



CESPU
INSTITUTO UNIVERSITÁRIO
DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Análise da eficácia das Células mesenquimais como adjuvante em xeno enxertos ósseos.

Revisão Integrativa.

Lucas Rubio Quiroga 26839

Dissertação conducente ao Grau de Mestre em Medicina Dentária (Ciclo Integrado)

Gandra, junho de 2023



CESPU
INSTITUTO UNIVERSITÁRIO
DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Lucas Rubio Quiroga

**Dissertação conducente ao Grau de Mestre em Medicina Dentária
(Ciclo Integrado)**

**Análise da eficácia das Células mesenquimais como adjuvante em
xenoenxertos ósseos.**

Revisão Integrativa.

**Trabalho realizado sob a Orientação de Professora Doutora Paula
López Jarana.**



CESPU
INSTITUTO UNIVERSITÁRIO
DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

DECLARAÇÃO DE INTEGRIDADE

Eu, acima identificado, declaro ter atuado com absoluta integridade na elaboração deste trabalho, confirmo que em todo o trabalho conducente à sua elaboração não recorri a qualquer forma de falsificação de resultados ou à prática de plágio (ato pelo qual um indivíduo, mesmo por omissão, assume a autoria do trabalho intelectual pertencente a outrem, na sua totalidade ou em partes dele). Mais declaro que todas as frases que retirei de trabalhos anteriores pertencentes a outros autores foram referenciadas ou redigidas com novas palavras, tendo neste caso colocado a citação da fonte bibliográfica.

Agradecimentos:

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer à minha fantástica família, obrigado por terem feito tudo o que estava ao vosso alcance para me permitir financeira e emocionalmente entrar e continuar a estudar até ao fim.

Agradeço ao Jorge e à Maria por me terem ajudado a encontrar esta bela profissão e por me terem dado a mão durante todo o processo.

Agradeço ao meu irmão Mateo por me ter ajudado e por ser uma pessoa muito honesta que se vai dedicar à especialidade de próteses, tendo um dom para essa área.

Agradeço aos meus avós por me acompanharem e ouvirem sempre que tive um percalço no caminho.

Obrigado aos meus colegas de curso e aos meus amigos espanhóis por me ajudarem quando precisei e ao meu binómio Pedro por me acompanhar em muitas horas de estudo, stress e também em muitos bons momentos.

Obrigado, Charlotte, por me teres ajudado o mais que pudeste e por estares sempre ao meu lado, espero que o teu momento de entregar a dissertação seja o mais breve possível e que sejas finalmente o dentista que mereces ser.

Obrigado a esta universidade e aos seus professores por me terem dado todas as ferramentas possíveis para poder levar a cabo esta carreira e por me terem ajudado sempre que tive algum tipo de inconveniente.

Por último, gostaria de dedicar este final à minha avoa Berta, que, embora saiba que já não está entre nós, tenho a certeza de que, onde quer que esteja, não poderia estar mais orgulhosa por o seu neto ter terminado o mestrado.

Resumo:

Introdução: A engenharia óssea regenerativa é uma técnica utilizada com o fim de restaurar as funções estéticas e funcionais ótimas, principalmente em casos de agressões extensas ao volume ósseo. O sucesso desse procedimento depende da presença de processos osteogênicos e precursores vasculares nos tecidos circundantes, permitindo uma correta osseointegração. Uma terapia alternativa viável para a regeneração óssea é a associação de células estaminais mesenquimais (MSC) com xenoenxertos.

Objetivo: Descrever e avaliar a eficácia da utilização de xenoenxertos com células estaminais mesenquimais como adjuvante nas terapias de engenharia regenerativa óssea guiada.

Metodologia: Realizou-se uma pesquisa bibliográfica na plataforma PubMed mediante um algoritmo de busca "booleano" com as seguintes palavras-chave: periodontal xenograft, stem cell, adult stem cell, guided tissue regeneration, periodontal regeneration, xenograft jaw bone, periodontal xenograft. Critérios de inclusão e exclusão foram definidos.

Resultados: 21 artigos foram selecionados, após a aplicação dos critérios de elegibilidade, 13 estudos foram incluídos.

Conclusões: As células mesenquimais têm potencial promissor para melhorar a eficácia dos xenoenxertos ósseos, demonstrando resultados positivos na regeneração óssea. Estudos clínicos confirmaram sua segurança e apontaram vantagens das células mesenquimais da crista ilíaca em relação a outras fontes. No entanto, são necessárias mais pesquisas para otimizar sua efetividade, considerando fatores como a escolha da fonte celular, métodos de isolamento e administração. Estudos clínicos adicionais são necessários para avaliar sua eficácia e segurança em diferentes contextos clínicos.

Palavras-chave: periodontal xenograft, stem cell, adult stem cell, guided tissue regeneration, Periodontal regeneration, xenograft jaw bone, periodontal xenograft.

Abstract:

Introduction: Regenerative bone engineering is a technique used in order to restore optimal aesthetic and functional functions, especially in cases of extensive aggression to bone volume. The success of this procedure depends on the presence of osteogenic processes and vascular precursors in the surrounding tissues, allowing for correct osseointegration. A viable alternative therapy for bone regeneration is the association of mesenchymal stem cells (MSC) with xenografts.

Objective: To describe and evaluate the efficacy of the use of xenografts with mesenchymal stem cells as an adjuvant in guided bone regenerative engineering therapies.

Methodology: A literature search was performed on the PubMed platform using a "Boolean" search algorithm with the following keywords: periodontal xenograft, stem cell, adult stem cell, guided tissue regeneration, Periodontal regeneration, jawbone xenograft, periodontal xenograft. Inclusion and exclusion criteria were defined.

Results: 21 articles were selected, after applying the eligibility criteria, 13 studies were included.

Conclusions: Mesenchymal cells have a promising potential to improve the efficacy of bone xenografts, showing positive results in bone regeneration. Clinical studies have confirmed their safety and pointed out advantages of iliac crest mesenchymal cells over other sources. However, further research is needed to optimize its effectiveness, considering factors such as the choice of cell source, isolation, and administration methods. Additional clinical studies are needed to evaluate its efficacy and safety in different clinical settings.

Keywords: periodontal xenograft, stem cell, adult stem cell, guided tissue regeneration, Periodontal regeneration, jawbone xenograft, periodontal xenograft.

Índice geral:

1. Introdução.....	1
2. Objetivos	3
3. Materiais e métodos.....	4
4. Resultados.....	7
5. Discussão.....	14
6. Conclusões.....	26
7. Bibliografia.....	28

Índice de Figuras

Figura 1. Fluxograma da pesquisa bibliográfica e dos estudos selecionados. 8

Índice de Tabelas

Tabela 1: Tabela da Estratégia das pesquisas.....4

LISTA DE ABREVIATURAS:

ADSCs- Células estaminais do tecido adiposo.

BBM- mineral ósseo bovino desproteinizado.

β -TCP- fosfato beta-tricálcico.

CPC - fosfato de cálcio.

DPSCs- Células estaminais da polpa dentaria.

DBBM- mineral ósseo bovino desproteinizado.

DPSH- células-tronco derivadas da polpa dental humana.

FDBA- aloenxerto ósseo liofilizado.

MSC- Células estaminais mesenquimais.

MTT- 3 - 2,5-bromuro de Diphenyltetrazolium.

SEM- microscopia eletrônica de varrimento.

1. Introdução:

Após a extração do dente, é desencadeado um processo de reabsorção óssea, que pode contribuir para o desenvolvimento de defeitos verticais e/ou horizontais que impedem uma reabilitação bem-sucedida das funções mastigatórias influenciando a qualidade de vida do paciente. Muitas vezes esta quantidade de osso o deficit é inferior ao necessário, devido à implicação de cáries e doença periodontal, duas das infeções mais prevalentes a nível mundial, mas também pode ser devido a cancro orais, que são o 6º tipo de cancro mais comum. Para além das já mencionadas, encontramos uma preocupação que aborda a medicina dentária regenerativa óssea, a presença de traumatismos produzidos principalmente por acidentes com (veículos motorizados, quedas, agressões, lesões recreativas e desportivas) e defeitos craniofaciais (1,2).

Esta situação clínica complexa requer uma abordagem especial, onde métodos como enxertos autólogos ou aloenxertos, podem ser uma opção de tratamento adequada, mas apresentam uma série de deficiências, nomeadamente a disponibilidade, tempos cirúrgicos mais longos, períodos de recuperação mais longos, que podem exigir hospitalização) e possíveis complicações no local doador, como dor e problemas neuro sensoriais. Estas são questões importantes a considerar quando se opta pela utilização de osso de outra parte do corpo como fonte de enxerto (2,3).

Para ultrapassar estas limitações, são utilizados xeno enxertos, que consistem na utilização de tecidos ou órgãos de uma espécie diferente da do recetor. Estes xeno enxertos podem ser compostos por vários biomateriais, como o fosfato de cálcio (CPC), o fosfato beta-tricálcico (β -TCP) e o mineral ósseo bovino desproteínizado (BBM). Os enxertos xenogénicos podem ser utilizados como substitutos dos enxertos ósseos convencionais, mas têm uma limitação comum: não têm capacidade intrínseca para formar osso, ou seja, não têm capacidade osteogénica por natureza.(4)

Para resolver esta que é a sua maior limitação e para tentar adquirir algum do poder osteogénico que lhes falta, foram realizados diferentes estudos nos últimos 13

anos para avaliar o potencial da combinação de xeno enxertos com o poder regenerativo das células mesenquimais para abordar estes casos.

Nesta revisão sistemática, pretendemos sintetizar estes estudos e chegar a uma conclusão sobre a viabilidade da utilização de MSCs (células estaminais mesenquimais) como adjuvante para melhorar a regeneração óssea guiada por xeno enxertos.

2. Objetivo:

2.1 Objetivo principal:

Descrever e avaliar a eficácia da utilização de xeno enxertos de células estaminais mesenquimais como adjuvante em terapias de engenharia regenerativa óssea guiada.

2.2 Objetivos secundários:

Compreender as vantagens, desvantagens e segurança dos tipos de células e técnicas abordadas.

2.3 Hipótese:

As células mesenquimais como adjuvante podem aumentar a eficácia dos xeno enxertos na regeneração óssea guiada.

2.4 Hipótese nula:

A célula mesenquimal não tem o poder de potencializar a eficácia em xeno enxertos na regeneração óssea guiada.

3. Materiais e Métodos:

3.1 Protocolo desenvolvido e critérios de elegibilidade

Foi desenvolvido um protocolo de acordo com a declaração PRISMA para o nosso estudo de tipo Revisão Integrativa.

3.2 Questão PICO:

A questão principal foi desenvolvida de acordo com o desenho do estudo, população, intervenção, comparação e resultado (PICO).

"Sobre a regeneração guiada de tecido ósseo através de xeno enxertos. É a utilização de células estaminais mesenquimais como adjuvante um método superior, em termos de melhoria dos parâmetros clínicos, potencial regenerativo ou resolução desta condição?"

3.3 Foco da Questão PICO

Os critérios aplicados à pergunta PICO são:

- **População:** Pacientes diagnosticados com deficiências ósseas que precisam ser reabilitados estrutural e funcionalmente.
- **Intervenção:** Utilização da engenharia regenerativa óssea através da combinação de células mesenquimais e enxertos ósseos artificiais (xeno enxertos) para aumento de disponibilidade óssea.
- **Comparação:** Técnica de engenharia regenerativa óssea com xeno enxertos com ou sem células mesenquimais.
- **Outcome:** Restauração da qualidade e da quantidade de material ósseo adequada para a reabilitação estrutural e funcional.

3.4 Estratégia de Pesquisa

Realizou-se uma pesquisa bibliográfica nas plataformas PubMed e Scielo com as seguintes palavras-chave: periodontal xenograft ,stem cell, adult stem cell, guided tissue regeneration, periodontal regeneration, xenograft jaw bone, periodontal xenograft. A busca na base de dados foi realizada entre 21 de Março de 2023 e 3 de Junho de 2023.

3.5 Termos de Pesquisa

O algoritmo de busca “booleano” usado para encontrar literatura potencialmente relevante para o nosso estudo foi o seguinte:

Tabela 1 - Estratégia das pesquisas

Termos de pesquisa	Pubmed	Scielo
(xenograft jaw bone) AND (stem cells),	19 resultados	4 resultados
(periodontal xenograft) AND (stem cells)	33 resultados	2 resultados
(Xenograft[MeSH Terms]) AND (stem cells MeSH Terms])	24 resultados	5 resultados
(adult stem cells[MeSH Terms]) AND (guided tissue)	18 resultados	3 resultados
(adultstemcells[MeSH Terms]) AND(Periodontalregeneration[MeSH Terms])	15resultados	1 resultado

3.6. Critérios de Inclusão

- Estudos publicados em Inglês, Português ou Espanhol.
- Estudos de Ensaio Clínico e/ou Pré-clínico Randomizados.
- Relatos de casos de tratamentos cirúrgicos associados às terapias de regeneração guiadas por xeno enxertos e células mesenquimais em estudo.
- Estudos de efetividade in-vitro das células mesenquimais.

3.7. Critérios de Exclusão

- Estudos que não centram os seus focos na regeneração óssea por medio de xeno enxertos e células mesenquimais.
- Estudos com limite de publicação em 2010.
- Estudos de revisões sistemáticas sem fundamentação teórica relevante para a discussão do tema.

3.8. Extração de dados e método de análise

As informações foram extraídas da seguinte forma:

- Autor e ano da publicação
- Desenho do estudo
- Objetivo do estudo
- Número de pacientes e xeno enxertos do estudo
- Técnica/Terapia de regeneração óssea estudada
- Parâmetros avaliados
- Resultados do estudo
- Conclusões do estudo

4.Resultados:

4.1 Caracterização da pesquisa

A pesquisa inicial resultou num total de 124 estudos, da PubMed e Scielo (via National Library of Medicine). Destes, 49 artigos ficaram após a remoção por estar duplicados. Dos 49, 28 foram rejeitados por não obedecerem aos critérios de elegibilidade. Dos 21 restantes, selecionados pelo Título e Abstract, foram excluídos 4 estudos após a leitura integral e 3 por não ser encontrados na íntegra. Assim, o resultado final foram 13 estudos, de acordo com o fluxograma na figura 1.

A pesquisa bibliográfica identificou um total de 124 artigos nas bases de dados do Pubmed e Scielo. Inicialmente, realizou-se uma triagem dos títulos para excluir aqueles que não estavam relacionados ao tema, resultando em 124 artigos para análise. Em seguida, utilizou-se a ferramenta Zotero para remover os artigos duplicados, eliminando 49 artigos nesse processo. Após analisar os títulos e resumos dos artigos restantes, 28 foram excluídos por não atenderem aos critérios de inclusão. Dos 21 estudos considerados potencialmente relevantes com base nos títulos e resumos, 4 foram excluídos após a leitura completa e 3 não puderam ser encontrados na íntegra. Portanto, o resultado final consistiu em 13 estudos. Em relação ao período de publicação, os anos de 2016, 2017, 2018 e 2020 apresentaram o maior número de artigos sobre o tema (2 em cada ano), enquanto os anos de 2010, 2012, 2013, 2014, 2015, 2021 e 2022 cada um tiveram 1 artigo.

Quanto ao tipo de estudos dos 13 artigos incluídos:

- Um ensaio clínico controlado e randomizado: 7
- Relatório de um caso: 3
- Um modelo experimental avaliação clínica, radiológica e histológica: 2
- Investigação in vitro: 1

Diagrama de Fluxo:

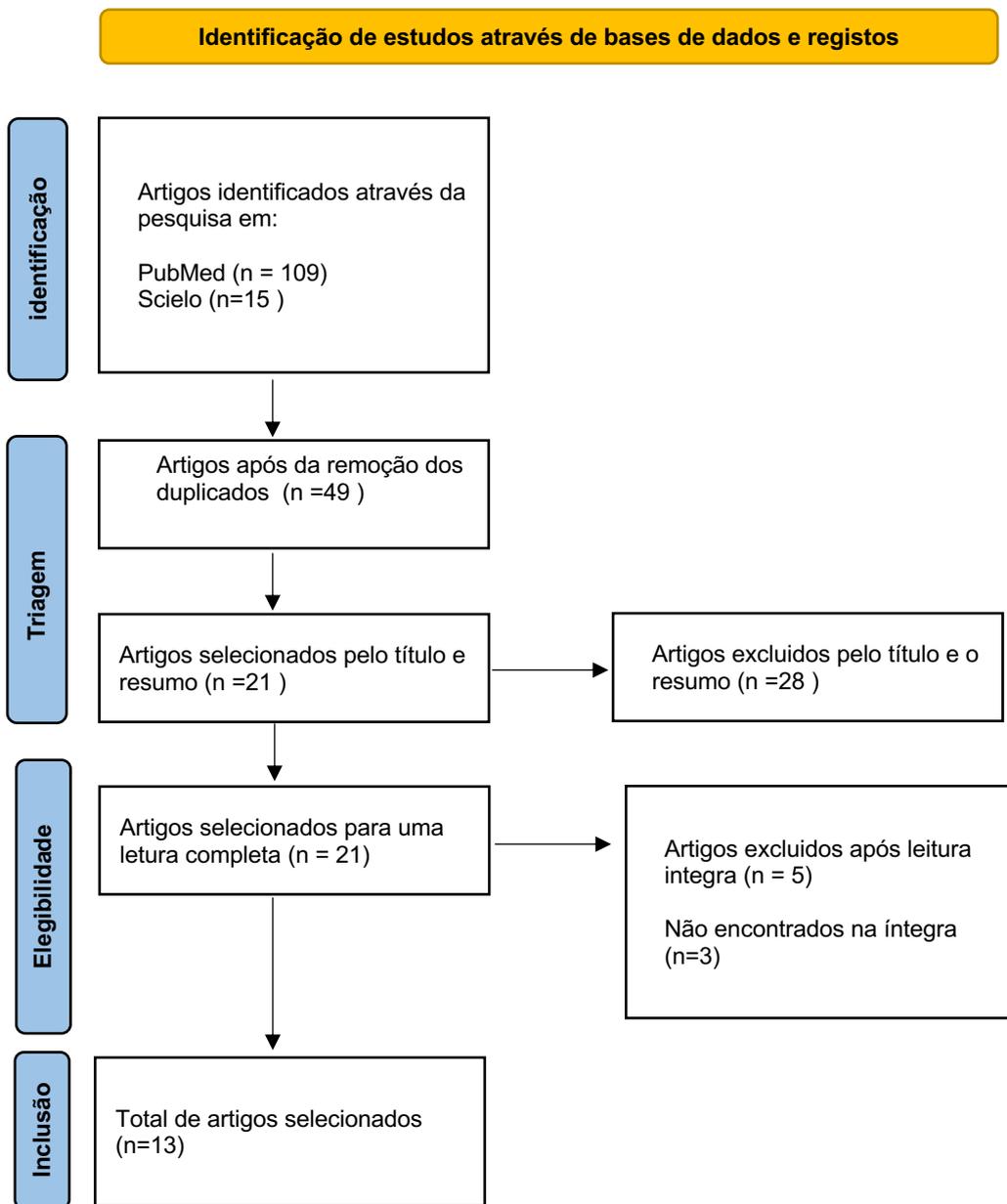


Figura 1. Fluxograma da pesquisa bibliográfica e dos estudos seleccionados.

Tabela 2 - Resumo dos estudos.

TÍTULO, AUTOR, ANO	TIPO DE ESTUDO	OBJETIVO	MATERIAIS E MÉTODOS	RESULTADOS	CONCLUSÃO
<p>Mesenchymal stem cells and inorganic bovine bone mineral in sinus augmentation: comparison with augmentation by autologous bone in adult sheep. Gutwald et al 2010.</p>	<p>Ensaio clínico controlado e randomizado.</p>	<p>Comparar o potencial osteogénico das células mononucleares recolhidas da crista ilíaca em combinação com o mineral ósseo bovino (BBM) (grupo experimental) apenas com o de osso esponjoso autógeno (grupo de controlo).</p>	<p>Estudo realizado em 6 ovelhas para avaliar o uso de células-tronco mesenquimais (MSCs) e material ósseo para aumento do seio maxilar. Foi feita uma cirurgia em que MSCs e xenoenerto foram usados em um seio, enquanto o outro seio foi usado apenas com xenoenxerto.</p> <p>Avaliações histológicas, histomorfométricas e de imagem foram realizadas para avaliar o volume de aumento.</p>	<p>Media de células mononucleares 40 millones.</p> <p>Volumen renderizado: 8 semanas 3,3cm³ test vs 2,8 no controlo. 16 semanas 2,7 cm³ test e 2,5 cm³ no controlo.</p> <p>Histología: As 8 e as 16 semanas existía uma formação óssea uniforme, maduro e compacto com osteonas sem espaços entre partículas no test vs extensa remodelação com osteoclastos e tecido conectivo.</p> <p>Histomofométrico: o lado experimental teve um aumento de novo osso vs lado controlo onde diminui.</p>	<p>Os resultados mostram que mononucleares células, incluindo células-tronco mesenquimais, em combinação com BBM como biomaterial, têm o potencial de formar osso.</p>

TÍTULO, AUTOR, ANO	TIPO DE ESTUDO	OBJETIVO	MATERIAIS E MÉTODOS	RESULTADOS	CONCLUSÃO
<p>Mandibular Reconstruction with Tissue Engineering in Multiple Recurrent Ameloblastoma</p> <p>Hernández-Alfaro et al 2012.</p>	Relatório de um caso.	O objetivo deste artigo é relatar um caso de ameloblastoma recorrente em que a reconstrução mandibular foi alcançada com blocos de hidroxiapatite bovina e BMP-7 em combinação com concentrado de aspirado de medula óssea	<p>Um procedimento em que o aspirado de medula óssea da crista ilíaca é concentrado e combinado com uma malha de titânio dobrada pré - operativamente para reconstruir com precisão o ângulo mandibular.</p> <p>A malha é preenchida com material xenogênico misturado com proteína morfogenética óssea recombinante e células estaminais.</p>	<p>A análise microscópica revelou uma nova formação óssea em torno das partículas de material do xenoenxerto.</p> <p>A recuperação pós-operatória foi sem incidentes e completamente exitosa.</p>	Tecnologia de engenharia de tecidos pode ser uma alternativa válida às técnicas convencionais de reconstrução mandibular, diminuindo a morbidade do paciente e o tempo cirúrgico, aumentando assim a aceitação do procedimento pelo paciente.

TÍTULO, AUTOR, ANO	TIPO DE ESTUDO	OBJETIVO	MATERIAIS E MÉTODOS	RESULTADOS	CONCLUSÃO
<p>Stem cell therapy for craniofacial bone regeneration: a randomized, controlled feasibility trial</p> <p>Kaigler et al 2013.</p>	Um ensaio clínico controlado e randomizado.	Uma abordagem de terapia celular utilizando terapia celular regenerativa seria segura e eficaz na regeneração de defeitos ósseos craniofaciais localizados.	Na sequência da aprovação do U.S. Food and Drug Administration e da University of Michigan Institutional Review Board (IRB), foram recrutados 24 pacientes que necessitavam de uma extração dentária para participar nesta fase I/II.	<p>Às 6 semanas, houve maior altura óssea radiográfica no grupo TRC do que no grupo GBR, ($p=0,01$).</p> <p>Com 12 semanas, o grupo GBR apresentou $74,6\pm 3,3\%$ de preenchimento ósseo, enquanto os grupos TRC apresentaram $80,1\pm 2,0\%$ de preenchimento ósseo, $p = 0,28$</p> <p>Estes dados demonstraram que houve uma correlação positiva entre AP e BVF ($r = 0,56$, $p = 0,058$) e uma correlação positiva estatisticamente significativa entre AP e BMD ($r = 0,58$; $p = 0,049$).</p>	<p>O estudo demonstra a capacidade da terapia celular regenerativa de aumentar volume óssea de forma eficiente.</p> <p>Estudos adicionais teria de ser realizado para determinar o mecanismo desta resposta regenerativa acelerada.</p>

TÍTULO, AUTOR, ANO	TIPO DE ESTUDO	OBJETIVO	MATERIAIS E MÉTODOS	RESULTADOS	CONCLUSÃO
<p>Bone engineering of maxillary sinus bone deficiencies using enriched CD90+ stem cell therapy.</p> <p>Kaigler et al 2015.</p>	Um ensaio clínico controlado e randomizado.	Objetivo é avaliar a qualidade reconstrução do osso em deficiências do seio maxilar com transplante de células autólogas enriquecidas com CD90+ células estaminais e monócitos CD14+	<p>30 participantes humanos que necessitam de aumento ósseo do maxilar foram inscritos.</p> <p>Os doentes que apresentavam 50-80% de deficiências ósseas do seio maxilar foi aleatorizado para receber as células estaminais entregues em β-tricalcium andaime de fosfato, ou andaime sozinho.</p> <p>Quatro meses após tratamento, clínico, radiográfico, e análises histológicas foram realizadas para avaliar o osso da nova engenharia.</p>	<p>Nos pacientes com deficiências ósseas mais graves (>50% de perda óssea), a qualidade do osso regenerado melhorou significativamente com a terapia com células-estaminais.</p> <p>As biópsias ósseas dos pacientes tratados com células-tronco apresentaram uma BVF significativamente maior do que as do grupo de controle (0,5 vs. 0,4, respetivamente; $p = 0,04$)</p> <p>Em geral, não houve diferença na média das alterações da altura óssea radiográfica linear média entre os grupos de tratamento e controlo.</p>	Estes resultados fornecem provas de que a terapia baseada em células utilizando o talo CD90+ enriquecido as populações celulares são seguras para a reconstrução do piso do seio maxilar e oferece potencial para acelerar e melhorar a qualidade óssea tecidual em outros defeitos e deficiências ósseas craniofaciais.

TÍTULO, AUTOR, ANO	TIPO DE ESTUDO	OBJETIVO	MATERIAIS E MÉTODOS	RESULTADOS	CONCLUSÃO
<p>Comparative Study Between Mesenchymal Stem Cells Derived from Bone Marrow and from Adipose Tissue, Associated with Xenograft, in Appositional Reconstructions.</p> <p>Coelho de Faria et al 2016.</p>	Ensaio clínico em animais	Investigar a aplicação das células (MSC) em conjunto com xenoenxertos ósseos para avaliar parâmetros como osso recém-formado e nível de osseointegração num ensaio clínico em animais.	<p>O estudo envolveu a criação de situações de reconstrução óssea em coelhos, divididos em três grupos. Após 56 dias, os ossos foram analisados para avaliar parâmetros como osso recém-formado e nível de osseointegração.</p> <p>Foram utilizados diferentes tipos de enxertos em cada grupo.</p>	<p>O titânio teve um contacto ósseo vital significativo nos grupos CG, G1 e G2, com percentagens de $4,98\% \pm 4,30\%$, $34,91\% \pm 7,82\%$ e $20,87\% \pm 5,43\%$, comparou um modelo semelhante com um xenoenxerto combinado com fracção de células mononucleares da medula óssea, e relatou uma quantidade ligeiramente superior de contacto ósseo vital de titânio ($27,29\% \pm 9,58\%$).</p>	<p>Foi observado que o uso de células estaminais mesenquimais derivadas da medula óssea apresentou o mais alto nível de osseointegração em comparação com as células estaminais mesenquimais derivadas do tecido adiposo e com o xenograft isolado.</p>

TÍTULO, AUTOR, ANO	TIPO DE ESTUDO	OBJETIVO	MATERIAIS E MÉTODOS	RESULTADOS	CONCLUSÃO
<p>Response of Dental Pulp Stem Cells to Synthetic, Allograft, and Xenograft Bone Scaffolds.</p> <p>Motamedian et al 2017.</p>	investigação in vitro	O objetivo do presente estudo foi avaliar a fixação, o crescimento e a diferenciação de células estaminais da polpa dentária (DPSCs) em três tipos de suporte ósseo comumente utilizados in vitro.	<p>Neste estudo, foram analisados três tipos de substitutos de enxertos ósseos que estão disponíveis no mercado: β-TCP, FDBA e DBBM.</p> <p>Esses suportes são granulados, variando de 0,5 a 2 mm, e foram dispostos em uma única camada em placas de 24 poços.</p> <p>Em todas as análises realizadas, os grânulos foram removidos das placas e enxaguados antes da avaliação. Consequentemente, foram examinadas apenas as células que estavam aderidas aos materiais.</p>	<p>A análise SEM: as culturas celulares, o β-TCP permitiu boa fixação das células, o FDBA formou aglomerados de células e fibras de colágeno, enquanto o DBBM apresentou poucas células aderidas à matriz.</p> <p>MTT: adesão celular foi maior em β-TCP do que em outros substitutos ósseos, especialmente em meio osteogénico. Não houve diferenças significativas na adesão das células às estruturas de FDBA e DBBM.</p> <p>O ensaio de DNA: mostrou que houve proliferação celular em todos os substitutos ósseos O β-TCP teve mais DPSCs aderidas e proliferando em comparação com FDBA e DBBM.</p>	Os resultados mostraram que β -TCP poderia ter mais potencial para células estaminais baseadas engenharia óssea, fornecendo a maior aderência e proliferação de DPSC, bem como capacidade adequada para diferenciação osteoblástica.

TÍTULO, AUTOR, ANO	TIPO DE ESTUDO	OBJETIVO	MATERIAIS E MÉTODOS	RESULTADOS	CONCLUSÃO
<p>Stem cell therapy for reconstruction of alveolar cleft and trauma defects in adults.</p> <p>Bajestan et al 2017.</p>	<p>Um ensaio clínico controlado e randomizado.</p>	<p>O objetivo é examinar a segurança e eficácia de uma terapia celular autóloga , utilizando uma população mista de células progenitoras autólogas expandidas e células estaminais para regenerar o osso alveolar em pacientes com defeitos alveolares resultantes de fendas palatinas ou traumas.</p>	<p>Este estudo envolveu 18 pacientes com falta de dentes e deficiências ósseas alveolares horizontais, sendo 10 pacientes com lesão traumática e 8 pacientes com fissura palatina.</p> <p>Os pacientes foram divididos aleatoriamente em dois grupos: um grupo recebeu enxertos convencionais de blocos autógenos e o outro grupo recebeu terapia com células estaminais.</p>	<p>O estudo relatou que o ganho médio na largura óssea foi maior no grupo de controlo do que no grupo de terapia com células estaminais, com 3,3 6 1,4 mm e 1,5 6 1,5 mm, respetivamente.</p> <p>Dos 10 pacientes do grupo de terapia com células estaminais, apenas 5 receberam implantes com sucesso, enquanto todos os 8 pacientes do grupo de controlo receberam implantes com sucesso.</p>	<p>A capacidade das células estaminais para tratar grandes defeitos alveolares é segura, no entanto, a sua capacidade de reconstituir completamente grandes defeitos alveolares é limitada.</p>

TÍTULO, AUTOR, ANO	TIPO DE ESTUDO	OBJETIVO	MATERIAIS E MÉTODOS	RESULTADOS	CONCLUSÃO
<p>Tissue Engineering Therapy for Atrophic Maxilla Using Minimally Manipulated CD90 and CD105 Bone Marrow Stem Cells: A Case Report.</p> <p>Valdivia et al 2017.</p>	Relatório de um caso.	<p>Este estudo de caso visou testar um novo tratamento de terapia celular para reparar defeitos ósseos no maxilar, utilizando células derivadas da medula óssea e blocos de xenoenxerto.</p> <p>O objetivo foi demonstrar a segurança e eficácia dessa abordagem para regeneração de defeitos ósseos craniofaciais localizados.</p>	<p>Um homem de 50 anos com defeitos alveolares nas mandíbulas foi submetido a regeneração óssea guiada usando blocos de xenoenxerto com células estaminais de um lado e bloco ósseo xenoenxerto sem células estaminais do outro lado.</p> <p>A terapia foi selecionada após estudo do paciente por CBCT.</p>	<p>O estudo realizou uma análise de CBCT sete meses após a primeira fase cirúrgica, onde foi realizada uma incisão cristal e exposta a maxila do paciente.</p> <p>Foi observado que o enxerto de células-tronco apresentou uma superfície mais compacta e uniforme, enquanto o outro enxerto apresentou uma superfície menos uniforme e resíduos do veículo utilizado.</p> <p>Os resultados mostraram uma maior percentagem de novo osso no grupo de terapia com células-tronco em comparação com o grupo controle.</p>	<p>A utilização de células estaminais pode representar uma alternativa que melhoraria resultados de melhoramento e permitir uma melhor qualidade e quantidade de tecido na regeneração óssea.</p> <p>Os resultados da análise histomorfométrica demonstraram uma maior presença de osteócitos e formação óssea; no entanto, a análise ainda é necessária para estabelecer se a propriedade do veículo utilizado favoreceu os resultados.</p>

TÍTULO, AUTOR, ANO	TIPO DE ESTUDO	OBJETIVO	MATERIAIS E MÉTODOS	RESULTADOS	CONCLUSÃO
Human intrabony defect regeneration with micrografts containing dental pulp stem cells. Ferrarotti et al 2018.	Um ensaio clínico controlado e randomizado.	O objetivo deste estudo era avaliar se as células estaminais de polpa dentária (DPSCs) eram entregues em defeitos intra-ósseos num andaime de colagénio melhorariam a clínica e radiográfica e parâmetros de regeneração periodontal.	Este estudo envolveu 29 pacientes com periodontite crónica que precisavam de extrair um dente vital com um defeito intra-ósseo profundo. Os defeitos foram atribuídos aleatoriamente a tratamentos de teste ou controlo, que envolviam uma técnica cirúrgica minimamente invasiva. Os locais de teste foram preenchidos com microexertos ricos em DPSCs autólogas, enquanto os locais de controlo receberam apenas esponja de colagénio. Os parâmetros clínicos e radiográficos foram registados na linha de base, 6 e 12 meses de pós-operatório.	Os locais de teste exibiram significativamente mais redução de DP (4,9 mm versus 3,4 mm), CAL ganho (4,5 versus 2,9 mm) e preenchimento de defeitos ósseos (3,9 versus 1,6 mm) do que os controlos. Além disso, a PD residual < 5 mm (93% versus 50%) e o ganho CAL ≥ 4 mm (73% versus 29%) foi significativamente mais frequente no grupo de teste.	Aplicação de DPSCs melhorou significativamente os parâmetros clínicos do periodontal e a regeneração um ano após o tratamento.

TÍTULO, AUTOR, ANO	TIPO DE ESTUDO	OBJETIVO	MATERIAIS E MÉTODOS	RESULTADOS	CONCLUSÃO
<p>Retrieval of a periodontally compromised tooth by allogeneic grafting of mesenchymal stem cells from dental pulp.</p> <p>Hernández-Monjaraz et al 2018.</p>	Relatório de um caso.	Reportar um caso de sucesso na realização de enxerto de células estaminais mesenquimais da polpa dentária (DPSCs) em um paciente com doença periodontal, como achado preliminar em um ensaio clínico.	<p>Células estaminais mesenquimais a partir da polpa dentária de um dente decíduo de 7 anos doador foram separados da câmara de pasta e processados através de digestão enzimática e centrifugação.</p> <p>Depois de atingir 80% de confluência, 5 x 10⁶ DPSC alogênicos em 250 ml de solução tampão fosfato salina foram semeados num andaime seco de liofilizado esponja de colagénio-polivinilpirrolidona colocada na área do pré-molar inferior esquerdo de uma criança de 61 anos doente com doença periodontal</p>	<p>A tomografia volumétrica de feixe cônico mostrou uma redução da área danificada de 18,30 mm² para 5,73 e 4,58 mm² aos 3 e 6 meses, respetivamente, após o enxerto de DPSC.</p> <p>Os ensaios de densitometria mostraram um aumento na densidade mineral óssea nas paredes do defeito aos 3 e 6 meses após o tratamento, sugerindo regeneração do tecido ósseo.</p>	A terapia periodontal regenerativa usando DPSCs pode ser um tratamento promissor para defeitos ósseos induzidos por doenças periodontais.

TÍTULO, AUTOR, ANO	TIPO DE ESTUDO	OBJETIVO	MATERIAIS E MÉTODOS	RESULTADOS	CONCLUSÃO
<p>Critical-sized mandibular defect reconstruction using human dental pulp stem cells in a xenograft model-clinical, radiological, and histological evaluation.</p> <p>Gutiérrez-Quintero et al 2020.</p>	<p>Um modelo experimental - avaliação clínica, radiológica e histológica.</p>	<p>Avaliar a regeneração óssea clínica, histológica e radiológica num defeito ósseo bilateral corticomedular de tamanho crítico em coelhos modelo da Nova Zelândia. Após receber uma matriz de hidroxiapatite e poliglicólico poliláctico ácido (HA/PLGA) implantado com células estaminais de polpa dentária humana (DPSCs).</p>	<p>Oito coelhos neozelandeses com defeitos bilaterais de tamanho crítico mandibular foram executados onde um dos lados foi tratado com uma matriz HA/PLGA/DPSC e o outro lado apenas com uma matriz HA/PLGA durante 4 semanas.</p>	<p>Foi clinicamente observada uma osteointegração, bem como uma redução de 70% do lúmen cirúrgico num dos lados e uma redução de 35% em a outra.</p> <p>Histologicamente, houve formação neo-óssea no andaime HA/PLGA/DPSC e angiogênese.</p> <p>Uma radiodensidade óssea (RD) de 80% foi radiologicamente observado atingindo níveis de densidade semelhantes ao osso mandibular, enquanto o tratamento com HA/A matriz PLGA atinge níveis de RD de 40% nos seus picos mais altos</p>	<p>O andaime HA/PLGA/DPSC era um método in vivo eficaz para a regeneração óssea mandibular em tamanho crítico defeitos induzidos em modelos de coelhos.</p>

TÍTULO, AUTOR, ANO	TIPO DE ESTUDO	OBJETIVO	MATERIAIS E MÉTODOS	RESULTADOS	CONCLUSÃO
<p>Periodontal Regeneration using a Xenogeneic Bone Substitute seeded with Autologous Periodontal Ligament derived Mesenchymal Stem Cells.</p> <p>Sánchez et al 2020.</p>	Um ensaio clínico controlado e randomizado.	Este estudo buscou avaliar a segurança e eficácia do uso de células estaminais mesenquimais do ligamento periodontal autólogo (PDL-MSCs) incorporadas em um substituto ósseo exógeno (XBS) para o tratamento regenerativo de defeitos periodontais intraósseos.	<p>Este estudo clínico incluiu pacientes que necessitavam de extração dentária e apresentavam lesões intraósseas de 1-2 paredes.</p> <p>Os pacientes foram divididos em dois grupos, um experimental (XBS + 10x10⁶ PDL-MSCs/100mg) e um grupo de controle (XBS). Os parâmetros clínicos e radiográficos foram avaliados ao longo de 6, 9 e 12 meses, e a presença de eventos adversos também foi avaliada.</p>	O estudo envolveu 20 pacientes e não houve efeitos adversos graves. O grupo experimental mostrou uma melhoria maior no nível de fixação clínica e na profundidade da bolsa periodontal do que o grupo controle, mas sem diferenças estatisticamente significativas.	A aplicação de PDL-MSCs à XBS para o tratamento de defeitos intraósseos de duas paredes era segura e resultava em baixa morbidade pós-operatória, cicatrização adequada, embora ao seu benefício adicional, quando comparado apenas com o XBS, não foi demonstrado.

TÍTULO, AUTOR, ANO	TIPO DE ESTUDO	OBJETIVO	MATERIAIS E MÉTODOS	RESULTADOS	CONCLUSÃO
<p>Bovine-Derived Xenografts Immobilized with Cryopreserved Stem Cells From Human Adipose and Dental Pulp Tissues Promote Bone Regeneration.</p> <p>Zhu et al 2021.</p>	<p>Estudo radiográfico e Histológico.</p>	<p>O objetivo deste estudo foi avaliar o potencial de regeneração óssea das células-tronco derivadas do tecido adiposo (ADSCs) e das células-tronco da polpa dental (DPSCs) crio preservadas em combinação com enxertos xenógenos derivados de bovinos e colagénio porcino a 10%.</p>	<p>Um modelo de defeito craniano de tamanho crítico foi utilizado em ratos para avaliar o potencial de regeneração óssea das células crio preservadas.</p> <p>Os animais foram divididos em quatro grupos: grupo controle, grupo tratado com enxerto xenógeno apenas, grupo tratado com enxerto e DPSCs crio preservadas e grupo tratado com enxerto e ADSCs crio preservadas.</p>	<p>Os resultados mostraram que ambas as células apresentaram alta viabilidade antes e depois da criopreservação, com percentagens de células viáveis acima de 90%. A criopreservação não afetou a morfologia ou a expressão de marcadores de superfície associados às células-tronco mesenquimais.</p> <p>A análise quantitativa da formação de osso novo por medição histológica mostrou que o grupo semeado com ADSCs atingiu uma maior formação de osso novo em comparação com o grupo semeado com DPSCs.</p>	<p>Com base nesses resultados, o estudo sugere o enxerto de tecidos semeados com ADSCs crio preservadas como uma estratégia útil para acelerar os processos de cicatrização óssea.</p>

5. Discussão:

5.1. Contextualização do tema:

Para combater danos extensos no volume ósseo que podem prejudicar a capacidade de reabilitação oral, as cirurgias regenerativas de enxerto ósseo são utilizadas principalmente para restaurar a função estética e funcional ideal (2). Este método de reconstrução óssea é crucial para melhorar a quantidade e qualidade do suporte estrutural, mas independentemente dos defeitos ósseos, o sucesso da regeneração depende de fatores como os processos osteogênicos e precursores vasculares nos tecidos circundantes que permitem um correto processo de regeneração óssea e viabilidade do tratamento (5). A associação de células com elevado potencial de diferenciação: células estaminais mesenquimais (CEM) e xeno enxertos tem sido considerada como uma alternativa terapêutica viável para este tipo de procedimentos de regeneração óssea (4).

5.2 Células estaminais mesenquimais (MSC).

As células estaminais são células não especializadas com a capacidade de se diferenciarem e autorrenovarem, sob estímulos externos ou internos específicos, em células de outra linhagem que podem ser encontradas em partes do corpo como o tecido adiposo, células hematopoiéticas ou osteoblastos do osso maxilar (6).

As células estaminais com estas capacidades também podem ser designadas pluripotentes (MSC), mas têm de cumprir uma série de requisitos essenciais: têm de aderir ao meio de cultura em condições de cultura normais e expressar determinadas proteínas de superfície, como CD105, CD73 e CD90, e não expressar outras, como CD45, CD34, CD14, CD11b, CD79, CD19 e HLA-DR. Estes critérios são utilizados para identificar e caracterizar as MSC em estudos científicos e aplicações terapêuticas (7).

Para além da sua caracterização com base em marcadores de superfície e na sua capacidade de diferenciação, as MSCs podem também ser classificadas de acordo com a sua natureza, como adultas ou embrionárias. As MSC embrionárias são originárias de embriões em fases iniciais de desenvolvimento e têm um potencial muito maior para se diferenciarem em várias linhagens celulares diferentes. No entanto, a obtenção de MSCs embrionárias é um processo

controverso, uma vez que envolve a destruição do embrião, o que levanta preocupações éticas (8).

Em geral, as MSC adultas são mais utilizadas na investigação e na terapia devido à uma relativa facilidade de obtenção. As MSC adultas encontram-se em tecidos adultos do corpo, como a medula óssea, o tecido adiposo, o tecido conjuntivo e outros. Estas células têm um potencial de diferenciação limitado em comparação com as MSC embrionárias. Nos estudos investigados, encontrámos quatro locais principais a partir dos quais são obtidas as MSC a utilizar para a regeneração óssea guiada: medula óssea da crista ilíaca, tecido adiposo, ligamento periodontal e células da polpa dentária. Embora seja possível obter MSCs a partir de uma variedade de tecidos humanos, ainda não foi estabelecido que as MSCs podem ser utilizadas para a regeneração óssea guiada (4).

5.2.1 CMM de la médula de la cresta ilíaca.

A crista ilíaca é uma fonte valiosa de MSCs que pode ser facilmente acedida através de uma pequena cirurgia invasiva denominada biópsia da crista ilíaca, que é considerada a melhor e mais segura técnica para obter estas valiosas células. A biópsia é um procedimento seguro e eficaz para a obtenção de MSCs para utilização em terapias regenerativas e estudos clínicos (3,5,9).

5.2.2 MSCs do tecido adiposo.

As MSC do tecido adiposo podem ser obtidas de forma fácil e segura através da lipectomia, um procedimento minimamente invasivo e seguro que remove a gordura do corpo. Esta fonte de células é facilmente acessível e relativamente abundante. As MSC do tecido adiposo têm uma elevada capacidade de proliferação e expansão em cultura, o que significa que podem ser facilmente cultivadas em grandes quantidades. O cultivo celular até à potência adipogénica é alcançada em 15 dias, ao passo que as MSC osteogénicas e condrogénicas requerem 21 dias de cultivo (4).

Os resultados deste estudo mostraram que o titânio teve um contacto ósseo vital significativo nos grupos GC, G1 e G2, com percentagens de $4,98\% \pm 4,30\%$, $34,91\% \pm 7,82\%$ e $20,87\% \pm 5,43\%$, respetivamente. Estes valores foram comparados com os resultados de um estudo anterior (10), que utilizou um modelo semelhante com um xeno enxerto combinado com uma fração de células mononucleares da medula óssea, e relatou uma

quantidade ligeiramente superior de contacto vital com o osso de titânio (27,29% ± 9,58%). Este resultado sugere que as células da medula óssea derivadas da crista ilíaca têm uma maior afinidade para a diferenciação osteogénica em comparação com os outros grupos (4).

5.2.3 MSCs da polpa e tecido dentários

As células estaminais da polpa dentária, ou DPSCs, são células que podem ser obtidas a partir de dentes extraídos ou descartados. Estas células mostram ser facilmente acessíveis, não invasivas e acompanhadas de uma forte capacidade de diferenciação e renovação (6,11). Tradicionalmente, a medula óssea tem sido a principal fonte de células estaminais, mais a colheita de células mesenquimais da medula óssea pode ser difícil e dolorosa para o doador (4). As DPSCs representam uma fonte alternativa ideal de células estaminais, por a sua acessibilidade e por poderem ser recolhidas utilizando um protocolo não invasivo e ser rapidamente expandidas *in vitro* (6). Recentes estudos em animais sugeriram que a aplicação de células estaminais da polpa dentaria poderiam promover o crescimento de tecidos dentários humanos *in vivo*. Tras ser transplantadas em exemplares de ratinhos imunodeficientes, as DPSCs isoladas de dentes humanos diferenciam-se em células com características de cementoblastos e podem formar estruturas complexas, como ligamento e tecido periodontal, polpa dental tecidos dentinarios e estruturas radiculares. No entanto, a capacidade de diferenciação e regeneração pode ser reduzida em células obtidas de doadores mais velhos, provavelmente devido ao envelhecimento celular. Portanto, é importante ter uma manipulação mínima dessas células em cultura para aumentar a possibilidade de regeneração dos tecidos (6). Os resultados iniciais indicam que as células-tronco da polpa dental têm o potencial de ser uma opção promissora para ajudar na regeneração do osso e dos tecidos que suportam os dentes (12). Ainda assim num recente estudo de Zhu et al., os parâmetros dos resultados demonstravam uma importante vantagem de regeneração óssea e mineralização com células ADSCs (Células estaminais do tecido adiposo) em comparação com as de tecido da polpa dental, mais precisamos de próximos estudos para confirmar esta afirmação (13).

5.3 Xeno enxertos ósseos.

Os xeno enxertos são materiais artificiais utilizados principalmente para colmatar a falta de qualidade e quantidade óssea e nas áreas de mais difícil acesso, especialmente em casos de perda óssea vertical que representam um grande desafio para

o dentista.(4) Estas estruturas proporcionam um ambiente tridimensional de apoio para a regeneração de tecidos, definindo sua forma. Eles devem apresentar características importantes, como uma estrutura porosa altamente interconectada que permita a penetração celular, além de transporte de nutrientes e resíduos. É fundamental que sejam biocompatíveis e biodegradáveis, possuam propriedades mecânicas adequadas para atender a aplicações específicas e tenham modificações de superfície apropriadas para suportar a adesão e o crescimento celular (9). Classicamente, utilizamos aloenxertos (enxertos de indivíduos da mesma espécie que não são geneticamente iguais) que cumprem o padrão de ouro na regeneração óssea. No entanto, coletar osso de outro local do corpo do doador pode apresentar diversas desvantagens, tais como um tempo cirúrgico mais longo, um período prolongado de recuperação, podendo ser hospitalária, e complicações no local doador, como dor e problemas neuro sensoriais (2,3).

Para intentar ultrapassar estas limitações utilizamos os xeno enxertos nos que vários biomateriais, como cimento de fosfato de cálcio (CPC), fosfato beta-tricálcico (β -TCP) e mineral ósseo bovino desproteínizado (BBM/), são utilizados para reconstruir defeitos ósseos, mas como todos os materiais também apresentam a suas vantagens e inconveniências que nos sugerem qual devemos utilizar no caso adequado (13,14).

O β -TCP é de rápida degradação, o CPC tem baixa resistência mecânica, enquanto o Geistlich Bio-Oss® Collagen tem sido eficaz na regeneração óssea devido às suas propriedades osteocondutoras favoráveis. O Geistlich Bio-Oss® Collagen é um composto de partículas de osso esponjoso e matriz de colágeno biodegradável exibindo propriedades físicas semelhantes ao osso humano (morfologicamente e nos minerais da sua composição) o e que facilita a manipulação do enxerto. Estudos em animais mostraram que o Geistlich Bio-Oss® Collagen estimulou a melhor formação de novo osso localmente (13). Estes enxertos de origem xenogénica podem ser usados em lugar dos enxertos clássicos, mas todos eles têm a limitação de não serem capazes de formar osso por si mesmos e dizer, não possuem capacidade osteogénica. Revimos um conjunto de 13 artigos que discutem a utilização das células em conjunto com este tipo de enxertos, com o objetivo de encontrar uma possível solução que possa ultrapassar esta limitação, aproveitando o poder concedido das células mesenquimais. (4)

5.4 Regeneração óssea e MSC (células estaminais mesenquimais)

A regeneração óssea requer que as células migrem para a área lesada e proliferem, fornecendo o substrato biológico ideal para o crescimento de novos tecidos. Este processo é mediado por diferentes elementos, tais como fatores solúveis, tipos de células, matriz extracelular e proteínas da matriz (9).

1. Inicialmente, a produção de sinais angiogênicos e a formação de novos vasos sanguíneos são necessários para fornecer a base para o crescimento e a homeostasia dos tecidos (9).
2. De seguida, é produzido um modelo tridimensional baseado na matriz extracelular que ajudará à formação e maturação óssea (9). Uma vez que essas estruturas estejam estabelecidas, a remodelação de novo tecido terá seu processo normal de hemóstase e remodelação com a ajuda da população das células hematopoiéticas da medula óssea (3,9). Independentemente da extensão da lesão a regenerar, são necessárias determinadas características a nível histocelular para que o enxerto forneça a estrutura de suporte tridimensional para o novo tecido e tenha um abastecimento celular que lhe permita mediar e diferenciar.

Devido às limitações dos xeno enxertos acima referidas, uma das opções contempladas para ativar e potenciar o poder osteointegrativo e osteocondutor dos xenoenxertos é a aplicação de células estaminais mesenquimais (4,12,14).

Os estudos analisados fornecem informação que nos permite responder às principais questões que muitos médicos dentistas podem ter quando se discutem as vantagens que as células estaminais mesenquimais podem proporcionar na regeneração óssea guiada através de xeno enxertos ósseos.

Que tipo de estudos foram realizados sobre a eficácia e segurança da utilização de células estaminais na regeneração óssea? A primeira coisa a fazer é distinguir entre os tipos de estudos efetuados, incluindo estudos in vitro, em animais e em humanos. Analisar o potencial de regeneração óssea das células estaminais mesenquimais do ponto de vista clínico, histológico e radiográfico.

5.5 Segurança das MSC

A segurança das células estaminais mesenquimais tem sido objeto de numerosos estudos e debates na comunidade científica. Embora as células mesenquimais sejam consideradas relativamente seguras, ainda há muitas questões em aberto que precisam de ser abordadas. Dos estudos revistos, quatro centram grande parte dos seus resultados na análise da sua viabilidade e segurança no contexto clínico dentário (1,2,5,15).

Em primeiro lugar, é importante ressaltar que o uso de células mesenquimais no estudo de Sánchez et al., foi considerado seguro e bem tolerado pelos pacientes, não tendo sido relatados eventos adversos graves relacionados ao uso das células. No entanto, é importante lembrar que este é apenas um estudo e que os resultados podem não ser generalizáveis a outras condições ou populações de doentes (15). Por último, o estudo salienta a importância de uma abordagem cuidadosa na seleção e caracterização das células mesenquimatosas utilizadas em terapias regenerativas. No caso do estudo as células mesenquimais foram obtidas a partir do ligamento periodontal autólogo de cada paciente, o que ajudou a minimizar os riscos associados à utilização de células alogénicas ou xenogénicas. O artigo de Kaigler et al. descreve um ensaio clínico controlado e aleatório que avaliou a eficácia e a segurança da utilização de células estaminais mesenquimais na regeneração óssea craniofacial em doentes com defeitos ósseos. O estudo incluiu 24 doentes que foram aleatoriamente selecionados para receberem terapia celular com células mesenquimatosas da medula óssea ou tratamento padrão sem células (1). Uma das principais preocupações em relação à terapia celular é a segurança do procedimento, incluindo o risco de infeção, reações imunitárias e a possibilidade de formação de tumores. No estudo de Kaigler et al., não se registaram eventos adversos graves associados à utilização de células mesenquimais, embora um doente tenha tido uma infeção superficial que foi tratada com sucesso (1,5). Em resumo, o estudo sugere que a utilização de células mesenquimais na regeneração óssea craniofacial é segura e eficaz, embora sejam necessários mais estudos para confirmar estes resultados. É importante que sejam estabelecidos protocolos de segurança rigorosos para a utilização de células mesenquimais em terapias regenerativas, incluindo uma avaliação cuidadosa da fonte das células e do processo de isolamento e expansão celular (1).

O estudo de Mona N. Bajestan et al. demonstra que a terapia com células estaminais mesenquimais é uma opção segura para a reconstrução de defeitos alveolares e traumáticos em adultos. No ensaio aleatório controlado, as células mesenquimais foram administradas a pacientes com defeitos ósseos alveolares e traumáticos, e os resultados mostraram que não ocorreram efeitos adversos graves (2).

Em resumo, estes estudos sugerem que a utilização de células mesenquimais é segura e eficaz em diferentes contextos clínicos. No entanto, é importante lembrar que existem riscos associados à utilização de terapias celulares, tais como o risco de rejeição do hospedeiro,

infecções e formação de tumores. Além disso, a segurança das células mesenquimais pode depender de vários fatores já referidos, tais como a fonte das células, o processo de isolamento e expansão das células e a forma como as células são administradas (1,2,5,15).

5.6 Potencial de regeneração óssea com xeno enxertos e células mesenquimais.

5.6.1 Estudos in vitro

Motamedian et.al investigaram a resposta das células estaminais mesenquimais da polpa dentária (DPSCs) em diferentes suportes ósseos artificiais, como o β -fosfato tricálcico (β -TCP) e suportes naturais como o aloenxerto ósseo liofilizado (FDBA). O objetivo deste estudo foi avaliar a viabilidade, a proliferação e a expressão de marcadores relacionados com a diferenciação osteogénica das DPSCs em resposta a diferentes suportes ósseos. Na análise por microscopia eletrónica de varrimento (SEM), observou-se que as culturas celulares em β -TCP apresentaram uma adesão celular adequada, enquanto o FDBA formou aglomerados de células e fibras de colagénio e o DBBM apresentou poucas células aderentes à matriz. No ensaio de adesão celular MTT, observou-se que a adesão celular era mais elevada no β -TCP do que nos outros substitutos ósseos, especialmente quando o meio de cultura era osteogénico. Não foram encontradas diferenças significativas na adesão celular às estruturas FDBA e DBBM. Além disso, o ensaio de quantificação do ADN mostrou que a proliferação celular estava presente em todos os substitutos ósseos. No entanto, o β -TCP apresentou uma maior quantidade de células estaminais da polpa dentária (DPSCs) aderentes e em proliferação, em comparação com o FDBA e o DBBM. As DPSCs mostraram um aumento da expressão de marcadores relacionados com a diferenciação osteogénica quando cultivadas em todos os suportes ósseos testados. Estes resultados indicam que as DPSCs têm uma capacidade efetiva de responder e interagir com diferentes tipos de suportes ósseos, promovendo a sua diferenciação em células ósseas. Isto sugere que as DPSCs podem ser uma fonte promissora de células estaminais para a regeneração óssea em casos de perda óssea ou lesões extensas. No entanto, é importante mencionar as limitações deste estudo pois as experiências foram realizadas in vitro, o que significa que os resultados podem não refletir totalmente a resposta das células no contexto clínico in vivo. Este estudo fornece provas preliminares de que as DPSC são capazes de responder e de se diferenciar eficazmente em células ósseas quando cultivadas em diferentes suportes ósseos. No

entanto, é necessária mais investigação para confirmar esses resultados e estabelecer a eficácia e segurança das células-tronco em terapias de regeneração óssea(16).

5.6.2 Estudos testados em animais.

Prosseguindo na análise dada, continuamos com estudos cujos sujeitos de teste são animais, neste caso encontramos uma maior semelhança com a direção clínica que pretendemos orientar levando a cabo uma crítica dos mesmos (4,6,13,14).

No estudo de Coelho et.al foram comparadas as células mesenquimais derivadas da medula óssea e do tecido adiposo em combinação com xenoenxertos na reconstrução óssea em coelhos para avaliar os efeitos de diferentes tipos de enxertos e células mesenquimais (adiposas vs da crista ilíaca) após um período de 56 dias. Os coelhos foram divididos em três grupos, cada um recebendo um tipo específico de enxerto. Depois do período de avaliação, os ossos foram analisados para determinar o nível de formação óssea e o poder de osseointegração. Após o correto tempo de cicatrização, os ossos foram submetidos a análises para verificar a quantidade e a qualidade do osso recém-formado, além de avaliar o grau de osseointegração, ou seja, quanto do enxerto se fundiu com o osso circundante. Os resultados sugerem que ambas as fontes de células mesenquimais são capazes de promover maior regeneração óssea comparado com o xeno enxerto isolado, mais com diferenças na velocidade e qualidade da formação óssea. Sendo as da crista ilíaca mais efetivas na regeneração óssea e integração em comparação com as adiposas.(4)

Para aclarar as diferenças na velocidade um estudo conduzido por Zhu et al., foram utilizados dois tipos de células crio preservadas: células da polpa dentária e células do tecido adiposo. O objetivo deste artigo foi avaliar o potencial de regeneração óssea dessas células crio preservadas em combinação com um xeno enxerto com o fim de comprovar se é viável crio preservar- as e qual das dois pode ser mais promissora no âmbito da regeneração óssea. O mesmo tipo de xeno enxerto bovino enriquecido com 10% de colagénio suíno mais diferenças no "adjuvante" foi colocado em 4 grupos de ratos: controlo negativo, controlo positivo (Geistlich Bio-Oss® Collagen), Geistlich Bio-Oss® Collagen com ADSCs e Geistlich Bio-Oss® Collagen com DPSCs. Os resultados indicaram que as células eram viáveis tanto antes como depois da criopreservação, com mais de 90% de células viáveis. A criopreservação não influenciou a aparência ou as características das células estaminais mesenquimais. O grupo das ADSCs apresentou um aumento significativo da

viabilidade celular. O grupo ADSCs apresentou maior formação óssea de novo em comparação com o grupo DPSCa. Os valores variaram de 13,95% a 42,90% para as ADSCs e de 11,04% a 32,51% para as DPSCs em diferentes semanas. Isto indica que tanto as ADSCs como as DPSCs aumentaram a capacidade osteocondutora do Geistlich Bio-oss® Collagen. A análise histológica da formação de osso novo mostrou que o grupo que recebeu células estaminais derivadas do tecido adiposo (ADSCs) apresentou uma maior formação óssea em comparação com o grupo que recebeu células DPSCs (13).

Em seguida, o estudo de Gutwald et al. avaliou as células estaminais mesenquimais (MSCs) juntamente com um mineral ósseo inorgânico bovino na regeneração óssea numa técnica de enxerto do seio maxilar. A comparação foi feita com enxerto utilizando osso autólogo em ovelhas adultas. Os resultados do estudo mostraram que a utilização de MSCs combinadas com mineral ósseo bovino inorgânico levou a uma regeneração óssea efetiva, comparável ao enxerto de osso autólogo. Foi observada uma formação significativa de novo osso e uma osseointegração adequada com o tecido circundante. Além disso, não foram observadas reações adversas significativas ou complicações relacionadas com a utilização de MSCs (14).

Para completar a demonstração da eficácia desta técnica em animais, analisámos o estudo de Gutiérrez-Quintero et al. onde foi avaliada a eficácia das células estaminais derivadas da polpa dentária humana (HPSCs) na reconstrução de defeitos mandibulares num modelo de xenoenxerto. Os resultados deste estudo demonstraram que as HPSCs foram eficazes na reconstrução de defeitos mandibulares de tamanho crítico. As análises clínicas, radiológicas e histológicas mostraram uma regeneração óssea significativa e uma integração adequada do novo tecido ósseo com a mandíbula. Além disso, não foram observadas complicações relevantes ou reações adversas associadas ao uso de HPSD. Em ambos os estudos, as células mesenquimais mostraram-se promissoras na regeneração óssea e reconstrução de defeitos mandibulares. Estes resultados sugerem que as células estaminais mesenquimais, tanto as derivadas do tecido adiposo como as derivadas da polpa dentária, têm potencial para uma utilização bem-sucedida em terapias de regeneração óssea. No entanto, são necessárias mais investigações e estudos clínicos para avaliar a sua eficácia em diferentes contextos clínicos e em seres humanos (6).

5.6.3 Estudos clínicos em humanos.

O estudo de Hernandez-Alfaro et al. avaliou a eficácia das células mesenquimais na reconstrução mandibular em pacientes com ameloblastoma múltiplo recorrente. O caso relata como um paciente de 33 anos, que tinha perdido grande parte da sua estrutura mandibular devido a ameloblastoma, foi tratado com células mesenquimais extraídas autologicamente da crista ilíaca. O procedimento consistiu na inserção de um suporte de malha de titânio 3D, no qual foi colocado um enxerto de osso bovino desproteínizado, acompanhado de um concentrado autólogo enriquecido com células mesenquimatosas da crista ilíaca. Após 9 meses e sem eventos adversos de cicatrização, a tomografia computadorizada de feixe cônico (CBCT) e a análise histológica revelaram que a área adjacente ao enxerto continha novas partículas ósseas, permitindo a colocação do implante 4 meses mais tarde e a obtenção de um acompanhamento de um ano totalmente satisfatório. Após este estudo, os resultados sugeriram que, apesar de um xeno enxerto por si só não possuir um poder de criação de novo osso, com a ajuda das células mesenquimais da crista ilíaca, obtivemos resultados de regeneração óssea ao redor do enxerto, juntamente com baixa morbidade e tempo cirúrgico reduzido. (3)

No artigo de Ferrarotti et.al, foi realizado um estudo com o objetivo de demonstrar a vantagem da utilização de células estaminais combinadas com um xenoenxerto em relação à utilização exclusiva de um xenoenxerto. O estudo foi realizado em 29 pacientes com defeitos intra-ósseos extensos, que foram divididos num grupo de controlo (apenas membrana de colagénio) e num grupo de estudo (esponja de colagénio + células mesenquimais da polpa dentária). No estudo acima referido, os locais de teste, onde foram utilizadas células estaminais combinadas com xenoenxertos, apresentaram resultados significativamente melhores em comparação com os locais de controlo. Foi observada uma maior redução da profundidade de sondagem (4,9 mm vs. 3,4 mm), um maior ganho de fixação clínica (4,5 mm vs. 2,9 mm) e um maior preenchimento de defeitos ósseos (3,9 mm vs. 1,6 mm) nos locais tratados. Além disso, profundidades residuais de sondagem inferiores a 5 mm (93% vs. 50%) e ganho de inserção clínica maior ou igual a 4 mm (73% vs. 29%) foram significativamente mais frequentes no grupo teste, que recebeu a combinação de células estaminais e xeno enxertos (12).

Estes resultados indicam que a utilização de células estaminais combinadas com xenoenxertos é vantajosa em relação à utilização de xenoenxertos isoladamente, pois

favorece uma maior redução da profundidade de sondagem, maior ganho de inserção clínica e melhor preenchimento dos defeitos ósseos.

Para concluir, imos falar sobre estudos nos quais foram utilizadas células CD90 e CD105. Essas células, quando enriquecidas com CD90 e CD105, têm sido amplamente estudadas em diversas aplicações de terapia celular e regeneração tecidual. Elas demonstraram propriedades únicas que as tornam promissoras para a engenharia de tecidos e regeneração óssea. No estudo de Avila Ortiz et.al, as células mesenquimais enriquecidas com CD90+ foram utilizadas para engenharia óssea em defeitos do seio maxilar. Os resultados desse estudo demonstraram uma regeneração óssea significativa e bem-sucedida no seio maxilar utilizando terapia com células mesenquimais enriquecidas com CD90+. Isso sugere que essa abordagem pode ser uma opção efetiva para o tratamento de deficiências ósseas no seio maxilar (5).

Em relação ao estudo de Valdivia et.al, as células mesenquimais da medula óssea, especificamente as células CD90 e CD105, foram utilizadas para a engenharia tecidual da maxila atrófica. O relato de caso descreveu uma regeneração óssea bem-sucedida e melhorias significativas na estrutura facial e função mastigatória do paciente. Esses resultados sugerem que a terapia de engenharia tecidual utilizando células mesenquimais da medula óssea pode ser uma abordagem efetiva para o tratamento de maxilas atróficas (9). Em ambos os estudos, o uso de células mesenquimais mostrou-se promissor para a regeneração óssea e reconstrução de defeitos em regiões craniofaciais. A terapia com células mesenquimais, seja enriquecida com CD90+ ou utilizando células da medula óssea CD90 e CD105, apresentou resultados positivos e indicou ser uma opção viável para o tratamento dessas condições. No entanto, é importante notar que são necessários mais estudos clínicos e investigação para validar estes resultados (5,9).

5.7 Aplicações práticas e limitações

Num futuro próximo, esta técnica poderá ser promissora no tratamento de casos específicos de perda óssea, bem como na aceleração do processo de regeneração e na melhoria da ligação direta entre o xeno enxerto e o osso, o que garante maior estabilidade e sucesso a longo prazo, aumentando a sua viabilidade.

No entanto, pode também apresentar várias limitações, tais como a sua disponibilidade devido à necessidade de realizar uma intervenção para a colheita das mesmas, a sua

diferenciação heterogénea, bem como reações imunológicas e, não menos importante, por ser uma terapia inovadora e, portanto, dispendiosa.

6. Conclusão:

Com base na revisão sistemática integrativa realizada, pode concluir-se que as células mesenquimais apresentam um potencial promissor para uma melhora da eficácia regenerativa induzida pelos xenoenxertos.

Em termos de eficácia, nestes estudos, foi possível verificar que o resultado em termos de quantidade e velocidade de regeneração óssea por meio de xenoenxertos em adulto de células mesenquimais foi superior em todos os estudos em comparação com os xenoenxertos isolados.

Relativamente às células destinadas a regenerar o osso e a melhorar a osseointegração do xenoenxerto, as células mesenquimais da crista ilíaca mostraram uma vantagem em relação às células adiposas e às células da polpa dentária.

Em termos de segurança, as células mesenquimais têm sido extensivamente estudadas e os resultados mostram que são consideradas seguras para uso clínico. Estudos clínicos têm demonstrado a ausência de efeitos adversos graves relacionados às células mesenquimais quando utilizadas como adjuvantes em tratamentos de regeneração óssea utilizando xenoenxertos.

No entanto, é importante ressaltar que existem desafios e considerações importantes a serem abordados. A escolha da fonte das células mesenquimais, o método de isolamento e expansão, a via de administração e a interação com o xenoenxerto são aspectos cruciais a serem considerados para otimizar a efetividade das células. Além disso, mais estudos clínicos bem projetados são necessários para avaliar a eficácia e a segurança das células mesenquimais em xenoenxertos em diferentes contextos clínicos.

Em suma, embora as células mesenquimais demonstrem um potencial promissor na melhoria da efetividade dos xenoenxertos ósseos, é fundamental realizar mais pesquisas e estudos clínicos para obter uma compreensão mais aprofundada de suas propriedades terapêuticas e estabelecer diretrizes adequadas para sua aplicação clínica.

7.Referencias Bibliográficas

1. Kaigler D, Pagni G, Park CH, Braun TM, Holman LA, Yi E, et al. Stem cell therapy for craniofacial bone regeneration: a randomized, controlled feasibility trial. *Cell Transplant.* 2013;22(5):767-77.
2. Bajestan MN, Rajan A, Edwards SP, Aronovich S, Cevidanes LHS, Polymeri A, et al. Stem cell therapy for reconstruction of alveolar cleft and trauma defects in adults: A randomized controlled, clinical trial. *Clin Implant Dent Relat Res.* octubre de 2017;19(5):793-801.
3. Hernández-Alfaro F, Ruiz-Magaz V, Chatakun P, Guijarro-Martínez R. Mandibular reconstruction with tissue engineering in multiple recurrent ameloblastoma. *Int J Periodontics Restorative Dent.* junio de 2012;32(3):e82-86.
4. Coelho de Faria AB, Chiantia FB, Teixeira ML, Aloise AC, Pelegrine AA. Comparative Study Between Mesenchymal Stem Cells Derived from Bone Marrow and from Adipose Tissue, Associated with Xenograft, in Appositional Reconstructions: Histomorphometric Study in Rabbit Calvaria. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2016;31(6):e155-61.
5. Kaigler D, Avila-Ortiz G, Travan S, Taut AD, Padial-Molina M, Rudek I, et al. Bone Engineering of Maxillary Sinus Bone Deficiencies Using Enriched CD90+ Stem Cell Therapy: A Randomized Clinical Trial. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res.* julio de 2015;30(7):1206-16.
6. Gutiérrez-Quintero JG, Durán Riveros JY, Martínez Valbuena CA, Pedraza Alonso S, Munévar JC. Critical-sized mandibular defect reconstruction using human dental pulp stem cells in a xenograft model-clinical, radiological, and histological evaluation. *Oral Maxillofac Surg.* diciembre de 2020;24(4):485-93.
7. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini FC, Krause DS, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy.* 2006;8(4):315-7.
8. Kolios G, Moodley Y. Introduction to Stem Cells and Regenerative Medicine. *Respiration.* 2013;85(1):3-10.
9. Valdivia E, Mendoza-Azpur G, Pando J, Cornejo H, Carrasco A, Nevins M, et al. Tissue Engineering Therapy for Atrophic Maxilla Using Minimally Manipulated CD90 and CD105 Bone Marrow Stem Cells: A Case Report. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2017;37(3):355-61.
10. Oliveira R, Pelegrine A, Aloise A, Ferreira L. Xenograft Impregnated with Bone Marrow Mononuclear Fraction for Appositional Bone Regeneration in Rabbit Calvaria: A Clinical and Histomorphometric Study. *Int J Oral Maxillofac Implants.* julio de 2014;29(4):962-8.

11. Hernández-Monjaraz B, Santiago-Osorio E, Ledesma-Martínez E, Alcauter-Zavala A, Mendoza-Núñez VM. Retrieval of a periodontally compromised tooth by allogeneic grafting of mesenchymal stem cells from dental pulp: A case report. *J Int Med Res.* julio de 2018;46(7):2983-93.
12. Ferrarotti F, Romano F, Gamba MN, Quirico A, Giraudi M, Audagna M, et al. Human intrabony defect regeneration with micrografts containing dental pulp stem cells: A randomized controlled clinical trial. *J Clin Periodontol.* julio de 2018;45(7):841-50.
13. Zhu Y, Wei SM, Yan KX, Gu YX, Lai HC, Qiao SC. Bovine-Derived Xenografts Immobilized With Cryopreserved Stem Cells From Human Adipose and Dental Pulp Tissues Promote Bone Regeneration: A Radiographic and Histological Study. *Front Bioeng Biotechnol.* 2021; 9:646690.
14. Gutwald R, Haberstroh J, Kuschnierz J, Kister C, Lysek DA, Maglione M, et al. Mesenchymal stem cells and inorganic bovine bone mineral in sinus augmentation: comparison with augmentation by autologous bone in adult sheep. *Br J Oral Maxillofac Surg.* junio de 2010;48(4):285-90.
15. Sánchez N, Fierravanti L, Núñez J, Vignoletti F, González-Zamora M, Santamaría S, et al. Periodontal regeneration using a xenogeneic bone substitute seeded with autologous periodontal ligament-derived mesenchymal stem cells: A 12-month quasi-randomized controlled pilot clinical trial. *J Clin Periodontol.* noviembre de 2020;47(11):1391-402.
16. Motamedian SR, Tabatabaei FS, Akhlaghi F, Torshabi M, Gholamin P, Khojasteh A. Response of Dental Pulp Stem Cells to Synthetic, Allograft, and Xenograft Bone Scaffolds. *Restorative Dent.* 2016;37(1).