

MICROESFERAS ASSOCIADAS À CÉLULAS-TRONCO DA POLPA DENTAL COMO ESTRATÉGIA NA ENGENHARIA TECIDUAL: UMA REVISÃO DE ESCOPO

TIAGO SCHLINDVEIN DE ARAUJO¹; FELIPE IMMICH²; LUCAS PEIXOTO DE ARAÚJO³; ADRIANA FERNANDES DA SILVA⁴, EVANDRO PIVA⁴, WELLINGTON LUIZ DE OLIVEIRA DA ROSA⁵

¹Universidade Federal de Pelotas – tiagoschlar@gmail.com

² Universidade Federal de Pelotas – fel.immich@gmail.com

³Universidade Estadual de Campinas – lucaspeixoto94@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – adrisilvapiva@gmail.com – evpiva@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – wellington.xy@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Terapias biológicas usando microesferas como meios transportadores de células-tronco têm ganhado cada vez mais espaço na engenharia de tecidos (MINARDI, 2020). A utilização de microesferas como veículo tem demonstrado capacidade de proporcionar ambiente adequado para a proliferação, o transporte e a liberação controlada de moléculas bioativas (MINARDI, 2020).

Com base na tríade de engenharia tecidual composta por células-tronco, *scaffolds* e fatores de crescimento, as microesferas podem auxiliar no transporte desses constituintes visando a regeneração e neoformação de tecidos (TSUTSUI, 2020). Nesse contexto, as células-tronco da polpa dental (CTPDs) apresentam capacidade de diferenciação em diversas linhas celulares (FU, 2019). Adicionalmente, o emprego de CTPDs em engenharia de tecidos apresenta maior facilidade de aquisição e menores entraves éticos em relação às células-tronco oriundas da medula óssea (BRUPTANI, 2016).

Estudos demonstram que microesferas são capazes de fornecer ambiente adequado para proliferação, transporte e liberação controlada de moléculas e CTPDs (MINARDI, 2020). Para isso, as microesferas devem ser sintetizadas a partir de materiais biocompatíveis e degradáveis para permitirem a incorporação e a liberação controlada do agente biológico (PRAJAPATI, 2015). Dessa forma, o objetivo dessa revisão de escopo é elaborar um panorama sobre o emprego de microesferas com CTPDs na engenharia de tecidos dentais.

2. METODOLOGIA

A presente revisão de escopo é relatada em conformidade com o *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis extension for Scoping Reviews* (PRISMA-ScR; PRISMA 2020). O estudo está registrada no *Open Science Framework* (<https://osf.io/bc5w3/>).

2.1 Estratégias de busca

A busca sistemática da literatura foi realizada por dois revisores independentes (TSA e FI) em quatro bancos de dados: PubMed, Scopus, Embase e Web of Science, até julho de 2021. A estratégia de busca foi desenvolvida com base na ferramenta Population, Concept, and Context

(PCC) para análises de escopo como sendo P: microesferas; C: células-tronco; e C: polpa dentária.

Os registros foram exportados para a plataforma online Rayyan (Instituto de Pesquisa Computing Catar, Doha) onde dois revisores (TSA e FI) realizaram a seleção, às cegas, dos artigos pela leitura de título e resumo baseados nos critérios de inclusão: estudos *in vitro* e *in vivo*, redigidos em inglês e que avaliaram o uso de microesferas com células tronco da polpa dentária. Após a triagem inicial um terceiro revisor independente (LPA) calculou a concordância entre os dois examinadores usando o coeficiente kappa de Cohen ($\kappa = 0,92$). Os revisores avaliaram as cópias completas de todos os estudos que atendiam os critérios de elegibilidade e eventuais discordâncias entre os revisores foram esclarecidas por meio de discussão com um revisor mais experiente (WLOR).

2.2 Processo de coleta de dados

Dois revisores (TSA e LPA), de forma independente, extraíram os artigos de interesse e os tabularam em uma planilha do Excel (Microsoft Corporation, Redmond, Estados Unidos). Um outro revisor (WLOR) verificou os dados tabulados com as cópias completas dos estudos incluídos. Essa planilha de dados foi previamente testada e discutida por todos os revisores a fim de padronizar o processo de coleta de dados. Os dados extraídos de estudos englobaram as seguintes informações: autor, ano, país, o que foi incorporado, tipo de estudo, título, objetivo, desenho do estudo, tipo de células e de proteínas, meio biológico, tipo de microesfera carreadoras, tipo / objetivo do carregamento, método utilizado, principais materiais utilizados para sintetizar as microesferas, medição biológica, resposta biológica avaliada e os principais resultados dos estudos incluídos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Seleção de estudos

A busca resultou em um total de 872 estudos com potencial uso na revisão. Após remoção de duplicatas, 510 estudos permaneceram para seleção por leitura de título e resumo. Dezenove estudos foram selecionados para leitura completa do estudo e após análise qualitativa 9 estudos foram selecionados por atenderem à todos os critérios de inclusão.

3.2 Análise qualitativa

Os incluídos estudos foram publicados entre os anos de 2012 e 2020, com os Estados Unidos, China e Índia como os países que publicaram a maioria dos estudos incluídos nesta revisão. Houve heterogeneidade entre os artigos quanto aos objetivos principais de cada estudo, e foram avaliadas desde a viabilidade celular em microesferas (Bhuptani, 2016; Garzón, 2018) até a capacidade osteogênica de exossomos derivados de CTPDs para facilitar a diferenciação e mineralização (Swanson, 2020).

Tabela 1. Origem celular, proteínas incorporadas e matérias de síntese

Autor	Origem celular	Proteínas	Materiais utilizados
Lorencetti-Silva et al. 2019	Camundongo (OD-21)	Proteína morfogenética óssea (BMP-2) + Fator de transcrição (RUNX2)	PGE2 + poli (ácido láctico-co-glicólico) (PLGA)
Kuang et al. 2016	(Não especificado)	Fator de crescimento endotelial vascular (VEGF)	PLLA (Poliácido láctico)
Wu et al. 2019	Terceiros molares impactados	Fator de crescimento endotelial (VEGF) + Anticorpos (CD90, CD29, CD45, CD34)	Ácido acético e β - glicero- fosfato (β - GP) + Quitosana
Garzón et al. 2017	Terceiros molares	Anticorpos MMP14	PLLA (Poliácido láctico)
Bhuptani et al. 2016	(Não especificado)	/	PLGA de Poli Poroso (ácido láctico-co-ácido glicólico)
Kanafi et al. 2013	Terceiros molares	Anticorpos CD34, CD45, CD73 e CD90	Alginate a 1%
Swanson et al. 2020	Exossomos da polpa dental	Fator de Transcrição (RUNX) + Sialoproteína BSP e marcador Osteocalcina (OCN)	Poli (ácido láctico-co-glicólico) (PLGA)
Srisuwan et al. 2012	Camundongo (OD-21)	BMP-4+ Fator de crescimento fibroblástico FGF2	Gelatina baseada em glutaraldeído
Zhang et al. 2020	(Não especificado)	Fator de crescimento endotelial (VEGF)	Alginate 1% + Laponite 0,5%, 1% e 2%

A origem celular dos CTPDs foram, em sua maioria, oriundas da polpa de terceiros molares humanos recém-extraídos, com a exceção de dois estudos (Lorencetti-Silva, 2019; Srisuwan, 2012) que tinham CTPDs originária de tecido pulpar de camundongos (DO-21). Em relação às proteínas mais utilizadas para associação com microesferas e CTPDs, destacam-se fatores de crescimento, tal como fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) e fibroblástico (FGF-2), bem como as proteínas morfogenéticas ósseas (BMP-4 e BMP -2).

Os materiais mais frequentemente utilizados para sintetizar as microesferas foram a poli láctico-co-glicólico (PLGA) (Bhuptani, 2016; Lorencetti-Silva, 2019; Swanson, 2020), seguidos pelo Poliácido láctico (PLLA) (Garzón, 2018; Kuang, 2016), e alginato 1% (Kanafi, 2014; Zhang, 2020). Outros materiais utilizados na composição das microesferas foram a solução de quitosana e ácido acético (WU, 2019) e gelatina baseada em glutaraldeído (SRISUWAN, 2012).

Os estudos foram diferentes quanto ao material utilizado na síntese de microesferas, tendo como agente biológico comum o uso de CTPD. Novos estudos comparando a taxa de proliferação e diferenciação celular nos diferentes materiais são necessários para elucidar qual o melhor material para a síntese de microesferas para o carreamento biológico.

4. CONCLUSÕES

As microesferas foram capazes de fornecer um ambiente adequado para proliferação, transporte e liberação de CTPDs permitindo, assim, resposta celular controlada e modulada de acordo com o interesse biológico da terapia.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- MINARDI, S. Biocompatible PLGA-Mesoporous silicon microspheres for the controlled release of BMP-2 for bone augmentation. **Pharmaceutics**, Suíça, v.12, ed.2, p.118, 2020.
- TSUTSUI, T. Dental Pulp Stem Cells: Advances to Applications. **Stem Cells and Cloning : Advances and Applications**, Nova Zelândia, v.13, p.33–42, 2020.
- FU, X. Mesenchymal stem cells migration and tissue repair. **Cells**, Suíça, v.28, ed.8, p.784, 2019.
- BHUPTANI, R; PATRAVALE, V. Porous microscaffolds for 3D culture of dental pulp mesenchymal stem cells. **International Journal of Pharmaceutics**, Holanda, v. 515, ed. 2, p.555-564, 2016.
- PRAJAPATI, V. Current knowledge about biodegradable microspheres in drug delivery. **Expert Opinion on Drug Delivery**, Inglaterra, v.12, ed.8, p.1283-1299, 2015.
- GARZÓN, I. Bioactive injectable aggregates with nanofibrous microspheres and human dental pulp stem cells: A translational strategy in dental endodontics. **Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine**, Inglaterra, v.12, ed.1, p. 204-216, 2018.
- SWANSON, B. Scaffolds with Controlled Release of Pro-Mineralization Exosomes to Promote Craniofacial Bone Healing without Cell Transplantation. **Acta Biomaterialia**, Inglaterra, v.118, p.215-232, 2020.
- KUANG, R. Nanofibrous spongy microspheres for the delivery of hypoxia-primed human dental pulp stem cells to regenerate vascularized dental pulp. **Acta Biomaterialia**, Inglaterra, v.33, p. 225-234, 2016.
- SRISUWAN, T. Survival of rat functional dental pulp cells in vascularized tissue engineering chambers. **Tissue & cell**, Inglaterra, v. 44, ed. 2, p. 111–121, 2012.
- ZHANG, R. Alginate/laponite hydrogel microspheres co-encapsulating dental pulp stem cells and VEGF for endodontic regeneration. **Acta Biomaterialia**, Inglaterra, v. 113, p. 305–316, 2020.
- LORENCETTI-SILVA, F. Prostaglandin E2 Induces Expression of Mineralization Genes by Undifferentiated Dental Pulp Cells. **Brazilian Dental Journal**, Brasil, v. 30, ed. 3, p. 201-207, 2019.
- WU, S. Evaluation of Chitosan Hydrogel for Sustained Delivery of VEGF for Odontogenic Differentiation of Dental Pulp Stem Cells. **Stem cells international**, Estados Unidos, 2019.
- KANAFI, M. Dental pulp stem cells immobilized in alginate microspheres for applications in bone tissue engineering. **International Endodontic Journal**, Inglaterra, v.47, ed.7, p.687-697, 2014.