelo para estudos mecânicos, co-polímeros (ácido poliláctico-co-glicólico), gelatina e outros. No entanto, foi demonstrado que scaffolds de polímero duro não são práticos para aplicações clínicas. Portanto, scaffolds injetáveis parecem ser a melhor opção. Os hidrogéis injetáveis penetram em todo o sistema de canais radiculares e são propícios à sobrevivência e proliferação de células-tronco.

Farzin et al. (2019) realizaram uma revisão de literatura com o objetivo de examinar as propriedades de diferentes polímeros e cerâmicas para uso como scaffolds na regeneração dentária. Foi realizada uma busca bibliográfica em bancos de dados como Elsevier, Wiley, Google Scholar e Pubmed em inglês rastreando artigos relevantes publicados entre o período de 1972 a 2018. Como resultado, os autores observaram que por serem semelhantes a diferentes tecidos, os biomateriais de scaffold para aplicações de regeneração dentária devem atender a alguns requisitos, como: Propriedades mecânicas; Biocompatibilidade; Arquitetura de scaffold; Biodegradabilidade. A fibrina é um biopolímero natural formado por uma reação enzimática de fibrinogênio e trombina. Suas propriedades como adesão celular, biocompatibilidade e resposta imune são melhores quando comparadas com outros polímeros de origem natural como o colágeno. No entanto, alta retração, rápida degradação e baixas propriedades mecânicas são suas desvantagens. O ácido hialurônico é um glicosaminoglicano aniônico e não sulfatado encontrado extensivamente na ECM de tecidos conjuntivos, epiteliais e neurais. Embora o ácido hialurônico seja um polímero biocompatível, suas fracas propriedades mecânicas e rápida taxa de degradação limitam seu amplo uso em aplicações de engenharia de tecidos. No entanto, tanto a resistência mecânica quanto a taxa de dissolução podem ser controladas usando reticulação e modificação química. Alginato como um polissacarídeo natural é um polímero não tóxico e biocompatível que pode ser considerado um biomaterial injetável para aplicações de regeneração dentinária. No

entanto, sua força mecânica enfraquecida limita as aplicações extensas de Alg em aplicações de engenharia de tecidos duros. Uma maneira de melhorar a resistência mecânica do Alg é o aumento da densidade de cálcio dentro da estrutura do Alg por um agente de reticulação, como o cloreto de cálcio, que aumenta a reticulação covalente. O colágeno também tem sido amplamente utilizado em aplicações regenerativas de tecidos dentais por ter propriedades químicas e estruturais semelhantes às proteínas estruturais predominantes existentes na ECM dos tecidos dentais. O colágeno apresenta várias vantagens proeminentes de biocompatibilidade e bioatividade que o tornam um biopolímero favorável na promoção da adesão celular, migração, proliferação e diferenciação. Por ter alta resistência à tração, o colágeno pode ser usado em formas fibrosas e aplicações de suporte de carga de tração. No entanto, sua resistência mecânica não é suficiente para ser usado em aplicações de regeneração de polpa. Tem sido relatado que a reticulação de colágeno por glutaraldeído ou difenilfosforilazida melhora suas propriedades mecânicas. O polietilenoglicol (PEG) é um dos biomateriais favoritos em aplicações de engenharia de tecidos por ter alta biocompatibilidade e degradação suave. Sua alta estabilidade em ambiente fisiológico à adsorção celular e proteica diminui a rejeição pelo sistema imune. Os hidrogéis de PEG carregados com fibrina mostram grande capacidade potencial em uso como um scaffold para crescimento e proliferação de DPSCs e PDLSCs, em que as propriedades mecânicas de suporte e angiogênese são fornecidas por PEG e hidrogéis de fibrina. Os autores concluíram que a engenharia de tecidos fez grandes avanços na regeneração do tecido dentário nos últimos anos. Os biomateriais na forma de construções porosas forneceram um microambiente celular para a regeneração dentária ideal.

Zhang et al. (2019) realizaram uma pesquisa com o objetivo de preparar um biomaterial promissor para o reparo e regeneração do tecido pulpar. O estudo desenvolvido foi realizado tanto in vitro quanto in vivo. Por meio de scaffolds de hidroxiapatita (HA)/fibroína de seda (SF) marcadas com USPIO, células-tronco da polpa dentária (DPSC) foram concebidas. Através de um ensaio in vitro a diferenciação odontogênica de DPSCs foi investigada, e como agente de contraste para ressonância magnética (RM) o USPIO foi usado. No ensaio in vivo os scaffolds compostos foram implantados subcutaneamente em camundongos com fragmentos de dente e os comportamentos de regeneração tecidual e degradação dos scaffolds foram monitorados por RM. Como resultado o ensaio in vitro revelou que os scaffolds

liofilizados da solução SF com 0,025 mg/mL USPIO e 5 mg/mL HA apresentaram propriedades físicas estáveis, imagens de ressonância magnética precisas e baixa citotoxicidade. Em consonância, no ensaio in vivo a expressão de sialofosfoproteína de dentina (DSPP) e fosfoproteína ácida de matriz dentinária 1 (DMP1) mostrou que DPSCs se diferenciaram em células semelhantes a odontoblastos havendo boa formação de revascularização e mineralização. Os autores concluíram que os DPSCs carregados com o scaffold composto USPIO/HA/SF promoveram o reparo e a regeneração do tecido da polpa dentária e forneceram a capacidade de geração de imagens de forma não invasiva.

Jang et al. (2020) realizaram uma pesquisa com o objetivo de investigar os efeitos do uso de hidrogéis hemostáticos à base de gelatina e fibrina como suporte na regeneração pulpar em um modelo de mini porco. A viabilidade das DPSCs pós-natal além culturas tridimensionais de GM e FM foi avaliada ao longo de 15 dias usando o ensaio MTT. Para visualizar células vivas e mortas, a coloração viva/morta foi realizada no 5º, 10º e 15º dias de cultivo celular in vitro. Foram selecionados um total de 24 pré-molares imaturos de quatro mini porcos e divididos em quatro grupos de seis dentes cada para ser realizada a terapia endodôntica regenerativa (RET) com coágulo sanguíneo autólogo (PC), matrizes hemostáticas à base de gelatina e fibrina (GM e FM), ou sem a inserção de scaffold. Ao término do período experimental no seguimento de 12 semanas, foram realizadas radiografias periapicais e amostras de seção em bloco dos maxilares foram dissecadas e fixadas em solução de formalina tamponada a 10% para avaliação histológica. Como resultado o ensaio MTT exibiu um perfil de crescimento semelhante de DPSCs nos grupos GM e FM. No entanto, as células cultivadas nos scaffolds à base de gelatina (GM) tiveram viabilidade estatisticamente significativamente maior do que as do grupo FM no 15º dia de cultivo tridimensional. Na análise radiográfica de 12 semanas de acompanhamento, os grupos NC e FM apresentaram maior incidência de alterações inflamatórias, incluindo radiolucência periapical e reabsorção radicular interna em comparação com os grupos PC e GM. Especificamente, o GM mostrou ausência de inflamação periapical em nenhum dente. Nos grupos PC e GM, as radiografias periapicais revelaram desenvolvimento radicular favorável em comprimento e largura sem alterações inflamatórias. Na análise histológica, foram observados tecidos pulpare e deposição de dentina terciária neoformada com maturação do ápice em todos os dentes experimentais dos grupos GM e PC. Nenhuma deposição de tecido mineralizado

intrarradicular foi identificada no grupo GM, enquanto parte do canal radicular foi preenchido com tecido mineralizado no grupo PC. Os autores concluíram que a aplicação de scaffolds a base de gelatina (GM) na terapia endodôntica regenerativa levou a resultados clínicos favoráveis de desenvolvimento radicular sem alterações inflamatórias em comparação ao a terapia endodôntica convencional sugerindo que o GM pode servir como um scaffold regenerativo viável para a regeneração pulpar.

Jiang et al. (2021) realizaram um estudo com o objetivo de avaliar os efeitos de scaffolds de colágeno tipo I/fibroína de seda (CSF) com diferentes tamanhos de abertura na proliferação e diferenciação de células da polpa dentária humana (HDPCs). A pesquisa foi realizada laboratorialmente. Foi utilizado o software de mapeamento 3D Solidworks aonde os scaffolds de colágeno tipo I/fibroína foram projetados, os scaffolds utilizados foram (CSF1–CSF3). Através da MEV a porosidade, hidrofiliçidade e capacidade mecânica do scaffold foram detectadas. Em cada um dos scaffolds foram semeadas células da polpa dentária humana (HDPCs) e investigadas a atividade de fosfatase alcalina (ALP) e coloração HE. Como resultado foi possível observar que: Foram encontradas estruturas de rede porosas com boa conectividade entre as aberturas e pequenos poros na superfície dos materiais de scaffolds; O tamanho da abertura dos scaffolds CSF não afetou a resistência mecânica dos scaffolds; A microscopia de varredura mostrou que os HDPCs aderiram à superfície dos e células cresceram bem na superfície dos scaffolds, formando múltiplas camadas; Os resultados da coloração HE mostraram que os HDPCs cresceram em multicamadas com grande quantidade e morfologia spreading ao longo dos scaffolds em três grupos. Enquanto isso, a estrutura do scaffold no grupo CSF3 foi ligeiramente deformada durante o processo de cultivo, já os grupos CSF1 e CSF2 mostraram estabilidade estrutural adequada. Os autores concluíram que o material de scaffold colágeno tipo I/fibroína de seda preparado por impressão 3D de deposição em baixa temperatura apresentou boa biocompatibilidade e estimulou a adesão e proliferação de HDPCs confirmando a viabilidade do uso de scaffolds de colágeno tipo I/fibroína de seda na regeneração do complexo dentina-polpa.

Mittal et al. (2021) realizaram um ensaio clínico randomizado com o objetivo de avaliar e comparar: A possibilidade de recuperação da sensibilidade pulpar e os objetivos do procedimento de regeneração em dentes necróticos maduros utilizando endodontia regenerativa. Pacientes na faixa etária entre 16 e 34 anos foram selecionados aleatoriamente sem predileção por sexo; foram incluídos aqueles que

apresentavam necrose pulpar no dente permanente com ápice fechado associado ou não à radiolucência periapical menor que 1,5 cm e sem resposta ao teste térmico e elétrico pulpar. . Uma amostra de 36 dentes necróticos maduros foi agrupada em quatro grupos e submetida a um procedimento endodôntico regenerativo: Grupo 1 – sangramento periapical; Grupo 2 – fibrina rica em plaquetas (PRF); Grupo 3 – colágeno; Grupo 4 – hidroxiapatita – colágeno. Os procedimentos regenerativos foram realizados em duas sessões. Na primeira sessão os canais foram instrumentados e desinfetados. Na segunda sessão a técnica de revascularização foi realizada por sobreinstrumentação intencional de 2 a 3 mm além do ápice com lima K de 15 a 25 para induzir sangramento dentro do canal da região periapical. No grupo sangramento periapical, após controle do sangramento, o canal foi selado com biodentina 1 mm abaixo da JCE e depois selado com cimento de ionômero de vidro (CIV) e restauração composta. No grupo PRF, os scaffolds foram preparados a partir do sangue do paciente e centrifugados na máquina PRF a 2.700 rpm por 14 minutos. O PRF foi cuidadosamente retirado e inserido dentro do canal com a ajuda de instrumentos PRF e um plugger de dedo. No grupo colágeno foi utilizado um grânulo estéril de colágeno sintético e no grupo hidroxiapatita foram utilizados cristais, que após indução de sangramento com o plugger de dedo até a JCE foram misturados com solução salina normal e inseridos no canal. Em seguida, a cavidade foi preenchida com biodentina sobre o coágulo, selada com CIV e com uma restauração de resina composta. Os dentes foram avaliados clinicamente, radiograficamente e por teste pulpar em um intervalo de 3 meses até 12 meses de acompanhamento. Como resultado ao final de 3 e 6 meses, o grupo PRF apresentou 22,3% de resposta positiva e o grupo colágeno apresentou 11,1% de resposta positiva ao teste de frio com valor de P de 0,274, o que não foi significativo para o teste de frio. Nenhum dos casos dos grupos hidroxiapatita e sangramento periapical mostrou qualquer resposta à sensibilidade pulpar até 6 meses. Aos 9 meses, o grupo PRF apresentou 44,4%, o grupo colágeno apresentou 33,3% e o grupo hidroxiapatita apresentou 22,2% de resposta positiva ao teste de frio. Aos 12 meses, o grupo PRF apresentou 66,6%, o grupo colágeno apresentou 44,4%, o grupo hidroxiapatita apresentou 33,3% e o grupo sangramento periapical apresentou 11,1% de resposta positiva ao teste do frio. Os autores concluíram que a presença de sensibilidade ao frio é indicativa da formação de tecidos vitais semelhantes a polpa, que foi maior no grupo do scaffold PRF, seguido pelos grupos colágeno, hidroxiapatita e sangramento periapical.

Moreira et al. (2021) realizaram uma pesquisa com o objetivo de desenvolver um novo scaffold a base de quitosana a fim de superar a instabilidade do coágulo sanguíneo que se apresenta como um obstáculo para a regeneração da polpa dentária na terapia de fotobiomodulação (PBMT). Foram realizados ensaios in vitro e in vivo. Para a análise in vitro, células-tronco da papila apical (SCAPs) foram caracterizadas por citometria de fluxo e aplicadas no scaffold de quitosana para avaliação de adesão, migração e proliferação. Para a análise in vivo, o scaffold de quitosana foi aplicado em um modelo ortotópico de regeneração de polpa dentária de roedor sob a influência de PBMT. Como resultado observou-se que o scaffold de quitosana permitiu significativamente maior viabilidade, proliferação e migração de SCAPs in vitro quando PBMT foi aplicado, especialmente com a densidade de energia de 5 J/cm². Nos dados in vivo, foi observada a formação de tecido semelhante a polpa no interior do canal radicular. Os autores concluíram que o hidrogel de quitosana quando aplicado com um coágulo sanguíneo e PBMT pode, no futuro, melhorar os resultados anteriores da regeneração da polpa dentária por meio de abordagens de homing celular.

Singh et al. (2021) realizaram um relato de caso clínico com o objetivo de descrever um procedimento endodôntico regenerativo com hidrogel (AH) para um incisivo central traumatizado com desenvolvimento radicular interrompido. No caso clínico apresentado uma criança de 9 anos foi submetida ao procedimento endodôntico regenerativo no dente 21 fraturado a cerca de um ano. No exame intraoral, o dente não apresentou resposta ao Endo-Ice (Coltene/Whaledent), teste pulpar elétrico (SybronEndo) e não apresentava sensibilidade à percussão. Após o exame radiográfico foi observado que o dente 21 apresentava o ápice aberto. Desta forma o dente 21 recebeu diagnóstico de necrose pulpar e periodontite apical assintomática. Como terapia foi realizada a revascularização pulpar. Primeiramente foi realizada a desinfecção do canal com pasta antibiótica por um período de 21 dias e em seguida o sangramento do ápice foi induzido para fornecer células tronco. Foi aplicado o hidrogel de ácido hialurônico no espaço do canal atuando como scaffold injetável para a regeneração pulpar. Em seguida o agregado de trióxido mineral foi usado para fornecer vedação firme do aspecto coronal. Por último foi feita restauração com resina composta. Como resultado foi possível as radiografias revelaram estrutura periapical normal com desenvolvimento radicular contínuo. Os autores concluíram que o hidrogel AH como scaffold no tratamento endodôntico regenerativo pode ser capaz

de retomar o processo de maturação radicular em dentes imaturos com ápices abertos.

Xu et al. (2021) realizaram uma pesquisa com o objetivo de investigar o efeito do PRP na regeneração da polpa dentária e elucidar o papel da autofagia envolvida nesse processo. Foram coletados tecidos pulpares de pré-molares ou terceiros molares saudáveis e livres de cárie de pacientes de 13 a 25 anos de idade e cocultivados com uma concentração crescente de PRP. A migração celular foi avaliada por ensaio de raspagem e ensaio transwell. No ensaio de raspagem onde hDPCs foram semeados em placas de 6 poços e incubados e observada com um microscópio invertido por 24 h. No ensaio transwell, os hDPCs foram suspensos em 200 uL de DMEM sem soro e foram adicionados à câmara superior do inserto, tendo o número de células de migração observado e contado sob um microscópio invertido. O efeito do PRP na proliferação de hDPCs foi avaliado usando um ensaio do kit 8 de contagem de células onde hDPCs foram semeados em placas de 96 poços e divididos em seis grupos e. Para explorar ainda mais o efeito da autofagia na migração e proliferação celular em hDPCs tratadas com PRP, a modulação da autofagia foi empregada. Para explorar os efeitos do PRP na diferenciação osteogênica, ALP e coloração com vermelho de alizarina foram analisados. Para investigar a ativação da autofagia pelo tratamento com PRP, a coloração de imunofluorescência foi primeiramente empregada para detectar a expressão da proteína associada à autofagia (LC3B). Como resultado foi possível observar que o PRP promoveu migração celular, proliferação e diferenciação osteogênica. No ensaio de raspagem, os resultados mostraram que 5, 10 e 20% de PRP promoveram significativamente a migração celular de hDPCs. No ensaio transwell o número de células que migraram para 10% de FBS e 1, 5, 10 e 20% de PRP foi significativamente maior do que o grupo controle. Os resultados da coloração com vermelho de alizarina e ALP mostraram que os hDPCs cultivados em 5, 10 e 20% de PRP tiveram maior aumento no nível de coloração de ALP do que o grupo controle. Os resultados do vermelho de alizarina mostraram que o PRP aumentou a formação de nódulos mineralizados. Os corpos autofágicos foram fortemente ativados e o nível de expressão de LC3B e Beclin-1 foi significativamente promovido pelo PRP. A inibição da autofagia interrompeu a migração, proliferação e diferenciação osteogênica de hDPCs induzidas por PRP, entretanto quando a autofagia foi ativada a migração, proliferação e diferenciação estimuladas por PRP aumentaram substancialmente. Os autores concluíram que a migração celular,

proliferação e diferenciação osteogênica de hDPCs foram promovidas pelo PRP variando de 5 a 20% de concentração. A autofagia foi desencadeada pelo PRP e pode ser um contribuinte crucial para a capacidade regenerativa do PRP.

Wei, Sun e Hou (2021) realizaram uma pesquisa com o objetivo de explorar os efeitos de um scaffold a base de fator de célula-tronco de fibroína-RGD de seda (SF-RGD-SCF) na migração, proliferação e fixação de células-tronco da papila apical (SCAPs). Para isso foi realizado um ensaio clínico onde previamente a proteína SF foi isolada de casulos de bicho-da-seda (*Bombyx mori*) por um procedimento de isolamento padrão, e os scaffolds de SF, SF-RGD, SF-SCF e SF-RGD-SCF de esponja tridimensionais (3D) foram preparados por liofilização, a estes foram conjugados polipeptídios RGD, e carregados SCF. Os tecidos da papila apical foram obtidos de terceiros molares humanos normais impactados de voluntários com idade entre 18 à 24 anos, e para observar a adesão e o status de crescimento de SCAPs nos scaffolds foi utilizada microscopia confocal a laser. No ensaio clínico as soluções SCF sem um scaffold e os scaffolds SF, SF-SCF e SF-RGD-SCF foram cultivadas no compartimento inferior de placas de 24 poços, enquanto os SCAPs foram cultivados em uma inserção de suporte transwell permeável (Corning Inc. Foundation, Tewksbury, MA). Um scaffold de SF serviu como controle negativo e uma solução de 600 μ L com 100 ng/mL de SCF e meio de cultura (α -MEM contendo 15% de FBS, 1% de penicilina-estreptomicina, 1% de L-glutamina) serviu como um controle positivo. Com relação à proliferação celular, os scaffolds carregados de células foram cultivados em placas de 24 poços por 1 ou 7 d. Em seguida, as células nos scaffolds foram digeridas com 0,25% de tripsina e suspensas em α -MEM. Um contador de células automático (TC10TM, Bio-Rad Laboratories, EUA) foi usado para contar o número de células em cada scaffold. Como resultado, as células do scaffold SF-RGD-SCF proliferaram mais do que as dos outros scaffolds e mostraram uma tendência mais óbvia de migrar para a estrutura porosa profunda do scaffold após 7 dias de semeadura. Os autores concluíram que o composto SF-RGD-SCF é biocompatível e promove a migração, adesão e proliferação de SCAPs, tornando-o de uso potencial como um scaffold para regeneração de polpa célula.

4 DISCUSSÃO

A recuperação de um órgão ou tecido perdido e danificado é uma das questões mais frequentes, devastadoras e caras na assistência à saúde humana. A engenharia de tecidos é uma ciência interdisciplinar emergente que aplica os princípios da biologia e da engenharia na medicina regenerativa para melhorar ou substituir a função biológica de células, tecidos e órgãos danificados por fatores intrínsecos ou extrínsecos. A endodontia regenerativa tem sido proposta para reconstruir o complexo polpa-dentina através da aplicação dos princípios de engenharia de tecidos, constituída por células-tronco, fatores de crescimento e scaffolds. A justificativa biológica para o tratamento endodôntico é a prevenção ou tratamento da periodontite apical através da desinfecção do espaço do canal radicular, conformação do canal e obturação com material inerte. No entanto, apesar dos esforços para preservar o máximo possível da estrutura dentária, as evidências sugerem que o tratamento endodôntico causa perda de uma quantidade significativa de dentina, resultando em um dente sem vitalidade e enfraquecido. O tratamento ideal para resolver este problema seria manter a polpa vital para permitir o desenvolvimento completo e prevenir a periodontite apical através de procedimentos regenerativos (JANG et al., 2020 e MOREIRA et al., 2021 e WEI, SUN E HOU, 2021 e HU et al., 2017). Contudo, Liu et al., 2022, afirma que um candidato que possua todas as propriedades favoráveis, necessárias para a fabricação de um scaffold ideal, que possa suportar e guiar com sucesso a regeneração completa do complexo polpa-dentina ainda precisa ser identificado.

Os scaffolds desempenham um papel importante na engenharia de tecidos, fornecendo uma estrutura espacial tridimensional temporária e um componente de ECM para manter o ambiente regenerativo, a função das células-tronco (HU et al., 2017 e FERRONI et al., 2015), o crescimento e a diferenciação celular (JANG et al., 2020). O desenvolvimento e a seleção de scaffolds adequados para a regeneração pulpo-dentina são um dos desafios da endodontia regenerativa (JANG et al., 2020). Idealmente, cada tipo de scaffold utilizado na engenharia de tecidos dentários deve ter propriedades mecânicas consistentes com as propriedades anatômicas do local implantado e deve ser forte o suficiente para ter uma boa capacidade de trabalho com ferramentas manuais (FARZIN et al., 2019). Dessa forma os scaffolds de engenharia de tecidos devem imitar adequadamente a ECM da polpa dentaria (LIU et al., 2017 e

JIN et al., 2018), apresentando propriedades desejadas como: promover a adesão, infiltração, vascularização e diferenciação celular das células recrutadas e proporcionar um microambiente favorável para a polpa dentária regenerada, ser biodegradável, permitindo que ele seja substituído pelo tecido em regeneração (WEI, SUN e HOU, 2021). Além disso deve ser poroso para permitir a colocação de células e transporte eficaz de nutrientes, oxigênio, resíduos, bem como fatores de crescimento (FERRONI et al., 2015). Em contraste Farzin et al., 2019, afirma que as propriedades mecânicas e a taxa de degradação dos scaffolds têm uma relação inversa. Muitos scaffolds com altas propriedades mecânicas e boa funcionalidade em aplicações in vitro falharam quando implantados in vivo devido a porosidades insuficientes e fraca capacidade de vascularização. Dessa forma é evidente que a existência de um equilíbrio entre propriedades mecânicas e quantidade de porosidades é vital para um melhor desempenho dos scaffolds utilizados na engenharia de tecidos.

O primeiro critério de cada scaffold desenvolvido para aplicações de engenharia de tecidos é que ele deve passar em todos os testes de requisitos de biocompatibilidade. Desta forma, as células devem aderir, crescer e migrar através dele e, proliferar antes da formação de uma nova matriz. Os biomateriais implantados devem mostrar reação insignificante com o sistema imunológico do corpo. O conceito de engenharia de tecidos é usar um scaffold degradável, para finalmente substituir o tecido em crescimento. Nesta perspectiva, os scaffolds implantados devem atuar como uma construção temporária que se degrada ao longo do tempo em uma taxa coordenada com a taxa de crescimento do tecido. Um scaffold ideal deve ser biodegradável para permitir que as células gerem sua própria matriz extracelular. A degradação dos subprodutos produzidos pelo scaffold não deve ser tóxica, e deve ocorrer sem interação adversa com outros tecidos (FARZIN et al., 2019).

Os fatores que determinam a classificação dos scaffolds são a sua origem (natural ou artificial), composição química e física, estrutura celular e modo de aplicação (podendo ser injetável ou não) (CAMPELLO et al., 2020). Vários biomateriais têm sido investigados como scaffolds para a regeneração do tecido pulpar dental (FERRONI et al., 2015 e SINGH et al., 2021). Contudo, foi demonstrado que scaffolds de polímero duro não são práticos para aplicações clínicas. Portanto, scaffolds injetáveis ou hidrogéis parecem ser a melhor opção (RETANA-LOBO, 2018). Os hidrogéis de origem natural têm sido frequentemente utilizados como scaffolds por

serem compostos pela ECM ou por componentes semelhantes às moléculas da MEC. Dentre eles podemos citar, colágeno, ácido hialurônico e quitosana (MOREIRA et al., 2021). Em contrapartida, segundo Campello et al. 2020, apesar das suas vantagens superiores aos artificiais, existem pontos negativos ao que se refere a manipulação do seu isolamento, indução da resposta imune por razão a sua origem e suas propriedades mecânicas e geométricas que dificultam ou impedem seu uso em práticas clínicas. Por isso, houve uma mudança, os cirurgiões dentistas começaram a se interessar mais pelo artificial, pois estes serão construídos de acordo com as condições, contudo, esses não são bioativos. Portanto, para o melhor sucesso clínico está sendo discutida a utilização de scaffolds macios e injetáveis, que tenham maior facilidade de se adaptar no espaço radicular com mínima contração e que só se tornem rígidos em seu destino final.

Como principal componente da matriz extracelular, o colágeno tipo I desempenha papéis importantes na regeneração de ossos, cartilagens, pele, vasos, nervos e ligamentos devido à sua biocompatibilidade superior, baixa imunogenicidade e propriedades de biodegradação adequadas. Vários estudos mostraram que o colágeno tipo I é um dos materiais de suporte mais ideais para a regeneração da polpa dentária. Pode aumentar significativamente o crescimento das células da polpa dentária humana (HDPCs) e aumentar a expressão gênica relacionada à odontogênese. No entanto, devido às suas fracas propriedades mecânicas, baixa estabilidade térmica e rápida biodegradabilidade, as propriedades físicas e estruturais do scaffold à base de colágeno precisam ser melhoradas (JIANG et al., 2021). De forma análoga Farzin et al. 2019 afirma que a sua resistência mecânica não é suficiente para ser usado em aplicações de regeneração de polpa. Contudo tem sido relatado que a reticulação de colágeno por glutaraldeído ou difenilfosforilazida melhora suas propriedades mecânicas. Segundo Gathani e Raghavendra 2016, não somente apresenta fracas propriedades mecânicas como também sofre rápida degradação e contração.

Um biomaterial promissor no campo da engenharia de tecidos e medicina regenerativa é o ácido hialurônico e seus derivados. Um scaffold à base de ácido hialurônico pode ser projetado para se adaptar facilmente à forma variável da câmara pulpar, ter um tempo de presa relativamente rápido e ser passível de modelagem e adaptação do canal radicular (FERRONI et al., 2015). Contudo Farzin et al. 2019, relata que embora o ácido hialurônico seja um polímero biocompatível, suas fracas

propriedades mecânicas e rápida taxa de degradação limitam seu amplo uso em aplicações de engenharia de tecidos.

A quitosana possui diversas propriedades biológicas, grande biocompatibilidade, biodegradabilidade e potencial hemostático, promove adesão, proliferação e diferenciação celular, tem um amplo efeito antimicrobiano, não causa reação imune, não é cancerígeno, e apresenta um potencial de homing celular. Além disso, a quitosana pode ser utilizada como hidrogel termossensível cuja gelificação ocorre acima de 37°C o que permite a injeção do material em estado fluido dentro da câmara pulpar e a gelificação do biomaterial pela temperatura corporal, aumentando a estabilidade do biomaterial e sendo um fator chave para aplicações na regeneração pulpar (MOREIRA et al., 2021). Entretanto segundo Dissanayaka et al. 2015, quando comparada aos polímeros sintéticos, a quitosana não é tão resiliente mecanicamente, em concordância Gathani e Raghavendra 2016, afirmam que ela possui baixa resistência e comportamento inconsistente com células semeadas, sendo difícil de controlar com precisão o tamanho dos poros do hidrogel, além disso modificações químicas da estrutura da quitosana podem induzir toxicidade.

Dentre os scaffolds classificados naturais inserem-se ainda os scaffolds derivados do hospedeiro. Dentre estes destacam-se o plasma rico em plaquetas (PRP) e o plasma rico em fibrinas (PRF). O plasma rico em plaquetas e a fibrina rica em plaquetas têm sido amplamente utilizados na odontologia regenerativa (DISSANAYAKA et al., 2015). Os benefícios do PRP incluem taxas elevadas de angiogênese e revascularização, fundamentais para o sucesso do RET. Além disso, o PRP é um scaffold atraente por evitar uma resposta de corpo estranho e transmissão de patógenos, e sua aplicação econômica em relação aos scaffolds sintéticos, bem como à selabilidade cervical (RADDALL, MELLO e LEUNG 2019). Em contrapartida segundo Gathani e Raghavendra 2016, as desvantagens desse procedimento incluem a coleta de sangue em pacientes jovens, a necessidade de equipamentos e reagentes especiais para preparar o PRP e o aumento do custo do tratamento. A fibrina rica em plaquetas é um concentrado de plaquetas de segunda geração denominado PRF de Choukroun em homenagem ao seu inventor (GATHANI e RAGHAVENDRA 2016). O PRF incorpora os três parâmetros críticos para a engenharia de tecidos: células (plaquetas e leucócitos) que promovem a cicatrização e regeneração dos tecidos, liberação contínua de fatores de crescimento e um scaffold de fibrina. Além disso, em comparação ao PRP, o protocolo de preparação do PRF é relativamente mais simples

(LIU et al., 2022). Descobertas recentes sugerem que a fibrina rica em plaquetas tem um maior potencial de regeneração em comparação com o plasma rico em plaquetas tradicional (DISSANAYAKA et al., 2015). Entretanto segundo Raddall, Mello e Leung 2019, embora os scaffolds de PRP e PRF forneçam as moléculas de sinalização e os fatores de crescimento necessários para a regeneração dos tecidos, seu uso tem sido complicado pela natureza imprevisível da formação do coágulo e pelos desafios na aquisição do PRP, bem como pela eficácia limitada.

Dentre os scaffolds sintéticos destacam-se os polímeros e os peptídeos de auto-montagem. Como materiais de scaffold na engenharia de tecido pulpar têm sido usados com sucesso os polímeros sintéticos: ácido polilático (PLA), ácido poliglicólico (PGA), ácido polil-láctico (PLLA) e ácido polilático-glicólico (PLGA). Esses polímeros sintéticos são atóxicos, biodegradáveis e permitem a manipulação precisa de suas propriedades físico-químicas, como rigidez mecânica, taxa de degradação, porosidade e microestrutura. O ácido polilático tem sido usado com sucesso para criar polpa dentária e construções periodontais para preservar a vitalidade das DPSCs e células-tronco do ligamento periodontal. Os scaffolds de ácido polilático também podem aumentar a proliferação de células maduras da polpa dentária em comparação com scaffolds de colágeno ou fosfato de cálcio. É possível controlar o destino celular pela modificação das propriedades estruturais de um scaffold. Recentemente, a impressão 3D tem sido usada para produzir scaffolds de PLA sob medida para engenharia de tecido pulpar (LIU et al., 2022). No entanto, segundo Dissanayaka et al. 2015, os polímeros sintéticos podem induzir uma resposta inflamatória aguda ou crônica. Além disso, os subprodutos degradados hidroliticamente podem causar uma diminuição do pH local, comprometendo a aplicação clínica. Peptídeos de automontagem que podem ser modificados e personalizados podem atender a vários requisitos de abordagens de engenharia de tecidos da polpa dentária. Como as cadeias peptídicas são feitas de aminoácidos naturais, os materiais resultantes são biocompatíveis e podem ser projetados para serem biodegradáveis. Os sistemas de hidrogel peptídico fornecem benefícios como propriedades viscoelásticas comparáveis às dos tecidos conjuntivos moles como a polpa dentária, difusão rápida de nutrientes e metabólitos e o potencial de encapsulamento celular homogêneo. Puramatrix™ é um hidrogel de peptídeo sintético de automontagem que cria um ambiente 3D biocompatível, biodegradável e não tóxico para as células. Quando DPSCs e HUVECs foram encapsuladas em PuraMatrix, as HUVECs foram capazes

de pré-vascularizar as construções celulares e dar origem a tecidos vascularizados semelhantes a polpa após o transplante em um modelo de raiz dentária in vivo. PuraMatrix por si só não foi capaz de formar polpa dentária, a menos que fosse combinado com DPSCs. Entretanto forneceu um microambiente que apoiou a sobrevivência celular, interações célula-célula, migração celular e formação de rede capilar na ausência de fatores de crescimento exógenos, o que contribuiu para a regeneração bem-sucedida da polpa dentária (DISSANAYAKA et al., 2015).

4 CONCLUSÃO

Com base na literatura consultada foi possível concluir que:

- Os scaffolds são uma peça fundamental na tríade que compõe a engenharia de tecidos aplicada na endodontia (células tronco, scaffolds, fatores de crescimento), funcionando como estrutura/arcabouço no processo de regeneração pulpar;
- A estrutura dentaria é fragilizada em consequência de terapias endodônticas convencionais, no entanto a regeneração pulpar baseada em scaffolds tem sido proposta para superar essa repercussão indesejável;
- O biomaterial a ser empregado na regeneração pulpar responde melhor quando aplicado como hidrogel;
- Apesar das propriedades surpreendentes dos scaffolds de origem natural, para a regeneração pulpar os scaffolds sintéticos tem sido priorizada pelos Cirurgiões Dentistas devido a possibilidade de um maior controle sobre suas propriedades e maior previsibilidade;
- Não existe um biomaterial que apresente todas as características desejáveis de um scaffold para regeneração pulpar, nem mesmo os sintéticos que tem sido priorizados, entretanto com a evolução dos estudos científicos a regeneração pulpar baseada em scaffolds tem se mostrado uma proposta promissora.

REFERÊNCIAS

- ALTAI, M. *et al.* Platelet rich plasma and dentine effect on sheep dental pulp cells regeneration/revitalization ability (in vitro). **Australian dental journal**, v. 62, n. 1, p. 39–46, 2017.
- CAMPELLO, C. S. *et al.* APLICABILIDADE DE CÉLULAS TRONCO NA ENDODONTIA REGENERATIVA. **Cadernos de Odontologia do UNIFESO**, v. 2, n. 1, 2020.
- DISSANAYAKA, W. L. *et al.* The interplay of dental pulp stem cells and endothelial cells in an injectable peptide hydrogel on angiogenesis and pulp regeneration in vivo. **Tissue engineering. Part A**, v. 21, n. 3–4, p. 550–563, 2015.
- FARZIN, A. *et al.* Scaffolds in dental tissue engineering: A review. **Archives of neuroscience**, v. 7, n. 1, 2019.
- FERRONI, L. *et al.* A hyaluronan-based scaffold for the in vitro construction of dental pulp-like tissue. **International journal of molecular sciences**, v. 16, n. 3, p. 4666–4681, 2015.
- GATHANI, K. M.; RAGHAVENDRA, S. S. Scaffolds in regenerative endodontics: A review. **Dental research journal**, v. 13, n. 5, p. 379–386, 2016.
- HU, L. *et al.* Decellularized swine dental pulp as a bioscaffold for pulp regeneration. **BioMed research international**, v. 2017, p. 1–9, 2017.
- HUANG, G. T. J. *et al.* Stem/progenitor cell-mediated de novo regeneration of dental pulp with newly deposited continuous layer of dentin in an in vivo model. **Tissue Engineering Part A**, v. 16, n. 2, p. 605-615, 2009.
- HUANG, C.-C. *et al.* Dual ECM Biomimetic Scaffolds for Dental Pulp Regenerative Applications. **Frontiers in Physiology**, v. 9, p. 1-11, maio 2018.
- JANG, J. H. *et al.* Pulp regeneration with hemostatic matrices as a scaffold in an immature tooth minipig model. **Scientific Reports**, v. 10, ed. 1, p. 1-11, 2020.
- JIANG, S. *et al.* Effects of different aperture-sized type I collagen/silk fibroin scaffolds on the proliferation and differentiation of human dental pulp cells. **Regenerative Biomaterials**, Oxford University Press, v. 8, ed. 4, p. 1-9, 2021.

JIN, R. *et al.* Effects of concentrated growth factor on proliferation, migration, and differentiation of human dental pulp stem cells in vitro. **Journal of tissue engineering**, v. 9, p. 1-10, 2018.

LIU, Y. *et al.* Functionalized self-assembled peptide RAD/Dentonin hydrogel scaffold promotes dental pulp regeneration. **Biomedical Materials**, v. 17, ed. 1, p. 1-12, 2022.

MATOUG-ELWERFELLI, M. *et al.* A biocompatible decellularized pulp scaffold for regenerative endodontics. **International endodontic journal**, v. 51, n. 6, p. 663–673, 2018.

MITTAL, N. *et al.* Assessment of pulp sensibility in the mature necrotic teeth using regenerative endodontic therapy with various scaffolds - Randomised clinical trial. **Indian journal of dental research: official publication of Indian Society for Dental Research**, v. 32, n. 2, p. 216–220, 2021.

MOREIRA, M. S. *et al.* Physical and Biological Properties of a Chitosan Hydrogel Scaffold Associated to Photobiomodulation Therapy for Dental Pulp Regeneration: An In Vitro and In Vivo Study. **BioMed Research International**, v. 2021, p. 1-10, 2021.

MURPHY, S. V.; ATALA, A. 3D bioprinting of tissues and organs. **Nat Biotechnol**, v. 32, n. 8, p. 773-785, 2014.

RADDALL, G.; MELLO, I.; LEUNG, B. M. Biomaterials and scaffold design strategies for regenerative endodontic therapy. **Frontiers in bioengineering and biotechnology**, v. 7, p. 317, 2019.

RETANA-LOBO, C. Dental pulp regeneration: Insights from biological processes. **Odovtos - International Journal of Dental Sciences**, v. 20, n. 1, p. 10–16, 2018.

SINGH, H. *et al.* Pulp regeneration in an immature maxillary central incisor using hyaluronic acid hydrogel. *Contemporary Clinical Dentistry*, Ferozpur, Punjab, India, ano 2021, v. 12, ed. 1, p. 94-98, 20 mar. 2021.

WANG, X. *et al.* Scaffolds for Dental Pulp Tissue Engineering. **Tissue Engineering Part B: Reviews**, v. 17, n. 4, p. 363-372, 2011.

WEI, J.; SUN, X.-Q.; HOU, B.-X. Evaluation of silk fibroin-RGD-stem cell factor scaffold effect on adhesion, migration, and proliferation of stem cells of Apical Papilla. **Stem cells international**, ano 2021, v. 2021, p. 1-10.

XU, H. *et al.* Platelet-rich plasma induces autophagy and promotes regeneration in human dental pulp cells. **Frontiers in bioengineering and biotechnology**, v. 9, p. 1–10, 2021.

ZHANG, W. *et al.* A non-invasive monitoring of USPIO labeled silk fibroin/hydroxyapatite scaffold loaded DPSCs for dental pulp regeneration. **Materials Science and Engineering**, China, v. 103, p. 1-12, 2019.