

U. PORTO



FACULDADE DE
MEDICINA DENTÁRIA
UNIVERSIDADE DO PORTO

*Medicina Regenerativa: Potencial das células-tronco pulpares
na regeneração de tecidos*

Pedro Monteiro Marques Moreira Pinto

Monografia de Revisão Bibliográfica

5º Ano do Mestrado Integrado em Medicina Dentária

Porto, 2020



***Medicina Regenerativa: Potencial das células-tronco pulpares
na regeneração de tecidos***

Autor: Pedro Monteiro Marques Moreira Pinto

Contacto: pedropinto7@hotmail.com

Orientador: Prof. Dr. Germano Neves Pinto da Rocha

Professor Associado da FMDUP

Coorientadora: Prof. Dr.^a Emanuela Prado Ferraz

Professora Doutora da FOUSP

Monografia de Revisão Bibliográfica

5º Ano do Mestrado Integrado em Medicina Dentária

Porto, 2020

Índice Geral

Resumo	1
Palavras-Chave	2
Abstract	3
Keywords	4
Introdução	5
Materiais e Métodos	8
Desenvolvimento	9
Células-tronco Pós-Natais:	9
Células-tronco mesenquimatosas derivadas dos tecidos dentários	13
1. DPSC	14
2. SHED	17
3. SCAP	18
Diversas aplicabilidades da regeneração tecidual utilizando células-tronco pulpaes	18
1. Osso	18
2. Dentina/Polpa	21
3. Regeneração dentária integral	23
Conclusões	28

Índice de figuras

Figura 1: Divisão das células-tronco.	10
Figura 2: Potencial de diferenciação das MSC.	12
Figura 3: Diferentes linhagens de células-tronco dentárias.	14
Figura 4: Representação das características específicas das DPSC.	16
Figura 5: Ilustração do potencial de indução odontogénico.	24
Figura 6: Demonstração do potencial odontogénico de células dentárias embrionárias na fase de indução.	25
Figura 7: Demonstração do potencial odontogénico de células dentárias embrionárias na fase de gomo.	26

Índice de tabelas

Tabela I: Potencial de diferenciação das diferentes células-tronco derivadas da polpa.	18
---------------------------------------------------------------------------------------------	----

Lista de Abreviaturas

BMSC - do inglês *Bone Marrow Stem Cells*

CBCT – do inglês *Cone Beam Computerized Tomography*

DFSC - do inglês *Dental Follicle Progenitor Cells*

DPSC - do inglês *Dental Pulp Stem Cells*

G-CSF - do inglês *Granulocyte Colony Stimulating Factor*

ISCT - International Society for Cellular Therapy

iPS - do inglês *Induced Pluripotent Stem Cells*

MSC - do inglês *Mesenchymal Stem Cells*

GMSC - do inglês *Gingival Mesenchymal Stem Cells*

PDLSC - do inglês *Periodontal Ligament Stem Cells*

SCAP - do inglês *Stem Cells from Apical Papilla*

SHED - do inglês *Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous Teeth*

TGPC - do inglês *Tooth Germ Progenitor Cells*

Resumo

Introdução: A medicina regenerativa e a engenharia de tecidos apresentam resultados promissores no que toca à utilização de células-tronco na substituição de tecidos lesados, vindo colmatar a necessidade de órgãos disponíveis para transplantação. Nesse sentido, as células-tronco derivadas da polpa parecem apresentar-se como uma alternativa viável, de fácil obtenção e armazenamento, para regeneração de tecidos.

Objetivos: Pretende-se com este trabalho verificar qual o estado atual da regeneração tecidual, através da utilização de células-tronco derivadas da polpa, bem como quais os melhores protocolos, resultados já atingidos, terapêuticas aplicáveis ao dia a dia clínico e futuras aplicações.

Material e métodos: Para a elaboração deste trabalho efetuou-se uma pesquisa em bases de dados internacionais, como a PubMed, o Google Scholar, o Scielo e o ScienceDirect. Selecionaram-se artigos publicados entre 2000 e 2020 com limitação de idiomas a inglês e português.

Desenvolvimento: As células-tronco derivadas da polpa (DPSC, SHED e SCAP) apresentam potencial autorrenovador e de diferenciação em diversas linhagens celulares, para além de propriedades imunorreguladoras. Por todos estes motivos, têm atraído a atenção por parte dos investigadores no que diz respeito à sua utilização para regeneração tecidual, ponderando-se até se estas poderão ser utilizadas como uma fonte celular alogénica.

Conclusão: Podemos no final desta revisão concluir que as células-tronco derivadas da polpa são uma alternativa viável para a regeneração tecidual. Idealmente, num futuro não muito longínquo, poderemos ter novos dentes totalmente formados através da engenharia de tecidos e implantados nos pacientes em substituição dos seus dentes perdidos. No entanto, esta realidade ainda apresenta imensos desafios e questões que necessitam ser respondidas. Até lá, a regeneração de tecidos dentários (polpa e dentina) e osso parece ser um objetivo mais tangível, com enormes benefícios para a saúde dos pacientes. A regeneração total de polpa num dente desvitalizado por exemplo é já um avanço extraordinário no campo da endodontia e na medicina dentária em geral.

Palavras-Chave

“Regeneração óssea”

“Regeneração da polpa dentária”

“Regeneração dentária integral”

“DPSC”

“SHED”

“SCAP”.

Abstract

Introduction: Regenerative medicine and tissue engineering show promising results concerning the use of stem cells to replace damaged tissues, filling the need of organ availability for transplantation. To this extent, dental pulp-derived stem cells appear to be a viable, easy to obtain and store alternative for tissue regeneration.

Objectives: The aim of this review is to verify the current state of the art of tissue regeneration, by means of using dental pulp-derived stem cells, as well as the best protocols, results achieved, applicable clinical therapy and future applications.

Material and methods: The research of this review has been carried out using the following international databases: PubMed, Google Scholar, Scielo and Science Direct. Articles published between 2000 and 2020 were selected in English and Portuguese.

Development: The dental pulp-derived stem cells (DPSC, SHED, SCAP) have the potential to self-renewal and differentiate in several cell types, in addition to immunoregulatory properties. Therefore, they have captivated the attention of researchers regarding their use for tissue regeneration, considering the possibility of their usage as an allogeneic cell source.

Conclusion: In this review we can conclude that dental pulp-derived stem cells are a viable alternative for tissue regeneration. With the use of tissue engineering, in a not so distant future, lost teeth would ideally be substituted through the implantation of whole new teeth. However, we encounter many challenges yet to overcome, and inquiries that require a solution. Until then, dental tissue (pulp and dentin) and bone regeneration seem to be a more attainable objective, with a tremendous amount of benefits to patients' health. For instance, total pulp regeneration in a non-vital tooth is already a remarkable development for both endodontics and dentistry in general.

Keywords

“Bone Regeneration”

“Dental Pulp Regeneration”

“Whole Tooth Regeneration”

“DPSC”

“SHED”

“SCAP”.

Introdução

A Medicina Regenerativa é um campo da Medicina cujo objetivo é a reparação e substituição de tecidos danificados ou destruídos por trauma, degenerescência, processos patológicos ou infecciosos. Com o envelhecimento da população e aumento de casos de doenças degenerativas e traumas, há a necessidade de desenvolver terapias para reparar ou regenerar os tecidos através de fortalecimento imunitário, aceleração da cicatrização, diminuição da inflamação e aumento da capacidade de divisão ou diferenciação celular. Nesse contexto, a engenharia de tecidos - ciência que utiliza conhecimentos da biologia, química e física na manipulação e desenvolvimento de células, moléculas, tecidos ou órgãos em laboratório ou *in vivo*, os quais irão funcionar como substitutos biológicos permitindo o reparo, manutenção e recuperação de tecidos vivos - surge como uma alternativa de tratamento. ⁽¹⁾

A engenharia de tecidos baseia-se no emprego da combinação de:

1) Um biomaterial que serve como suporte (*scaffold*)- composto por biomaterial com estrutura tridimensional que deve proporcionar um microambiente adequado ao crescimento e diferenciação celular. Idealmente este deve ser tridimensional e poroso, para permitir a deposição de células e fatores de crescimento, proporcionar um eficiente transporte de nutrientes e oxigênio, ter força física e mecânica adequada e, por último, ser biocompatível e biodegradar-se à medida que o novo tecido se vai formando, não deixando produtos tóxicos aquando da sua degradação. ^(1, 2)

2) Fatores de crescimento - são proteínas que se ligam a recetores da célula e que induzem a proliferação celular e/ou a diferenciação da mesma, desempenhando um papel importantíssimo, juntamente com o *scaffold*, no tipo de tecido em que as células se irão diferenciar. ^(1, 2)

3) Células - podem ser autólogas (do próprio paciente), alogénicas (de dadores humanos), ou xenogénicas (células animais de origem não humana). No que toca às autólogas estas podem ser células diferenciadas ou indiferenciadas, e obtidas de diferentes fontes. As células-tronco são frequentemente descritas como uma alternativa terapêutica para ser empregue em estratégias de terapia celular e engenharia tecidual, pela sua capacidade de diferenciação em diferentes tecidos, baixa imunogenicidade e facilidade de obtenção. Caraterizam-se pela capacidade de autorrenovação (através da divisão mitótica) e pela possibilidade de diferenciação em diversos tipos celulares. ^(1, 2)

No que toca às células-tronco, também chamadas células estaminais ou células-mãe, são conhecidos 3 tipos:

1) Embrionárias (pluripotentes) - como o próprio nome indica, são encontradas nas fases iniciais do desenvolvimento do embrião (entre a 1ª e 3ª semanas), e através da sua proliferação e diferenciação dão origem ao indivíduo adulto. Por este motivo, apresentam como vantagens a sua elevada capacidade proliferativa e a possibilidade de diferenciação para qualquer tecido dos 3 folhetos germinativos do corpo humano. No que toca a desvantagens podemos referir a sua instabilidade genética, a possibilidade de originar teratocarcinomas e a necessidade de o hospedeiro se apresentar imunocomprometido, para além da questão ética inerente, uma vez que a sua utilização significa a morte do embrião. ⁽³⁾ Segundo a legislação portuguesa atual, “é proibida a criação de embriões através da Procriação Medicamente Assistida com o objetivo deliberado da sua utilização na investigação científica”, ou seja, só poderão ser utilizados em experimentação científica os embriões cujo destino alternativo seria a destruição. E, mesmo nessas circunstâncias, “a experimentação é apenas admissível para finalidades terapêuticas, de prevenção ou diagnóstico em termos de poder contribuir para o progresso do conhecimento científico, com probabilidade até de se vir a obter um benefício para a espécie humana”.

2) Pluripotentes induzidas (iPS do inglês *induced pluripotent stem cells*) - foram pela primeira vez conseguidas em 2006, pelo Dr. Shinya Yamanaka, quando reprogramou fibroblastos da pele de um rato para um estado embrionário. Esta reprogramação passa pela introdução de um vírus contendo 4 genes (Oct3/4, c-Myc, Klf4, Sox2) os quais se inserem no DNA da célula alterando o seu código genético. Um ano mais tarde, estas descobertas foram replicadas em células da pele humanas. ⁽³⁾

3) Pós-natais (podem ser multipotentes ou unipotentes) - estão presentes em praticamente todos os tecidos do organismo e possuem uma função vital na regeneração e reparo dos mesmos, através do seu potencial de autorrenovação e diferenciação. É de salientar que, quando utilizadas para terapia celular, serão preferencialmente autogénicas, o que descarta o aparecimento de reações de rejeição imunológica, para além de não acarretar limitações morais. São mais abundantes na medula óssea, podendo, no entanto, ser encontradas também no sangue, fígado, cordão umbilical, placenta, cérebro, coração, tecido adiposo, músculo, pele e em tecidos dentários, tendo já sido provada a sua capacidade de diferenciação em células dos tecidos ósseo, adiposo, cartilaginoso e muscular. ⁽¹⁾

Apesar de já se cultivarem células extracorporalmente há vários anos, a possibilidade de desenvolver tecidos tridimensionais complexos que mimetizem as funções do tecido humano é uma prática recente e tem como intenção produzir virtualmente todo e qualquer tipo de tecido humano.⁽⁴⁾

A Medicina Regenerativa vem de certo modo colmatar a escassez de órgãos disponíveis para transplantação bem como a rejeição de transplantes, nos casos em que as células utilizadas são provenientes do próprio paciente.⁽⁵⁾

Materiais e Métodos

A pesquisa bibliográfica para a realização desta Monografia de Revisão foi efetuada desde Dezembro de 2019 até Março de 2020, utilizando literatura publicada nas seguintes bases de dados: PubMed, Google Scholar, Scielo e ScienceDirect. Para tal, procuraram-se artigos com recurso aos termos: “Bone Regeneration”, “Dental Pulp Regeneration”, “Whole Tooth Regeneration”, “DPSC”, “SHED” e “SCAP” com auxílio dos operadores booleanos “AND” e “OR”.

Como critérios de inclusão foram considerados artigos publicados entre 2000 e 2020, redigidos em português ou inglês, e com disponibilidade do texto integral. Para contextualização histórica, foi inserido o artigo “The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cell” de Friedenstein et. Al. de 1970. Foram ainda introduzidos artigos que constassem na bibliografia de artigos encontrados através da pesquisa efetuada e que fossem considerados importantes para o desenvolvimento do tema em questão.

Através dos critérios de exclusão e inclusão referidos foram selecionados para a realização desta monografia 45 artigos.

Desenvolvimento

Células-tronco Pós-Natais:

Antes de mais, vale a pena referir, no que toca às células-tronco pós-natais, que estas são amiúde designadas pela literatura como células-tronco adultas, apesar de esta designação ser ligeiramente enganosa pois estas também se encontram presentes em crianças. Por esse motivo, são preferíveis os termos pós-natais ou somáticas que serão os que usaremos nesta revisão. ⁽⁶⁾

Possuem a capacidade de originar novas células do tecido onde se encontram, e como função direcionar o seu crescimento e manter a homeostasia do mesmo. Para além disso, estudos recentes parecem indicar que possuem também a capacidade de gerar células de tecidos que não o seu, denominada plasticidade ou transdiferenciação celular. ⁽⁶⁾

No que toca à sua divisão, estas podem apresentar uma divisão simétrica (Fig. 1A), aumentando assim o seu número, ou assimétrica (Fig. 1B), mantendo o seu número e criando células diferenciadas. ^(6, 7)

No entanto, antes de se diferenciarem, estas células originam um tipo intermediário, denominado células precursoras ou progenitoras (Fig. 1C), as quais se apresentam parcialmente diferenciadas e que, após sucessivas divisões mitóticas, se irão tornar células diferenciadas. Assim sendo, estas parecem estar “pré-determinadas” para se diferenciarem num tipo celular específico (mais recentemente, no entanto, parece haver evidência de esta diferenciação não ser tão definitiva como se aceitava). ⁽⁶⁾

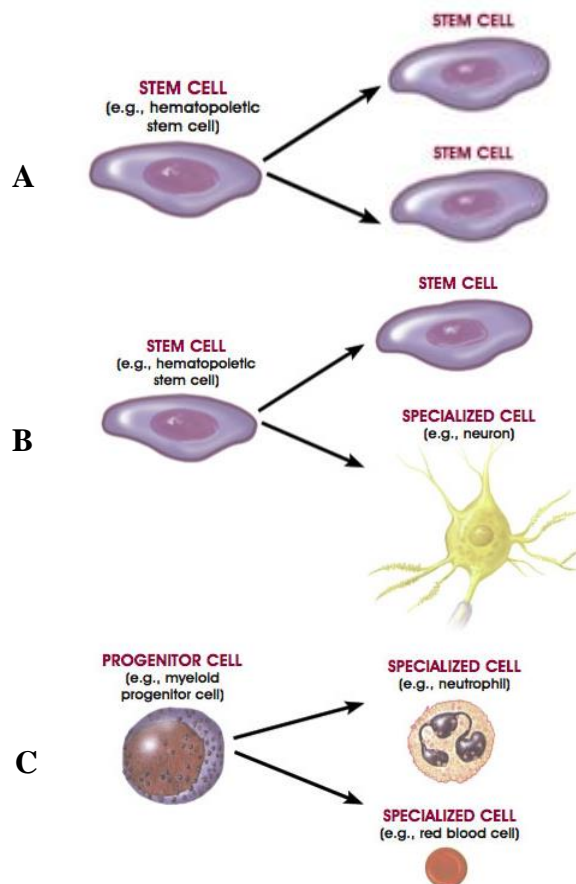


Figura 1: Divisão das células-tronco.

A- Divisão Simétrica; B- Divisão Assimétrica; C- Diferenciação. Sem autorização do autor ⁽⁸⁾

As células-tronco pós-natais encontram-se em praticamente todos os tecidos do corpo, em locais específicos denominados nichos, os quais apresentam diferentes tipos de células, uma matriz extracelular e fatores solúveis necessários para o suporte, manutenção e autorrenovação destas. Vão desaparecendo gradualmente com o aumento da idade, limitando a possibilidade de as coletar. (9, 10)

Estas, podem ser divididas nos seguintes tipos:

- **Hematopoiéticas**

Encontram-se em maior número no sangue do cordão umbilical e na medula óssea e em menor número no sangue. Originam todos os tipos de células sanguíneas: glóbulos vermelhos e glóbulos brancos (neutrófilos, basófilos, eosinófilos, monócitos, macrófagos linfócitos B, linfócitos T e linfócitos natural killer).

- **Neurais**

Localizam-se no sistema nervoso central e dão origem a 3 tipos celulares: células nervosas (neurónios), astrócitos e oligodendrócitos (estas 2 últimas não neuronais).

- **Epiteliais**

As localizadas no trato digestivo encontram-se em criptas profundas, originando células absorptivas, células caliciformes, células de paneth e células neuroendócrinas.

→ **Pele**

Presentes na camada basal da epiderme e na base dos folículos pilosos. As primeiras originam queratinócitos, que migram para a superfície celular, formando uma camada protetora, enquanto as segundas podem originar pêlo e a epiderme.

- **Mesenquimatosas (MSC)**

Foram pela primeira vez identificadas em 1970 (BMSC - do inglês *Bone Marrow Stem Cells*) por Friedenstein et al. na medula óssea de porquinhos da Índia, aparecendo *in vitro* como colónias formadoras de fibroblastos. ⁽¹¹⁾

Em 2006, a ISCT – International Society for Cellular Therapy, propôs 3 critérios-base que estas células deveriam apresentar para se considerarem MSC, sendo estes (1) a aderência ao plástico, (2) o potencial de diferenciação multipotente em osteoblastos, condroblastos e adipócitos *in vitro* para além da (3) expressão de antígenos de superfície específicos, nomeadamente expressão positiva de CD105, CD 90 e CD73, e negativa de CD45, CD34, CD14 ou CD11b, CD79 α ou CD19 e moléculas de superfície HLA-DR. ⁽¹²⁾

Podem ser encontradas no tecido conjuntivo da maior parte dos órgãos, são de fácil isolamento e possuem uma elevada capacidade de autorrenovação. Apresentam também função anti-inflamatória, uma vez que levam à produção de citocinas e fatores de crescimento localmente, suprimindo assim a inflamação. Parecem ter também propriedades imunomodulatórias, o que as torna ainda mais atrativas, uma vez que não desencadeiam respostas imunitárias quando transplantadas, podendo vir ser uma fonte de células alogénicas. ⁽³⁾

Como já referido acima, irão apresentar propriedades específicas consoante o tecido em que se encontrem, sendo natural que células-tronco mesenquimatosas presentes na mandíbula apresentem maior potencial osteogénico do que as oriundas do tecido adiposo, por exemplo. Por este motivo, devemos escolher também o local de extração das mesmas consoante o propósito que queremos que desempenhem. ⁽¹³⁾

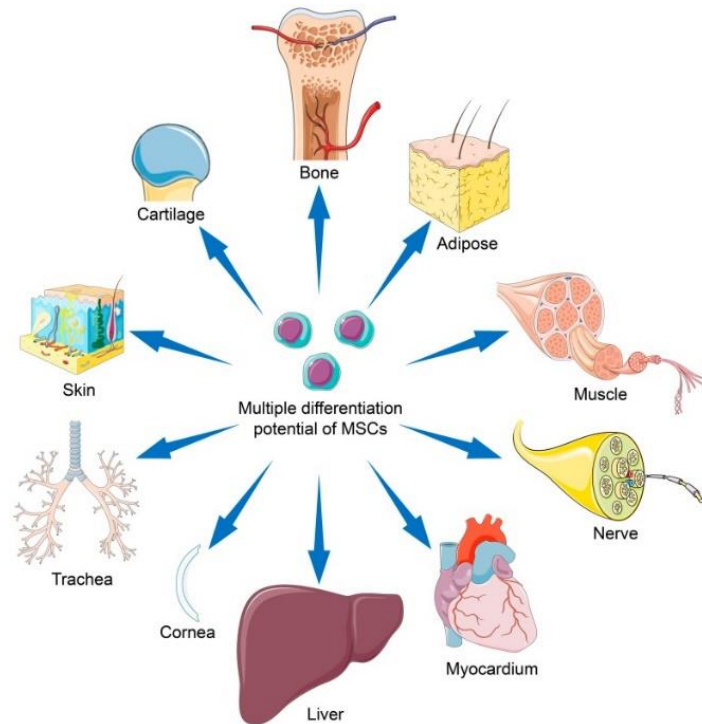


Figura 2: Potencial de diferenciação das MSC.

Sem autorização do autor

Em grande parte, por terem sido as primeiras a ser descobertas, as BMSC são também as mais estudadas das células-tronco mesenquimatosas e é sobre estas que possuímos mais informação. Por esse motivo, muitos dos ensaios clínicos feitos no que toca a novas MSC descobertas posteriormente (como as MSC derivadas dos tecidos dentários) comparam-nas com as BMSCs. ⁽¹³⁾

O processo de extração das BMSC é, no entanto, bastante invasivo, causando algum desconforto/dor e uma certa morbidade no tecido de onde são retiradas. Tal não acontece na colheita das células-tronco mesenquimatosas derivadas dos tecidos dentários, uma vez que estas podem ser conseguidas com relativa facilidade em tratamentos necessários de per si, como as extrações por motivos ortodônticos, de supranumerários ou de dentes do siso. Por este motivo, estas parecem apresentar-se como uma promissora fonte alternativa de células-tronco. ⁽¹³⁾

Células-tronco mesenquimatosas derivadas dos tecidos dentários

Nos dentes podem ser encontrados 2 tipos de células-tronco pós-natais: epiteliais e mesenquimatosas. No entanto, as primeiras apenas se conseguem extrair quando o dente se encontra na fase de gérmen dentário (abordaremos mais esta questão no tópico referente à regeneração de novos dentes).⁽¹⁰⁾

As células-tronco mesenquimatosas derivadas dos tecidos dentários provêm todas da mesma linhagem, sendo derivadas de células da crista neural, e apresentam propriedades gerais inerentes às MSC (expressão dos mesmos marcadores genéticos e diferenciação em células da linhagem mesenquimatosa). No entanto, possuem ligeiras diferenças, no que toca ao seu ritmo de crescimento em cultura, expressão de marcadores genéticos e capacidade de diferenciação celular; presentemente ainda se investiga se serão atribuíveis ao tecido de onde são originárias, à sua função ou às condições de cultura.⁽¹⁰⁾

Ao longo dos últimos anos foram encontrados 7 nichos de células-tronco dentárias, estando umas relacionadas com a polpa e outras com o periodonto. As primeiras englobam as células-tronco derivadas da polpa - DPSC (do inglês *Dental Pulp Stem Cells*), as células-tronco derivadas da polpa de dentes decíduos - SHED (do inglês *Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous Teeth*), as células-tronco da papila apical - SCAP (do inglês *Stem Cells from Apical Papilla*), e as células-tronco do gérmen dentário - TGPC (do inglês *Tooth Germ Progenitor Cells*) e as segundas as células-tronco do ligamento periodontal PDLSC (do inglês *Periodontal Ligament Stem Cells*), as células-tronco do folículo dentário - DFPC (do inglês *Dental Follicle Progenitor Cells*) e as células-tronco da gengiva - GMSC (do inglês *Gingival Mesenchymal Stem Cells*). (Fig. 3) Nesta revisão iremos apenas focar-nos nas DPSC, SHED e SCAP por serem derivadas da polpa e apresentarem resultados tangíveis no que toca à regeneração tecidual.⁽¹⁴⁾

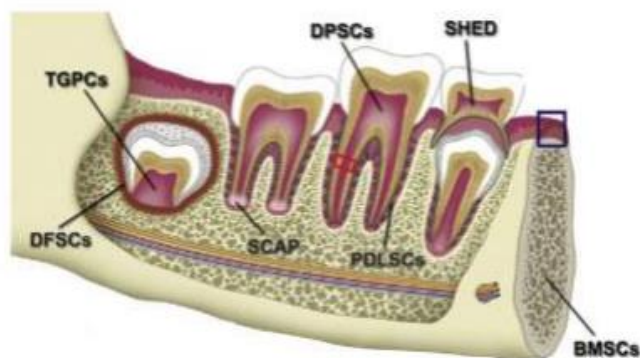


Figura 3: Diferentes linhagens de células-tronco dentárias.

Sem autorização do autor. ⁽³⁾

Recentemente, também se têm colhido MSC dentárias de tecidos dentários comprometidos, tais como dentes fraturados, afetados por cárie, com patologia pulpar irreversível, ou com periodondite agressiva, apresentando estas resultados promissores no que toca à regeneração tecidual, por vezes até superiores aos resultados apresentados pelas MSC saudáveis provenientes do mesmo tecido. Este tópico será aprofundado posteriormente nesta revisão. ^(3, 9)

1. DPSC

A capacidade de regeneração do complexo dentino-pulpar através da formação de dentina terciária quando exposto a fatores nocivos levou os cientistas a crer que a polpa dentária possuía células progenitoras capazes da reparação dentinária. Em 2000, Gronthos et Al., identificou pela primeira vez células-tronco na polpa de dentes permanentes – DPSC (Fig. 3). Estas mostraram capacidade de regenerar um complexo semelhante ao complexo pulpo-dentinário, composto por uma matriz mineralizada, com odontoblastos e tecido fibroso contendo vasos sanguíneos num arranjo espacial apropriado ao complexo pulpo-dentinário de um dente humano normal. Atualmente, sabemos que estas têm capacidade de autorrenovação e potencial osteogénico, adipogénico, condrogénico, odontogénico, neurogénico e miogénico, para além da formação de dentina ectópica e polpa associada *in vivo* (Tabela I). ^(1, 2, 15-18)

A polpa dentária é mais comumente extraída de 3 formas:

- Através do ápex fisiológico
- Divisão do dente utilizando um boticão
- Divisão do dente utilizando uma broca

No primeiro método, iremos recorrer a uma agulha para separar a polpa da dentina e em seguida colher a polpa com o auxílio de uma pinça. Este apresenta-se como o mais rápido, fácil e qualitativamente mais eficiente, mas requer um dente com o forâmen apical aberto (>2mm), o que implica dentes ainda em processo de desenvolvimento, ou que apresentem reabsorções radiculares. No caso de isto não se verificar teremos de recorrer a um dos outros dois métodos que se baseiam na desagregação do tecido duro envolvente para conseguir ter acesso à polpa. ⁽¹⁴⁾

No 2º e 3º métodos é necessário dividir o dente em 2 partes, na junção amelocementária, com o auxílio de um boticão (esmagando a junção), ou de uma broca. É de referir que durante a utilização da broca, caso seja o método escolhido, é de extrema importância a refrigeração do dente com spray de água para que não haja um aquecimento da polpa que leve à sua lesão. Após a separação do dente em 2, a polpa é colhida da mesma forma que no 1º método. ⁽¹⁴⁾

Após a obtenção da polpa, as DPSC podem ser isoladas de 2 formas: digestão enzimática ou desenvolvimento espontâneo. No primeiro, fragmentos da polpa são digeridos por um cocktail enzimático, obtendo-se uma solução com uma única célula que será posteriormente expandida em meios de cultura. ^(19, 20) No desenvolvimento espontâneo, 1-2mm³ de fragmentos pulparem são colocados diretamente em meios de cultura, onde se dará a proliferação espontânea das células, após dissociação da polpa. Várias pesquisas foram já elaboradas para se descobrir qual destes 2 métodos possui maior eficácia, mas ainda não existem resultados congruentes. ⁽²⁾

Embora ainda não se saiba qual o tipo de dente (incisivos, caninos, pré-molares ou molares) que possui maior capacidade regenerativa, está já estabelecido que a idade do dador é um fator determinante, sendo que as DPSC de dadores mais jovens possuem maior potencial regenerador. Num estudo em 2015, Wu et. Al., comparou DPSC extraídas de 6 crianças, 4 adolescentes, 5 adultos e 6 idosos, tendo verificado que não existiam diferenças no que toca ao grupo das crianças e dos adolescentes, mas que no grupo dos adultos e idosos se verificava menor taxa de proliferação, bem como menor capacidade de diferenciação (100% nas crianças e adolescentes, 60% adultos e 33% idosos).⁽²¹⁾

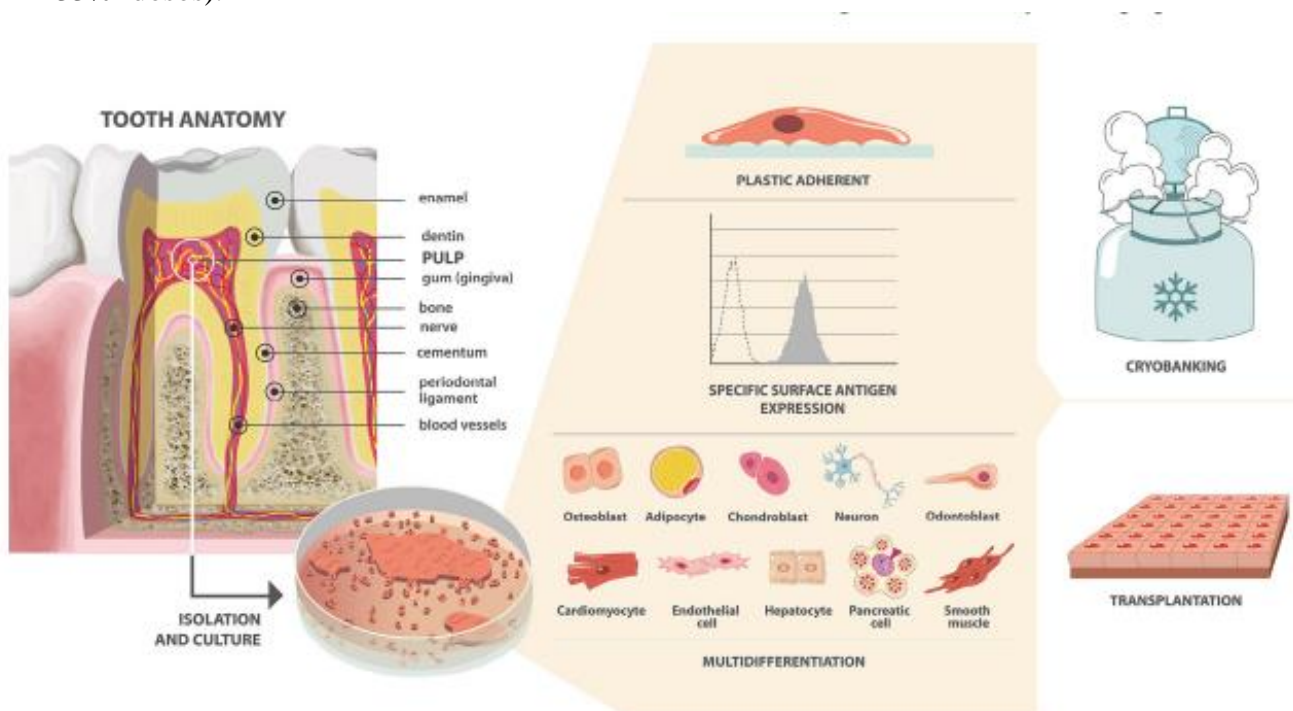


Figura 4: Representação das características específicas das DPSC. (2)

Um aspeto apelativo destas células é a possibilidade de serem armazenadas, sendo que vários estudos parecem demonstrar que as suas propriedades são mantidas após criopreservação (pelo menos durante 2 anos). É de realçar que as propriedades se expressam quer criopreservemos as células, quer o dente seja criopreservado inteiro e posteriormente colhidas as células. Este facto apresenta-se como uma oportunidade excelente, uma vez que vários dentes (sisos e pré-molares especialmente), são muitas vezes extraídos por motivos ortodônticos em tenra idade, apesar de se apresentarem com perfeita saúde.^(22, 23)

Num cenário ideal, armazenaríamos as DPSC imediatamente após as extrações dentárias que decorrem na infância (quando estas apresentam maior potencial regenerador) e a elas recorreríamos sempre que houvesse necessidade. Para que tal seja possível torna-se imprescindível

garantir a possibilidade de criopreservação a longo prazo, para além da criação de bancos de células onde estas possam ser armazenadas. Por serem células da linhagem mesenquimatosa, estas poderão até ser usadas como uma fonte de células com potencial alogénico.^(22, 23)

2. SHED

As células-tronco de dentes decíduos exfoliados - SHED (Fig. 3) foram descobertas em 2003 por Miura et. Al. e parecem apresentar maior taxa de proliferação e duplicação da população celular em menor tempo do que as DPSC e BMSC. Estas apresentam-se apenas em pacientes jovens, mas com a vantagem serem obtidas de um tecido “descartável” (polpa de dentes decíduos em exfoliação).^(1, 24)

É importante salientar também que a quantidade de SHED diminui à medida que a polpa recua, o que leva a que os dentes decíduos exfoliados já não possuam praticamente células estaminais para isolar. Assim sendo, foi estabelecido que para obtenção destas células os dentes tenham presente pelo menos 1/3 do comprimento original da sua raiz (sendo que nos multirradiculares se aconselha que possuam a furca presente).⁽¹⁴⁾

A idade preferencial para extrair os dentes decíduos será por esse motivo entre os 5 e os 9 anos, sendo ideal que estes se apresentem sãos. Também existem estudos que demonstram que as SHED mantêm as suas propriedades após até 2 anos de criopreservação, mas ainda não se sabe como será a sua capacidade depois de armazenamento de longo termo (10 anos ou mais). Uma vez que as crianças têm 20 dentes decíduos, existem várias oportunidades para armazenamento destas células, algo que não se verifica com as células presentes no cordão umbilical, por exemplo.⁽²²⁾

Estas apresentam-se como uma excelente oportunidade de regeneração em pacientes jovens, cujos incisivos ainda em desenvolvimento tenham sofrido necrose pulpar devido a trauma. Por se apresentarem em período de dentição mista e os seus molares temporários estarem em diferentes níveis de exfoliação, tornam as SHED oportunas para regeneração pulpar ou para completar o desenvolvimento vertical ou lateral das raízes.⁽²²⁾

Por a polpa dos dentes decíduos em exfoliação estar acessível, o método de obtenção destas é bastante mais simples, bastando removê-la com uma pinça. A forma de isolamento é a mesma que a utilizada para as DPSC.⁽²²⁾

3. SCAP

Em 2006, Sonoyama et. Al. descobriu na papila apical de raízes de dentes em formação uma população distinta de células-tronco, as quais denominou SCAP (Fig. 3). Estas apresentam tal como as DPSC e as SHED características das MSC, incluindo potencial de autorrenovação e diferenciação em diversas linhagens celulares (Tabela I).⁽²⁵⁾

De acordo com o autor, proliferam 2 a 3 vezes mais rápido do que as DPSC, para além de se apresentarem em maior quantidade, possuírem uma maior atividade telomérica e maior capacidade de migração. Estas características devem-se provavelmente à sua proximidade com a linhagem de células embrionárias, por serem oriundas de um tecido ainda em desenvolvimento.⁽²⁵⁾

As SCAP, parecem estar na base do processo de apogênese em dentes permanentes imaturos, com periodontite perirradicular ou abscessos. Pensa-se que as SCAP sobrevivem à necrose pulpar por se encontrarem próximas ao sistema vascular dos tecidos periapicais. Assim sendo, mesmo após instrumentação e desinfeção endodôntica, estas células geram odontoblastos primários que completam a formação da raiz.⁽²⁵⁾

À semelhança das SHED, também as SCAP se encontram acessíveis, sendo o método de obtenção destas através da remoção da papila apical, com o auxílio de uma pinça. A forma de isolamento é igual à mencionada para as DPSC e SHED.⁽²⁵⁾

Tabela I: Potencial de diferenciação das diferentes células-tronco derivadas da polpa.

Stem cell type	Source		Multipotentiality							
	1	2	Osteo-genic	Odonto-genic	Ddentino-genic	Cemento-genic	Adipo-genic	Chondro-genic	Myo-genic	Neuro-genic
DPSC		Pulp	✓		✓		✓	✓	✓	✓
SHED	Pulp		✓		✓		✓	✓	✓	✓
SCAP		Apical papilla		✓	✓		✓	Nd	Nd	✓

1-Provenientes de dentes decíduos; 2- Provenientes de dentes permanentes. Sem autorização do autor⁽²⁶⁾

Diversas aplicabilidades da regeneração tecidual utilizando células-tronco pulpares

1. Osso

A regeneração óssea craniofacial tem sido uma área de elevado interesse nos últimos anos na resposta a necessidades médicas ou estéticas, com o intuito de regenerar ou repor tecidos

afetados por doenças como a osteoporose, malformações congénitas ou infeções severas. Isto porque apesar de o osso apresentar possibilidade de regenerar pequenos defeitos, o mesmo não acontece quando estes são demasiado extensos.⁽²⁷⁾

O *gold-standard* para proceder à reparação desses defeitos é, de momento, a enxertia óssea autóloga. No entanto, temos de considerar que a quantidade de osso necessário para o preenchimento do defeito, a quantidade limitada de osso disponível e a morbilidade do sítio dador podem condicionar ou até impossibilitar a utilização deste método.⁽²⁷⁾

Vários materiais de enxerto artificiais sintéticos, alogénicos e xenogénicos surgiram assim para suprir esta necessidade, apesar de estes ainda apresentarem uma baixa atividade osteogénica e osteocondutora.⁽²⁷⁾

Por estes motivos, a utilização da engenharia de tecidos para terapia regeneradora de osso com base na utilização de células-tronco osteoindutivas e *scaffolds* osteocondutores tem vindo a aumentar a sua popularidade como meio de tratamento alternativo.⁽²⁷⁾

As primeiras células-tronco descobertas que apresentaram capacidade de formar osso foram as BMSC. Devido a serem as mais bem estudadas, ao seu enorme potencial osteogénico e à relativa facilidade com que podem ser obtidas, estas são consideradas uma escolha de 1ª opção no que toca à regeneração óssea, sendo também largamente utilizadas na comparação do potencial reparador de outras células. Inclusive existem já estudos nos quais a utilização das mesmas juntamente com *scaffolds* apropriados apresenta melhores resultados na regeneração óssea do que a utilização dos *scaffolds* isolados.^(23, 27, 28)

No entanto, algumas desvantagens podem também ser apontadas, como a baixa quantidade de células coletadas, o risco de infeção, o dano causado no sítio dador, a menor capacidade de proliferação e diferenciação com o avançar da idade do dador e a dor inerente à colheita das mesmas.⁽²⁷⁻²⁹⁾

As células-tronco mesenquimatosas derivadas da polpa (DPSC) atraíram então a atenção dos investigadores uma vez que além de apresentarem uma boa capacidade de diferenciação osteogénica, propriedades imunomodulatórias e parácrinas favoráveis e uma elevada taxa de proliferação, possuem também facilidade de obtenção e isolamento (colhidas a partir de dentes extraídos), convertendo-as numa ótima fonte alternativa de células para este propósito.^(23, 27, 29)

Diversos estudos *in vitro*^(23, 27, 29, 30) e *in vivo*^(27, 29, 31-33) vieram confirmar a capacidade osteogénica das DPSC. Muitos deles provaram até que estas apresentavam maior capacidade

osteogénica do que as BMSC ^(23, 29, 30, 32), no entanto também se obtiveram resultados contrários^(15, 34-36), o que nos leva a ponderar o porquê destes resultados díspares. Provavelmente atribuem-se às diversas variáveis existentes no que toca à investigação das células-tronco e, por inclusão, das DPSC, tais como:

- Local da colheita (já foi provado que as BMSC retiradas da mandíbula ou do fémur possuem diferentes resultados no que toca à regeneração óssea); ⁽³⁷⁾
- Técnica de extração celular;
- O meio de cultura escolhido para a sua proliferação;
- O *scaffold* no qual irão ser implantadas;
- Os fatores de crescimento utilizados;
- A idade do dador (como já foi referido células de dadores mais jovens apresentam maior capacidade de proliferação);
- O dador em si (existe sempre uma variabilidade no que toca à capacidade regenerativa de cada indivíduo);

Pela existência de todas estas variáveis torna-se quase impossível uma sobreposição dos resultados de forma a aferir-se qual o método ótimo para utilização destas células. Assim, torna-se evidente a necessidade de mais investigação, seguindo um protocolo que permita replicar os resultados, eliminando as incertezas. Parece assim ser de importância fulcral que se utilize sempre o mesmo dador para colheita das diferentes células a analisar, uma vez que esta variável pode ser a razão das variações no que toca aos resultados previamente apresentados.⁽²³⁾

Seguindo esta linha de pensamento, Alge et. Al. em 2010 realizou um estudo onde BMSC e DPSC foram colhidas do mesmo dador (para além de terem sido cultivadas e implementadas com os mesmos métodos) no qual verificou que as DPSC apresentavam maior capacidade osteogénica. Isto pode revelar-se uma descoberta relevante no que toca à definição de qual a melhor fonte de células osteogénicas.⁽²³⁾

Recentemente tem-se considerado também a hipótese de tecidos com ligeira inflamação poderem apresentar-se mais aptos à regeneração tecidual por se apresentarem já num estado de alerta e estimulados a lutar contra a agressão. Para verificar esta suspeita, Tomasello et. al em 2017 comparou o potencial osteogénico *in vitro* de DPSC de polpas saudáveis, DPSC de polpas de dentes afetados com doença periodontal grave (dentes com mobilidade grau 3) e GMSC de ambos os grupos de pacientes. Verificou-se, após cultura das células, que tanto as GMSC como as DPSC

dos pacientes que possuíam periodontite apresentavam maior deposição de cristais de cálcio do que as DPSC e GMSC dos pacientes saudáveis, bem como de um grupo controlo de BMSC. Concluíram também que as amostras saudáveis, quando cultivadas com citocinas, apresentavam potencial semelhante às DPSC e GMSC dos pacientes com periodontite, o que nos leva a crer que os fatores inflamatórios podem funcionar como um catalisador no que toca à regeneração tecidual.⁽⁹⁾

Apesar de já ser possível regeneração óssea *in situ* (defeitos ósseos extensos na mandíbula) em humanos utilizando apenas uma esponja de colagénio como *scaffold* carregada com DPSC, este método só será viável se se tornar o mais eficaz para a regeneração óssea. Para que se torne o gold standard, é necessário que se prove superior à prática presentemente mais utilizada, a saber, a utilização de enxertos autólogos convencionais ou de xenoenxertos, que comprovadamente apresentam resultados favoráveis e seguros.⁽³¹⁾

2. Dentina/Polpa

A cárie dentária continua a ser a doença infecciosa mais prevalente nos humanos. Esta resulta na destruição do esmalte, cemento e dentina, podendo por vezes levar a inflamação pulpar, sendo por isso uma patologia preocupante que afeta a qualidade de vida e a saúde.⁽³⁸⁾

Para além desta, o trauma dentário é também uma condição comum, especialmente no que toca a crianças e adolescentes.⁽³⁸⁾

Estas situações, em casos mais graves, podem levar à infeção e posterior necrose da polpa. O seu tratamento atual é o esvaziamento do canal pulpar seguido de preenchimento com materiais sintéticos, resultando num dente sem vitalidade e enfraquecido para o resto da vida.^(26, 38)

Apesar dos elevados níveis de sucesso dos tratamentos endodônticos não regenerativos, é preciso considerar que existem alguns problemas associados a esta terapia, nomeadamente o enfraquecimento da estrutura dentária, o eventual escurecimento do dente devido à coloração por parte do material obturador e a perda de sensibilidade nervosa da peça dentária.⁽²⁶⁾

Por todos os motivos salientados, o desejo de desenvolver uma alternativa que leve à revitalização do dente, que seria o tratamento ótimo no que toca à endodontia, tendo vindo a ganhar crescente interesse por parte dos Médicos Dentistas. Surgiram assim diversas alternativas para

satisfazer a necessidade de criar uma nova polpa e entre elas encontra-se a utilização de células-tronco derivadas da polpa. ⁽²⁶⁾

Para obter regeneração total da polpa de um dente já desvitalizado é necessário promover (1) uma correta revascularização (o que se revela desafiante, sendo a única fonte de vascularização o forâmen apical), (2) formação de novos odontoblastos corretamente dispostos ao longo da dentina pré-existente e (3) produção de nova dentina por estes. ⁽²⁶⁾

Para este quesito, é um trunfo inegável das células-tronco a capacidade de se poderem diferenciar em diversos tecidos. Esta possibilita que (1) não seja necessário transplantar vários tipos celulares (fibroblastos, odontoblastos) para além de (2) não necessitem de auxílio no que diz respeito à sua correta organização espacial, que deve mimetizar a arquitetura natural de um dente (odontoblastos na periferia ao longo de toda a dentina, e fibroblastos no centro), que de outra forma seria incrivelmente difícil de obter. ⁽²⁶⁾

Já vários estudos comprovaram que as DPSC e as SHED são capazes de regenerar um tecido semelhante à polpa *in vitro* ^(38, 39) e *in vivo* ^(30, 38-40), tendo alguns até provado a formação de uma nova camada de odontoblastos corretamente posicionados espacialmente ^(30, 38) e formação de nova dentina ^(30, 38). No que toca à diferenciação destas em odontoblastos, a dentina pré-existente parece ser capaz de guiar as células-tronco do *scaffold* para próximo da dentina e promover a sua diferenciação neste sentido. Especula-se que o mecanismo por trás deste fenómeno seja a libertação de fatores de crescimento embebidos na dentina, mas ainda é necessário confirmar esta suposição. ⁽³⁰⁾ O que ainda não se conseguiu atingir a 100% foi a criação de uma dentina perfeitamente organizada, com túbulos dentinários interligados, como acontece na dentina primária, apenas uma dentina desorganizada, semelhante à dentina terciária. ⁽³⁰⁾

Recentemente em 2017, Nakashima et. Al. mostrou ser possível regeneração de nova polpa *in situ* em dentes pulpectomizados humanos, através do recurso a DPSCs estimuladas com G-CSF (*granulocyte colony stimulating factor*). Assim, em 5 pacientes com pulpite irreversível (sem qualquer tipo de lesões periapicais), os canais foram instrumentados e desinfetados e o ápice foi preparado para se encontrar com 0.45-0.55mm, de modo a propiciar a vascularização. A ressonância magnética e o CBCT foram realizados após 24 semanas, e revelaram um tecido regenerado semelhante a polpa, com resposta positiva aos testes pulpares elétricos e com nova aposição de dentina, na maioria dos casos. Apesar de este protocolo apresentar resultados satisfatórios é importante que se tenha em conta a prevenção da infeção no canal radicular durante

o tratamento, através da utilização de irrigantes e medicação intracanal adequada, para além da necessidade de formação de dentina na coroa, de forma a prevenir microinfiltrações. ⁽⁴¹⁾

Resultados promissores como os de Nakashima, levam-nos a crer que muito em breve poderemos experienciar uma evolução no que toca aos tratamentos endodônticos clínicos, passando a regenerar polpa, em vez de a substituímos por materiais sintéticos. No entanto devemos considerar que o tratamento referido foi efetuado num dente com polpa vital, onde a carga bacteriana é significativamente menor quando comparada com a de um dente necrótico. Como tal, e para que este protocolo se torne uma realidade para a maioria dos tratamentos endodônticos, são ainda necessários mais estudos para comprovar a segurança a longo prazo, bem como a inexistência de reações adversas.

3. Regeneração dentária integral

Atualmente, o protocolo de substituição de um dente ausente que mais se aproxima da condição original é o recurso a implantes osteointegrados, o que implica a colocação de uma estrutura (metálica ou cerâmica), numa cavidade pré-trepanada no osso, sobre a qual será aparafusada ou cimentada uma coroa. ⁽⁷⁾

Este método tem, no entanto, as suas limitações, sendo as mais notáveis a possibilidade de periimplantites, a perda considerável de propriocepção e total de nocicepção, além da necessidade da presença de uma quantidade e qualidade mínima de osso, visto que o seu sucesso depende de uma osteointegração bem-sucedida. No caso de haver osso insuficiente, teremos de recorrer à regeneração óssea pré-implantação ou durante a mesma. ⁽⁷⁾

Apesar de esta ser hoje a melhor solução disponível, o ideal seria termos um método biológico que conseguisse substituir dentes perdidos por novos dentes naturais. Ou seja, uma implantação de células, em vez de uma implantação de metal. Para tal, vários critérios terão de ser preenchidos, os quais abordaremos em seguida.

Os dentes são órgãos complexos formados por vários tecidos: o esmalte, a dentina, o cimento, a polpa e o ligamento periodontal, cuja gênese, à semelhança do que se verifica noutros órgãos, ocorre através de interações complexas entre epitélio e mesênquima ao longo de várias fases. ^(7, 14, 28)

As células epiteliais irão dar origem ao esmalte, através dos ameloblastos, e as células mesenquimatosas (derivadas da crista neural) irão formar todos os restantes componentes (odontoblastos → dentina; polpa; fibroblastos → ligamento periodontal; cementoblastos → cimento; osteoblastos → osso alveolar). A complexidade na formação dentária deve-se em parte a possuírem 2 tecidos duros especializados distintos unidos, esmalte e dentina, originários de dois tecidos diferentes (epitélio e mesênquima respetivamente). (7, 14, 28)

A odontogénese inicia-se na fase de indução, onde sinais vindos do epitélio para o mesênquima irão dar a partida para a germinação dentária (Fig.5- Fase Indução). Após sofrer indução, o mesênquima adquire potencial indutor e irá agora induzir reciprocamente o epitélio (Fig.5- Fase de Gomo). Estas 2 etapas parecem ser os pontos-chave necessários para a odontogénese e necessitam ser replicados se almejamos a formação de novos dentes. (7, 14, 28)

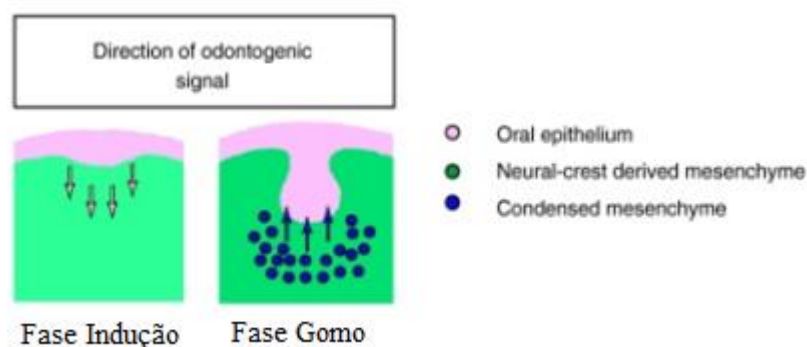


Figura 5: Ilustração do potencial de indução odontogénico.

Sem autorização do autor⁽¹⁰⁾

Com estes pressupostos em mente, Ikeda et. Al. em 2009 mostrou a formação de um dente completo totalmente funcional na maxila de um rato, utilizando células epiteliais e mesenquimatosas embrionárias do gérmen de um molar. Este apresentava todos os componentes de um dente maturo, (esmalte, ameloblastos, dentina, odontoblastos, cimento, polpa, ligamento periodontal e osso alveolar), bem como uma correta inervação e vascularização. Após a transplantação do gérmen, este desenvolveu-se formando raiz e coroa, tendo erupcionado a primeira cúspide aos $36,7 \pm 5,5$ dias e apresentando-se o dente no plano oclusal após $49 \pm 5,5$ dias. O dente neoformado apresentou dureza semelhante aos dentes naturais adjacentes e, inclusive, quando submetido a movimentos ortodônticos conseguiu-se observar a remodelação óssea estimulada pelo ligamento periodontal neoformado. Apesar de estes resultados serem excelentes, apresentam ainda lacunas uma vez que ainda não é possível decidir algumas características

fundamentais como o tamanho e as proporções do dente (M-D e V-L, para além do rácio coroa:raíz), nem o número de cúspides e a sua posição. ⁽⁴⁾

Porém, o facto de as únicas células possuidoras de capacidade indutiva odontogénica serem células embrionárias dentárias leva a que este processo tenha ainda pouco interesse prático no que toca ao desenvolvimento de uma terapia clínica que possa ser viável para os tratamentos do quotidiano. Com isto em mente, tornou-se assim, essencial identificarem-se fontes celulares epiteliais e/ou mesenquimatosas adultas que possuíssem ou conseguissem adquirir este potencial indutor odontogénico. ⁽⁴²⁾

Com isto em mente, e sabendo que a indução do potencial odontogénico está inicialmente contida no epitélio dentário (fase de indução), foram procurar-se células mesenquimatosas adultas que conseguissem ser induzidas pelas primeiras. Em 2004, Ozahama et. Al. demonstrou precisamente que a utilização de células epiteliais embrionárias dentárias (provenientes da fase de gomo) em combinação com células mesenquimatosas não-dentárias (BMSC) podia levar à neoformação de dentes *in vitro*. Para além disso, verificou também que quando estes dentes eram transplantados para a maxila de um rato, se desenvolviam, apresentando raízes e possibilitando a função. Com este estudo podemos concluir que as células epiteliais provenientes de um germen dentário na fase de indução são capazes de induzir a odontogénese mesmo quando combinadas com células mesenquimatosas não odontogénicas, desde que as últimas possuam carácter de célula-tronco em comum com as células da crista neural. ⁽⁴³⁾

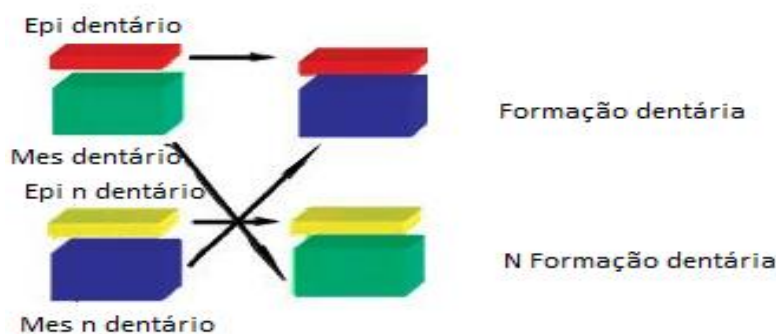


Figura 6: Demonstração do potencial odontogénico de células dentárias embrionárias na fase de indução.

Podemos verificar que a junção de células epiteliais dentárias com mesenquimatosas não dentárias, leva à formação dentária, enquanto a junção de células mesenquimatosas dentárias com epiteliais não dentárias não.

Sem autorização do autor. ⁽⁴⁴⁾

Após indução epitelial do mesênquima, este último torna-se agora o tecido indutivo (estágio gomo) e envia sinais de indução de volta para o epitélio que agora se encontra não-indutivo.^(7, 44) Num estudo complementar ao de Ozahama, Volponi et. Al. em 2013 pretendeu mostrar a reação recíproca, provando a capacidade das células epiteliais gengivais serem induzidas por células mesenquimatosas embrionárias de molares, originando também um órgão dentário.⁽⁴⁵⁾

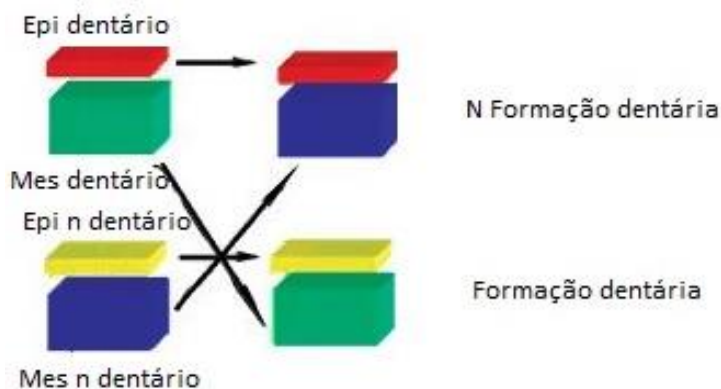


Figura 7: Demonstração do potencial odontogênico de células dentárias embrionárias na fase de gomo.

Nesta fase verifica-se precisamente o contrário, uma vez que agora o potencial indutor se encontra no mesênquima. Aqui podemos verificar que a junção de células mesenquimatosas dentárias com epiteliais não dentárias, leva à formação dentária, enquanto a junção de células epiteliais dentárias com mesenquimatosas não dentárias não.

Sem autorização do autor.⁽⁴⁴⁾

Com estes resultados podemos concluir que para a neoformação de um dente necessitaremos sempre de uma fonte de células indutoras combinada com uma fonte de células induzíveis. Estas terão de ser sempre uma epitelial e uma mesenquimatosas, sendo que as últimas, independentemente de serem indutoras ou induzíveis, devem apresentar propriedades de células-tronco em comum com as células da crista neural. Já possuímos conhecimento de células adultas que conseguem ser induzidas para a odontogénese. Resta-nos assim encontrar células adultas que possuam capacidade indutora (ou que possam vir a ser estimuladas para tal) para possibilitar a utilização desta terapia. Mesmo assim, existirão ainda fatores, como os referidos acima (determinação do número de cúspides e formato do dente), para além do tempo necessário à formação de um novo dente, que terão de ser tidos em conta para possibilitar a viabilidade deste tratamento como a melhor solução para a substituição de dentes ausentes.⁽⁴²⁾

Embora idealmente queiramos atingir um dente totalmente neoformado, paradoxalmente, a parte visível do dente (a coroa) é a menos relevante neste processo, se tivermos em conta os resultados apresentados por coroas dentárias sintéticas, as quais funcionam relativamente bem e podem ser perfeitamente ajustadas no que toca a cor, formato e tamanho. Apesar de ser essencial para a função, a coroa parece ser o mais difícil de obter em todo este processo. Assim sendo, o que parece estar mais próximo da nossa realidade e com maior possibilidade de ser replicado brevemente é a formação de uma nova raiz.⁽¹⁰⁾

Em 2006, Sonoyama et al. utilizando SCAPs e PDLSCs humanas provou a possibilidade de gerar uma raiz totalmente funcional com dentina, cimento e ligamento periodontal em poucos anos. Utilizaram para tal um scaffold de HA/TCP com conformação de raiz, o qual foi carregado com as SCAP, sendo este envolto com Gelfoam onde se encontravam as PDLSC. Isto serviu para mimetizar um set-up biofisiológico raiz/periodonto *in vivo*. Após 8 semanas de transplantação, era possível já a visualização de cimento e fibras de Sharpey ancoradas a este. Aos 3 meses era visível uma raiz perfeitamente estável sobre a qual foi colocada uma coroa cerâmica. Apesar de esta raiz apresentar uma ligeiramente menor tolerância às forças compressivas quando comparada com as raízes dos dentes naturais adjacentes, mostrou ser perfeitamente capaz de suportar a coroa e todas as funções normais decorrentes ao longo de 4 meses. É possível também que a dureza e capacidade da raiz formada possam ser melhorados através da seleção de melhores biomateriais ou otimizando o número e qualidade das células implantadas.⁽²⁵⁾

Conclusão

No mundo atual, a estética é altamente valorizada, e uma boa aparência é vital para a autoestima, e no limite para o sucesso profissional e pessoal. Grande parte de um aspeto agradável passa por um sorriso esteticamente apelativo. Consequentemente, o singelo e humilde dente tem assumido, cada vez mais, um valor elevado para todos.

A verdade é que o reparo e a substituição de dentes são das maiores preocupações na área da Medicina Dentária, e, apesar de estes não serem de importância vital, influenciam grandemente a qualidade de vida e a saúde física, mental, social e emocional dos pacientes. Inclusive, segundo a OMS (Organização Mundial de Saúde) “saúde é um estado de completo bem-estar físico, mental e social e não somente ausência de afeções e enfermidades”.

As patologias dentárias, por não ditarem normalmente a sentença entre a vida e a morte, não serão a prioridade da medicina regenerativa, como será o caso das doenças neuronais ou cardíacas. No entanto, por a odontogénese ser semelhante à génese de outros órgãos, o conhecimento adquirido durante o seu estudo pode levar a que a utilização de células-tronco de origem dentária no âmbito da medicina regenerativa seja um contributo importante para o seu desenvolvimento.

Para além disso, os dentes são, indubitavelmente, uma acessível fonte de células-tronco altamente proliferativas, o que, aliado à sua capacidade de diferenciação em condroblastos e neurónios, auspicia um contributo valioso até na resolução de patologias não dentárias.

A extração de dentes perfeitamente saudáveis, como são exemplo os dentes do siso, supranumerários, ou extrações por motivos ortodônticos, os quais normalmente se descartam como “lixo médico”, apresenta uma excelente oportunidade para a obtenção de células-tronco, sem qualquer inconveniente como a morbilidade ou questões éticas associadas. Assim, as células-tronco derivadas dos tecidos dentários apresentam-se como uma ótima fonte de células-tronco para regeneração tecidual. O que é facto também é que raras serão as vezes onde necessitaremos de regeneração tecidual no momento exato da extração desses dentes. Por este motivo, torna-se clara a necessidade de criar protocolos e medidas ótimas de criopreservação destas células, para além de bancos onde estas possam ser armazenadas para serem utilizadas sempre que haja necessidade.

Contudo, e apesar de haver alguma segurança no que toca à utilização destas enquanto estratégia de regeneração tecidual, existe pouco feedback no que toca a resultados por

prolongados intervalos de tempo, essencialmente por ser uma alternativa relativamente recente (descobertas há apenas 20 anos). Embora no Mundo atual tudo mude constantemente e a um ritmo alucinante no que toca à tecnologia e ao conhecimento, temos de ser conscientes de que o corpo humano se rege por um ritmo biológico o qual por muito que a tecnologia se desenvolva nem sempre poderá ser contrariado.

Podemos no final desta revisão concluir que as células-tronco derivadas da polpa são uma alternativa viável para a regeneração tecidual. Idealmente, num futuro não muito longínquo poderemos ter novos dentes totalmente formados através da engenharia de tecidos e implantados nos pacientes em substituição dos seus dentes perdidos. No entanto, esta realidade ainda apresenta imensos desafios e questões que necessitam ser respondidas. Até lá, a regeneração de tecidos dentários (polpa e dentina) e osso parece ser um objetivo mais tangível, com enormes benefícios para a saúde dos pacientes. A regeneração total de polpa num dente desvitalizado por exemplo é já um avanço extraordinário no campo da endodontia e na medicina dentária em geral.

Referências Bibliográficas

1. Peng L, Ye L, Zhou X-d. Mesenchymal stem cells and tooth engineering. *Int J Oral Sci.* 2009;1(1):6-12.
2. Anitua E, Troya M, Zalduendo M. Progress in the use of dental pulp stem cells in regenerative medicine. *Cytotherapy.* 2018;20(4):479-98.
3. Egusa H, Sonoyama W, Nishimura M, Atsuta I, Akiyama K. Stem cells in dentistry – Part I: Stem cell sources. *Journal of Prosthodontic Research.* 2012;56(3):151-65.
4. Ikeda E, Morita R, Nakao K, Ishida K, Nakamura T, Takano-Yamamoto T, et al. Fully functional bioengineered tooth replacement as an organ replacement therapy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2009;106(32):13475-80.
5. Heidary Rouchi A, Mahdavi-Mazdeh M. Regenerative Medicine in Organ and Tissue Transplantation: Shortly and Practically Achievable? *Int J Organ Transplant Med.* 2015;6(3):93-8.
6. Saber SE. Tissue engineering in endodontics. *J Oral Sci.* 2009;51(4):495-507.
7. Bluteau G, Luder HU, De Bari C, Mitsiadis TA. Stem cells for tooth engineering. *Eur Cell Mater.* 2008;16:1-9.
8. Heins N, Englund M, Sjöblom C, Dahl U, Nilton A, Bergh C, et al. Derivation, Characterization, and Differentiation of Human Embryonic Stem Cells. *Stem cells (Dayton, Ohio).* 2004;22:367-76.
9. Tomasello L, Mauceri R, Coppola A, Pitrone M, Pizzo G, Campisi G, et al. Mesenchymal stem cells derived from inflamed dental pulpal and gingival tissue: a potential application for bone formation. *Stem Cell Research & Therapy.* 2017;8(1):179.
10. Volponi AA, Pang Y, Sharpe PT. Stem cell-based biological tooth repair and regeneration. *Trends Cell Biol.* 2010;20(12):715-22.
11. Friedenstein AJ, Chailakhjan RK, Lalykina KS. THE DEVELOPMENT OF FIBROBLAST COLONIES IN MONOLAYER CULTURES OF GUINEA-PIG BONE MARROW AND SPLEEN CELLS. *Cell Proliferation.* 1970;3(4):393-403.
12. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy.* 2006;8(4):315-7.
13. Han Y, Li X, Zhang Y, Han Y, Chang F, Ding J. Mesenchymal Stem Cells for Regenerative Medicine. *Cells.* 2019;8(8):886.

14. Pilbauerova N, Suchanek J. Cryopreservation of Dental Stem Cells. *Acta Medica (Hradec Kralove)*. 2018;61(1):1-7.
15. Gronthos S, Mankani M, Brahimi J, Robey PG, Shi S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97(25):13625-30.
16. Liu J, Yu F, Sun Y, Jiang B, Zhang W, Yang J, et al. Concise reviews: Characteristics and potential applications of human dental tissue-derived mesenchymal stem cells. *Stem Cells*. 2015;33(3):627-38.
17. Shi S, Bartold PM, Miura M, Seo BM, Robey PG, Gronthos S. The efficacy of mesenchymal stem cells to regenerate and repair dental structures. *Orthod Craniofac Res*. 2005;8(3):191-9.
18. Gronthos S, Brahimi J, Li W, Fisher LW, Cherman N, Boyde A, et al. Stem cell properties of human dental pulp stem cells. *J Dent Res*. 2002;81(8):531-5.
19. Karamzadeh R, Eslaminejad MB, Aflatoonian R. Isolation, characterization and comparative differentiation of human dental pulp stem cells derived from permanent teeth by using two different methods. *J Vis Exp*. 2012(69).
20. Vina-Almunia J, Borrás C, Gambini J, El Alamy M, Penarrocha M, Vina J. Influence of different types of pulp treatment during isolation in the obtention of human dental pulp stem cells. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2016;21(3):e374-9.
21. Wu W, Zhou J, Xu C-T, Zhang J, Jin Y-J, Sun G-L. Derivation and growth characteristics of dental pulp stem cells from patients of different ages. *Mol Med Rep*. 2015;12(4):5127-34.
22. Papaccio G, Graziano A, d'Aquino R, Graziano MF, Pirozzi G, Menditti D, et al. Long-term cryopreservation of dental pulp stem cells (SBP-DPSCs) and their differentiated osteoblasts: a cell source for tissue repair. *J Cell Physiol*. 2006;208(2):319-25.
23. Alge DL, Zhou D, Adams LL, Wyss BK, Shadday MD, Woods EJ, et al. Donor-matched comparison of dental pulp stem cells and bone marrow-derived mesenchymal stem cells in a rat model. *J Tissue Eng Regen Med*. 2010;4(1):73-81.
24. Miura M, Gronthos S, Zhao M, Lu B, Fisher LW, Robey PG, et al. SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(10):5807-12.
25. Sonoyama W, Liu Y, Fang D, Yamaza T, Seo B-M, Zhang C, et al. Mesenchymal stem cell-mediated functional tooth regeneration in swine. *PLoS One*. 2006;1(1):e79-e.
26. Ajay Sharma L, Sharma A, Dias GJ. Advances in regeneration of dental pulp--a literature review. *J Investig Clin Dent*. 2015;6(2):85-98.

27. Lee Y-C, Chan Y-H, Hsieh S-C, Lew W-Z, Feng S-W. Comparing the Osteogenic Potentials and Bone Regeneration Capacities of Bone Marrow and Dental Pulp Mesenchymal Stem Cells in a Rabbit Calvarial Bone Defect Model. *International journal of molecular sciences*. 2019;20(20):5015.
28. Ercal P, Pekozer GG, Kose GT. Dental Stem Cells in Bone Tissue Engineering: Current Overview and Challenges. *Adv Exp Med Biol*. 2018;1107:113-27.
29. Jensen J, Tvedesø C, Rölfing JHD, Foldager CB, Lysdahl H, Kraft DCE, et al. Dental pulp-derived stromal cells exhibit a higher osteogenic potency than bone marrow-derived stromal cells in vitro and in a porcine critical-size bone defect model. *SICOT-J*. 2016;2:16-.
30. Huang GTJ, Yamaza T, Shea LD, Djouad F, Kuhn NZ, Tuan RS, 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 Eng Part A*. 2010;16(2):605-15.
31. d'Aquino R, De Rosa A, Lanza V, Tirino V, Laino L, Graziano A, et al. Human mandible bone defect repair by the grafting of dental pulp stem/progenitor cells and collagen sponge biocomplexes. *Eur Cell Mater*. 2009;18:75-83.
32. Ito K, Yamada Y, Nakamura S, Ueda M. Osteogenic potential of effective bone engineering using dental pulp stem cells, bone marrow stem cells, and periosteal cells for osseointegration of dental implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2011;26(5):947-54.
33. Otaki S, Ueshima S, Shiraishi K, Sugiyama K, Hamada S, Yorimoto M, et al. Mesenchymal progenitor cells in adult human dental pulp and their ability to form bone when transplanted into immunocompromised mice. *Cell Biol Int*. 2007;31(10):1191-7.
34. Isobe Y, Koyama N, Nakao K, Osawa K, Ikeno M, Yamanaka S, et al. Comparison of human mesenchymal stem cells derived from bone marrow, synovial fluid, adult dental pulp, and exfoliated deciduous tooth pulp. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2016;45(1):124-31.
35. Zhang W, Walboomers XF, van Osch GJ, van den Dolder J, Jansen JA. Hard tissue formation in a porous HA/TCP ceramic scaffold loaded with stromal cells derived from dental pulp and bone marrow. *Tissue Eng Part A*. 2008;14(2):285-94.
36. Davies OG, Cooper PR, Shelton RM, Smith AJ, Scheven BA. A comparison of the in vitro mineralisation and dentinogenic potential of mesenchymal stem cells derived from adipose tissue, bone marrow and dental pulp. *J Bone Miner Metab*. 2015;33(4):371-82.
37. Zhou W, Zhang J, Lin K, Chen F. Comparison between mandibular and femur derived bone marrow stromal cells: osteogenic and angiogenic potentials in vitro and bone repairing ability in vivo. *RSC Advances*. 2017;7(89):56220-8.

38. Cordeiro MM, Dong Z, Kaneko T, Zhang Z, Miyazawa M, Shi S, et al. Dental pulp tissue engineering with stem cells from exfoliated deciduous teeth. *J Endod.* 2008;34(8):962-9.
39. Itoh Y, Sasaki JI, Hashimoto M, Katata C, Hayashi M, Imazato S. Pulp Regeneration by 3-dimensional Dental Pulp Stem Cell Constructs. *J Dent Res.* 2018;97(10):1137-43.
40. Prescott RS, Alsanea R, Fayad MI, Johnson BR, Wenckus CS, Hao J, et al. In vivo generation of dental pulp-like tissue by using dental pulp stem cells, a collagen scaffold, and dentin matrix protein 1 after subcutaneous transplantation in mice. *Journal of endodontics.* 2008;34(4):421-6.
41. Nakashima M, Iohara K. Recent Progress in Translation from Bench to a Pilot Clinical Study on Total Pulp Regeneration. *J Endod.* 2017;43(9s):S82-s6.
42. Angelova Volponi A, Zaugg LK, Neves V, Liu Y, Sharpe PT. Tooth Repair and Regeneration. *Current Oral Health Reports.* 2018;5(4):295-303.
43. Ohazama A, Modino SA, Miletich I, Sharpe PT. Stem-cell-based tissue engineering of murine teeth. *J Dent Res.* 2004;83(7):518-22.
44. Zhang YD, Chen Z, Song YQ, Liu C, Chen YP. Making a tooth: growth factors, transcription factors, and stem cells. *Cell Res.* 2005;15(5):301-16.
45. Angelova Volponi A, Kawasaki M, Sharpe PT. Adult human gingival epithelial cells as a source for whole-tooth bioengineering. *Journal of dental research.* 2013;92(4):329-34.

ANEXOS

Declaração

Monografia de Investigação/Relatório de Atividade Clínica

Declaro que o presente trabalho, no âmbito da Monografia de Investigação/Relatório de atividade clínica, integrado no MIMD, da FMDUP, é da minha autoria e todas as fontes foram devidamente referenciadas.

Porto, 20 de Maio de 2020

Pedro Pinto

Pedro Monteiro Marques Moreira Pinto

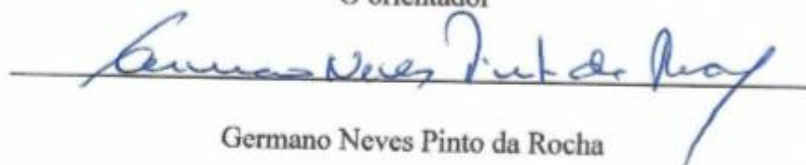
Parecer do Orientador

Monografia de Investigação/Relatório de Atividade Clínica

Informo que o Trabalho de Monografia desenvolvido pelo estudante Pedro Monteiro Marques Moreira Pinto do 5.º ano do Curso Mestrado Integrado em Medicina Dentária da FMDUP, com o título: “*Medicina Regenerativa: Potencial das células-tronco pulpares na regeneração de tecidos*” está de acordo com as regras estipuladas na FMDUP, foi por mim conferido e encontra-se em condições de ser apresentado em provas públicas.

Porto, 20 de Maio de 2020

O orientador



Germano Neves Pinto da Rocha

(Professor Associado da FMDUP)

Parecer da Co-orientadora

Monografia de Investigação/Relatório de Atividade Clínica

Informo que o Trabalho de Monografia desenvolvido pelo estudante Pedro Monteiro Marques Moreira Pinto do 5.º ano do Curso Mestrado Integrado em Medicina Dentária da FMDUP, com o título: “*Medicina Regenerativa: Potencial das células-tronco pulpares na regeneração de tecidos*” está de acordo com as regras estipuladas na FMDUP, foi por mim conferido e encontra-se em condições de ser apresentado em provas públicas.

Porto, 20 de Maio de 2020

A co-orientadora



Emanuela Prado Ferraz

(Professora Doutora da FOU SP)