

Universidade Federal de Santa Catarina
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Odontologia

CINTIA SCHIOCHETT

CÉLULAS-TRONCO DA POLPA DENTAL NA REGENERAÇÃO
DOS TECIDOS PERIODONTAIS: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

FLORIANÓPOLIS
2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

CINTIA SCHIOCHETT

CÉLULAS-TRONCO DA POLPA DENTAL NA REGENERAÇÃO
DOS TECIDOS PERIODONTAIS: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

Tese apresentada como requisito parcial
para a obtenção do Título de Doutor em
Odontologia pelo Programa de Pós-
Graduação em Odontologia da
Universidade Federal de Santa Catarina.
Área de Concentração: Implantodontia.
Linha de Pesquisa: Etiologia,
Diagnóstico, Prevenção e Terapias
aplicadas à Odontologia

Orientadora: Prof^a Dr^a Mabel Mariela Rodriguez Cordeiro
Coorientadora: Prof^a Dr^a Michelle Tillmann Biz

FLORIANÓPOLIS
2016

CINTIA SCHIOCHETT
CÉLULAS-TRONCO DA POLPA DENTAL NA REGENERAÇÃO
DOS TECIDOS PERIODONTAIS: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

Tese apresentada como requisito parcial
para a obtenção do Título de Doutor em
Odontologia pelo Programa de Pós-
Graduação em Odontologia da
Universidade Federal de Santa Catarina.

Aprovado em ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Professora Doutora Mabel Mariela Rodriguez Cordeiro – Presidente da
Banca Universidade Federal de Santa Catarina

Professora Doutora Graziela de Luca Canto – Membro Efetivo
Universidade Federal de Santa Catarina

Professor Doutor Ricardo de Souza Magini – Membro Efetivo
Universidade Federal de Santa Catarina

Professor Doutor Luis André Mezzomo – Membro Efetivo
Universidade Federal de Santa Catarina

Professora Doutora Ariadne Cristiane Cabral da Cruz - Membro
Externo ao Programa Universidade Federal de Santa Catarina

Professor Doutor Cesar Augusto Pereira de Oliveira - Membro Externo
ao Programa Universidade Federal de Santa Catarina

Cintia Schiochett

Nascimento	08 de maio de 1975
1994-1998	Curso de Graduação em Odontologia pela Universidade Federal de Santa Catarina- Florianópolis- SC.
2000-2002	Mestrado em Odontologia, Área de Implantodontia pela Universidade Federal de Santa Catarina- Florianópolis- SC.
2008-2010	Especialização em Periodontia pela Universidade Federal de Santa Catarina- Florianópolis-SC.
2012 – a concluir	Doutorado em Odontologia, Área em Implantodontia pela Universidade Federal de Santa Catarina- Florianópolis- SC.

“Tudo tem o seu tempo determinado, e há tempo para todo o propósito debaixo do céu.

Há tempo de nascer, e tempo de morrer; tempo de plantar, e tempo de arrancar o que se plantou;

Tempo de matar, e tempo de curar; tempo de derrubar, e tempo de edificar;

Tempo de chorar, e tempo de rir; tempo de prantear, e tempo de dançar;

Tempo de espalhar pedras, e tempo de ajuntar pedras; tempo de abraçar, e tempo de afastar-se de abraçar;

Tempo de buscar, e tempo de perder; tempo de guardar, e tempo de lançar fora;

Tempo de rasgar, e tempo de coser; tempo de estar calado, e tempo de falar;

Tempo de amar, e tempo de odiar; tempo de guerra, e tempo de paz.” (Eclesiastes 3:1-8)

*Dedico este trabalho aos meus pais que destinaram
suas vidas ao exemplo da honestidade, trabalho e esmero.*

*Aos meu irmãos, fonte de inspiração de índole e
amizade.*

*Ao meu filho, que me ensina diariamente a grande
arte de amar.*

AGRADECIMENTOS PESSOAIS

A todos que contribuíram com meu crescimento profissional e pessoal, e que de alguma maneira ajudaram no desenvolvimento e finalização deste trabalho, dedico meus agradecimentos:

À Prof^a Dr^a Mabel Mariela Rodriguez Cordeiro, pela orientação nas diversas etapas desta tese, pela confiança depositada em mim, pela elegância e delicadeza que sempre predominaram em nossas reuniões, por me ensinar que sempre existe “uma outra maneira” quando tudo parece sem solução.

À Prof^a Dr^a Michelle Tillmann Biz, pela contribuição preciosa na realização do trabalho.

Ao Prof^o Dr Ricardo de Souza Magini que esteve presente, me inspirando e expirando ciência e pesquisa desde quando eu ainda cursava a Graduação. O grande incentivador da minha vida acadêmica.

À Prof^a Dr^a Graziela de Luca Canto, por me adotar no Curso de Revisão Sistemática, e ter permitido que eu transformasse seus ensinamentos em minha tese. Pela agilidade nas respostas de e-mails, pelo exemplo de produtividade e pelo carinho que sempre demonstrou por mim.

Ao Prof^o Dr Luis André Mezzomo por dedicar-se em dividir sua experiência adquirida na confecção de artigos de revisão sistemática. Por ter participado desta fase da minha vida.

Ao Prof^o Dr Cesar Augusto Pereira de Oliveira por sua amizade, por ter me acolhido tão gentilmente no Gabinete 37.

À Prof^a Dr^a Ariadne Cristiane Cabral da Cruz, pelo carinho, amizade, aptidão e competência em encarar a vida com elegância e conhecimento.

À Prof^a Dr^a Gorete Savi, pela contribuição impecável e indispensável no processo de coleta de artigos desta Revisão Sistemática.

Ao Prof^o Dr Antônio Carlos Cardoso, pelos conselhos ao pé do ouvido, pela maneira única de ensinar, por me inspirar nos estudos bíblicos.

Aos colegas de Doutorado, Isis, Ivan, Rafaela, Clessius e Guenther, que tornaram a caminhada mais leve ao dividirem comigo as mesmas responsabilidades. Tenho muito orgulho dos profissionais que vocês se tornaram.

À turma de Especialização em Implante da Unique. Estivemos juntos por poucos, porém, inesquecíveis meses.

À amiga Carol Morsch pela amizade sincera, pelos conselhos maduros, pela vontade e sabedoria ímpares na arte de ensinar, pelo companheirismo durante a viagem à Croácia. Tenho muito orgulho da aluna, profissional, filha e esposa que és.

À minha “recém” e eterna amiga Caroline Rafael, que me entende como se fosse minha terapeuta. Torce por mim como uma irmã, me defende como uma mãe e disponibiliza momentos de alegria e prazer como só os grandes e verdadeiros amigos são capazes de fazê-lo.

À minha família da “Casinha”, por me incluírem nos encontros bíblicos semanais, por me amarem incondicionalmente, por estarem sempre próximos e acima de tudo, por terem me apresentado Cristo Pai, Cristo irmão, Cristo amigo, Cristo Salvador.

Aos meus amigos da Assembléia Legislativa de Santa Catarina, por me deixarem tão a vontade e feliz no meu mais novo ambiente de trabalho.
Por torcerem por mim.

Ao meu namorado Fernando Caieron, pela companhia e compreensão nos últimos e mais difíceis tempos do Doutorado, por se alegrar com minhas conquistas.

Aos meus pais, Luis e Wilma, pelo esforço dedicado a minha formação, por apoiarem minhas escolhas, pela disponibilidade em doarem-se...

Aos meus irmãos, Claudia e Marcelo, por serem irmãos disponíveis, amáveis e hospitaleiros. Vocês me inspiram e me enchem de orgulho.

Ao meu filho Luca, pela compreensão em me dividir com a Universidade, artigos e computadores. Ao iniciar o Doutorado em 2012 você ainda era uma criança de 8 anos. Hoje você é um adolescente igualmente apaixonante e companheiro. Te amo meu amor!

A Deus, por me inspirar e me permitir ser Nele.

AGRADECIMENTOS INSTITUCIONAIS

Ao Conselho de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de minha bolsa de doutorado.

À Universidade Federal de Santa Catarina, por quem tenho muito carinho, respeito e orgulho. Devo toda minha formação de Graduação e Pós-Graduação a esta instituição.

Ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, na pessoa da Coordenadora, Dra. Izabel Cristina Santos Almeida.

À Secretária do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, na pessoa da Ana Maria Vieira Frandolozo, pela sua gentileza e presteza em nos ajudar.

RESUMO

Schiochett, C. **Células-tronco da polpa dental na regeneração dos tecidos periodontais: uma revisão sistemática.** 2016. 79p. Tese (Doutorado em Odontologia) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2016.

Objetivo: Revisar de forma sistemática a literatura de estudos pré-clínicos com animais que avaliem o potencial das células-tronco da polpa dental na regeneração periodontal.

Materiais e Métodos: Foram desenvolvidas estratégias de busca individuais para cada uma das seguintes bases de dados bibliográficos: PubMed, LILACS, Scopus, Web of Science e na literatura cinzenta utilizando o ProQuest. Os critérios de inclusão abrangeram estudos em animais que utilizaram células-tronco de polpa dental para regeneração de defeitos periodontais criados. Estudos publicados em todas as línguas foram considerados. Um guia de diretrizes para Revisões Sistemáticas e Meta-análises foi utilizado (PRISMA). A avaliação da qualidade dos artigos incluídos foi realizada com a ferramenta SYRCLE que avalia o risco de viés em estudos com animais.

Resultados: Foram identificados 1.007 títulos. Após triagem minuciosa 2 artigos foram incluídos. Avaliou-se a formação de osso alveolar, cimento e ligamento periodontal. O primeiro estudo relatou que células-tronco da polpa dental mostraram resultados semelhantes ao grupo que não recebeu tratamento do defeito periodontal. O segundo artigo sugeriu que estas células associadas a um biomaterial aumentaram a formação de cimento e ligamento periodontal enquanto não influenciaram a formação de osso alveolar.

Conclusão: Devido aos diferentes desenhos metodológicos empregados nos estudos incluídos, não foi possível inferir que o uso de células-tronco da polpa dental seja vantajosa na regeneração periodontal. Pesquisas adicionais são necessárias para verificar o potencial destas células para a regeneração de defeitos periodontais.

ABSTRACT

Schiochett, C. **Dental pulp stem cells in regeneration of periodontal tissues: a systematic review.** 2016. 79p. PhD Program in Dentistry, Health Sciences Center, Federal University of Santa Catarina, Florianópolis, Brazil 2016.

Aim: To systematically review the literature for preclinical animal studies evaluating the potential of dental pulp stem cells transplantation on periodontal regeneration.

Materials and Methods: Individual search strategies for each of the following bibliographic databases were developed: PubMed, LILACS, Scopus, Web of Science and gray literature using ProQuest. Inclusion criteria were animal studies that applied dental pulp stem cells into created periodontal defects for periodontal regeneration. Studies published in any language were considered. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses guidelines were used and quality assessment was performed based on SYRCLE's risk of bias tool for animal studies.

Results: Search identified 1,007 titles. After comprehensive screening, 2 articles were included. Outcome measures included alveolar bone, cementum and periodontal ligament formation. One study reported that dental pulp stem cells showed outcomes similar to the untreated group. The other research reported that these cells associated to a biomaterial enhanced cementum and periodontal ligament formation while not influenced the formation of alveolar bone.

Conclusion: Due to different methodological designs of the included studies, it is not possible to infer that the use of dental pulp stem cells may be an advantage for periodontal regeneration. Additional research is needed to verify the potential of these cells for the regeneration of periodontal defects.

FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma de busca dos artigos da revisão sistemática e critérios de seleção

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 -	Descrição da estratégia PICOS para a elaboração da pergunta que guiou a pesquisa. Florianópolis, SC, Brasil, 2016.....	34
Quadro 2 -	Critérios de inclusão e exclusão segundo estratégia PICOS. Florianópolis, SC, Brasil, 2016.....	35
Quadro 3 -	Termos utilizados para busca e resultados detalhados. Florianópolis, SC, Brasil, 2016.....	38
Quadro 4 -	Artigos incluídos na revisão. Distribuição segundo autor, ano, título e país de origem. Florianópolis, SC, Brasil, 2016.....	49
Quadro 5 -	Avaliação dos autores sobre cada item do risco de viés para os estudos incluídos. Florianópolis, SC, Brasil, 2016.....	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Estratégia de busca final realizada na base PubMed. Florianópolis, SC, Brasil, 2016.....	41
Tabela 2 -	Estratégia de busca final realizada na base Scopus. Florianópolis, SC, Brasil, 2016.....	42
Tabela 3 -	Estratégia de busca final realizada na base Web of Science. Florianópolis, SC, Brasil, 2016.....	42
Tabela 4 -	Estratégia de busca final realizada no ProQuest <i>Dissertations and Theses database</i> . Florianópolis, SC, Brasil, 2016.....	43
Tabela 5 -	Artigos excluídos e razão da exclusão	47
Tabela 6 -	Distribuição dos estudos selecionados segundo autor, ano, animais (número- N, idade e número- N de defeitos criados), tipo de defeito, origem e quantidade de células, arcabouço, objetivo, tipo de regeneração periodontal e principal conclusão. Florianópolis, SC, Brasil, 2016.....	52

LISTA DE SIGLAS

PDL	Ligamento periodontal
HSCs	Células-tronco hematopoiéticas
MSCs	Células-tronco mesenquimais
PRISMA	Do inglês <i>Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis</i>
PROSPERO	Do inglês <i>International Prospective Register of Systematic Reviews</i>
LILACS	Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde
DeCS	Descritores em Ciências da Saúde
RS	Revisão sistemática
PDLSCs	Células-tronco do ligamento periodontal
DPSCs	Células-tronco da polpa dental de dentes permanentes
PAFSCs	Células-tronco do folículo periapical
RT-PCR	Do inglês <i>Reverse transcription polymerase chain reaction</i>

SUMÁRIO

RESUMO	xii
1 INTRODUÇÃO	19
1.1 DOENÇA PERIODONTAL	21
1.2 ENGENHARIA TECIDUAL	22
1.2.1 Células-tronco	22
1.2.2 Arcabouços	24
1.3 REVISÃO SISTEMÁTICA	25
1.3.1 Definição	25
1.3.2 Finalidade	25
2 OBJETIVO	27
2.1 OBJETIVO GERAL	29
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
3 MATERIAIS E MÉTODO	31
3.1 IDENTIFICAÇÃO DA PERGUNTA DE PESQUISA	34
3.2 PROTOCOLO E REGISTRO	34
3.3 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE	34
3.4 PESQUISA EM BASE DE DADOS	35
3.4.1 PubMed	35
3.4.2 LILACS	36
3.4.3 Scopus	36
3.4.4 Web of Science	36
3.4.5 Literatura cinzenta	37
3.4.5.1 ProQuest Dissertation and Theses database	37
3.5 BUSCA	37
3.6 SELEÇÃO DOS ESTUDOS	39
3.7 COLETA DE DADOS	39
3.8 RISCO DE VIÉS DOS ESTUDOS INCLUÍDOS	43
3.8.1 Risco de viés	43
4 RESULTADOS	45
4.1 SELEÇÃO DOS ESTUDOS	47
4.2 CARACTERÍSTICAS DOS ESTUDOS	49
4.3 RISCO DE VIÉS NOS ESTUDOS INDIVIDUAIS	51
4.4 RESULTADOS DOS ESTUDOS INDIVIDUAIS	51
5. DISCUSSÃO	57
6. CONCLUSÃO	65
7. REFERÊNCIAS	69
8. ANEXOS	77

1 INTRODUÇÃO

1.1 DOENÇA PERIODONTAL

A periodontite é uma doença infecciosa, que culmina em processo inflamatório capaz de destruir os tecidos moles e o osso ao redor dos dentes. A doença inicia como gengivite, causada pelo acúmulo de biofilme bacteriano, e evolui por meio de interações complexas entre patógeno, fatores ambientais e resistência do hospedeiro, que contribuem para prolongar a inflamação e envolver os tecidos de inserção periodontal. A fase final da doença caracteriza-se pela destruição do ligamento periodontal, perda da crista alveolar, migração apical do epitélio juncional, formação de bolsas periodontais, aumento da mobilidade e perda do elemento dental (MOHER et al, 2009). A periodontite está ainda associada a partos prematuros, eventos cardiovasculares, doença pulmonar e diabetes (CULLINAN , SEYMOUR, 2013).

Terapias periodontais convencionais (incluindo raspagem e alisamento radicular e cirurgia periodontal) podem paralisar a evolução da doença. No entanto, a cicatrização ocorre pela formação de um epitélio juncional longo aderido à superfície radicular, processo denominado de “reparo” periodontal (OFFENBACHER, 1996). Entretanto, a reparação restaura a continuidade do tecido sem sua arquitetura ou função originais. O objetivo final da terapia periodontal é a regeneração simultânea de novo cemento (sobre a superfície radicular), de fibras do ligamento periodontal (PDL) (inseridas do novo cemento) e de osso alveolar.

A regeneração tecidual guiada (RTG), aplicação tópica da matriz derivada do esmalte ou vários fatores de crescimento, podem regenerar parcialmente os tecidos periodontais (CHEN et al, 2008; CREA et al, 2008), no entanto, os resultados clínicos variam muito a depender das características do defeito ou da quantidade remanescente de osso alveolar e PDL.

A regeneração do periodonto destruído envolve vários processos, incluindo a migração, proliferação e diferenciação da população de células periodontais no defeito. Para isso, é necessário o controle da inflamação e o estímulo das células-tronco a diferenciarem-se em células formadoras de cemento, PDL e osso. No entanto, as células-tronco residuais são limitadas em pacientes com periodontite devido ao processo inflamatório de longa duração e limitada fonte celular (LIU et

al, 1997). O tratamento regenerativo da doença periodontal tem sido um grande desafio na clínica de periodontia.

1.2 ENGENHARIA TECIDUAL

A Engenharia Tecidual é uma terapia com potencial para regenerar estruturas periodontais de suporte perdidas, de forma mais previsível que os tratamentos convencionais (raspagem e alisamento radicular e RTG) (RIOS et al, 2011). É um campo interdisciplinar que associa os princípios da engenharia de materiais e ciências biológicas para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas e substitutos biológicos que restauram, mantêm, substituem ou melhoram as funções biológicas (MA et al, 2012). Essa terapia foi proposta originalmente por Langer & Vacanti (1993) e utiliza células-tronco progenitoras, moléculas indutoras que induzem o crescimento e diferenciação celular, e arcabouços para melhorar ou restabelecer funções biológicas (WARD et al, 2010).

Os principais objetivos da terapia regenerativa são estimular a migração e proliferação celular e o comprometimento das células-tronco endógenas/exógenas a diferenciarem-se apropriadamente, de modo a favorecer a biossíntese dos componentes da matriz extracelular do tecido destruído (HYNES et al, 2012). Células são aplicadas no defeito com o objetivo de melhorar o processo regenerativo (MAO et al, 2006), por meio de dois mecanismos básicos: i) sendo responsáveis pela liberação de fatores de crescimento no defeito ou ii) fornecendo células que se diferenciam e multiplicam em tipos que promovam regeneração.

Nos últimos anos, tanto a medicina como a odontologia vêm explorando o potencial das células-tronco e da engenharia tecidual para reparar tecidos danificados por doenças como câncer, diabetes, problemas cardiovasculares, desordens neurológicas, doenças autoimunes, cárie dentária, doença periodontal, assim como para recuperar tecidos ausentes por problemas congênitos (WARD et al, 2010).

1.2.1 Células-tronco

Para ser considerada uma célula-tronco, a mesma deve ter a capacidade de se autorrenovar, bem como de se diferenciar em tipos celulares maduros distintos quando devidamente estimulada (DOMINICI et al, 2006).

A depender da origem das células-tronco, elas podem ser classificadas em embrionárias ou adultas (FORTIER, 2005). As células-tronco embrionárias são extraídas da massa celular interna do blastocisto e são capazes de dar origem a células dos três folhetos germinativos: endoderma, mesoderma e ectoderma (FORBES, 2002). As células-tronco adultas são as que residem em todos os tecidos já formados, onde mantêm a homeostase dos mesmos e respondem aos estímulos nocivos (WALKER et al, 2008).

As células-tronco adultas podem ser classificadas ainda em células-tronco hematopoiéticas (HSCs) e células-tronco mesenquimais (MSCs). As HSCs, isoladas principalmente da medula óssea, dão origem a todos os tipos de células sanguíneas, incluindo linfócitos e células mieloides. Já as MSCs estão presentes em diversos tecidos e órgãos, inclusive na medula óssea. Essas células apresentam inúmeras vantagens como baixa imunogenicidade, multipotência, assim como relativa facilidade de isolamento e criopreservação. Essas células estariam envolvidas no reparo e/ou regeneração dos tecidos ao longo de toda vida de um indivíduo (CAI et al, 2004; MOORE & LEMISCHKA, 2006).

As MSCs têm plasticidade para linhagem mesenquimais e demonstram uma sensibilidade para atividade parácrina (PSALTIS et al, 2008). Devido a estas propriedades únicas, as MSCs entregues *in situ* nos defeitos periodontais podem exercer seus efeitos em vários níveis, incluindo neovascularização (WU et al 2007), imunomodulação (SHI et al, 2010) e regeneração tecidual.

As células-tronco mesenquimais estão sendo extensivamente estudadas na cicatrização e regeneração simultânea de cimento, ligamento periodontal e osso alveolar. Dentre as diversas possibilidades de fontes de obtenção, as MSCs de origem dentária apresentam-se como excelente alternativa regenerativa. As células-tronco derivadas do ligamento periodontal são favoráveis na regeneração de tecidos periodontais, da mesma forma que o PDL é essencial no desenvolvimento e remodelação da cementogênese e osteogênese (SHIMONO et al, 2003), sendo, portanto, classificadas como células multipotentes.

As MSCs derivadas da polpa, tanto de dentes decíduos quanto de permanentes, são células morfológicamente semelhantes aos fibroblastos, clonogênicas e conseguem manter a sua capacidade de proliferação mesmo quando mantidas em cultura por longos períodos de tempo (GRONTHOS et al, 2000; MIURA et al, 2003). As células-tronco pulpares são capazes de se diferenciar não só em odontoblastos,

mas também em osteoblastos, adipócitos, condroblastos e até em células do tecido nervoso (GRONTHOS et al, 2000; GRONTHOS et al, 2002; MIURA et al, 2003; HUANG et al, 2009; BERNARDI et al, 2011). Desta maneira, as MSCs presentes na polpa dental apresentam um grande potencial de uso nas áreas da medicina e odontologia regenerativas (CASAGRANDE et al, 2011).

As MSCs localizadas no ligamento periodontal e na polpa, além de serem de fácil acesso para o cirurgião dentista, possuem propriedades imunossupressoras, alta capacidade de proliferação e diferenciação (LOZANO, 2012).

1.2.2 Arcabouços

Além das células, a escolha do arcabouço ideal é fundamental para a regeneração tecidual. A identificação do material adequado para servir de arcabouço pode auxiliar no processo de indução das células transplantadas e, conseqüentemente, melhorar a regeneração periodontal.

Idealmente, os arcabouços devem apoiar a fixação das células, auxiliar na migração e proliferação celular, interagir ativamente com células e tecidos, e estimular a reparação e regeneração.

As células são frequentemente "semeadas" no biomaterial capaz de suportar a formação de tecido tridimensional. O arcabouço permite que as células influenciem seu próprio microambiente, além de exercer influência mecânica e biológica para modificar o comportamento celular.

Para atingir o objetivo da reconstrução tecidual, arcabouços devem atender alguns requisitos específicos. Alta porosidade e um tamanho de poro adequado são necessários para facilitar a semeadura de células e a difusão tanto de células como de nutrientes. A biodegradabilidade é muitas vezes um fator essencial, uma vez que o arcabouço deve, preferencialmente, ser absorvido pelos tecidos circundantes sem a necessidade de uma remoção cirúrgica. A taxa em que a degradação ocorre tem que coincidir, tanto quanto possível, com a velocidade de formação de tecido: isto significa que, enquanto as células produzem sua própria estrutura de matriz natural em torno de si mesmas, o arcabouço é capaz de proporcionar uma integridade estrutural no interior do corpo e, eventualmente, irá se degradar deixando o tecido recém-formado. Injectabilidade também é importante para usos clínicos (MELCHELS et al, 2010).

Vários materiais, naturais e sintéticos, biodegradáveis e permanentes têm sido estudados. Muitos destes materiais (colágeno e poliésteres) já foram estudados e empregados na medicina em suturas bioreabsorvíveis previamente ao advento da engenharia tecidual.

Um material sintético muito utilizado é o PLA - ácido polilático. É um poliéster que se degrada no corpo humano de modo a formar o ácido láctico, um produto químico que existe naturalmente no organismo e é facilmente removido do corpo. Materiais similares são o ácido poliglicólico (PGA) e policaprolactona (PCL): o seu mecanismo de degradação é semelhante ao do PLA, mas eles apresentam, respectivamente, um ritmo mais rápido e mais lento de degradação em comparação ao PLA (MELCHELS et al 2010).

Os arcabouços também podem ser constituídos de materiais naturais: diferentes derivados da matriz extracelular foram estudados para avaliar a sua capacidade para suportar o crescimento celular. Materiais protéicos, como o colágeno ou fibrina e polissacarídeos, como quitosana ou glicosaminoglicanas (GAGs), têm provado serem adequados em termos de compatibilidade celular, mas alguns problemas com a potencial imunogenicidade ainda permanecem. Entre os GAGs, o ácido hialurônico é uma das possíveis opções de biomaterial. Recentemente, uma gama de nanocompósitos têm sido fabricados por incorporação de nanomateriais dentro de matriz polimérica para fabricação de arcabouços bioativos (MELCHELS et al 2010).

Embora existam vários trabalhos apontando os benefícios do uso das células-tronco em regeneração tecidual, ainda não está clara a real participação dessas células no processo. Esse conhecimento é altamente relevante para o desenvolvimento de terapias seguras e com resultados previsíveis.

1.3 REVISÃO SISTEMÁTICA

1.3.1 Definição

Uma revisão sistemática é uma revisão de uma pergunta formulada de forma clara, que utiliza métodos sistemáticos e explícitos para identificar, selecionar e avaliar criticamente pesquisas relevantes, e coletar e analisar dados desses estudos que são incluídos na revisão. Métodos estatísticos (meta-análise) podem ou não ser usados para analisar e resumir os resultados dos estudos incluídos. Meta-análise se refere ao uso de técnicas estatísticas em uma revisão sistemática para

integrar os resultados dos estudos incluídos (NEEDLEMAN, 2002).

1.3.2 Finalidade

Revisões sistemáticas e meta-análises tornaram-se extremamente importantes na assistência à saúde. Clínicos as lêem para se manterem atualizados em suas áreas e são frequentemente utilizadas como ponto de partida para o desenvolvimento de instruções sobre práticas clínicas. Agências de fomento podem solicitar uma revisão sistemática para se assegurarem de que há necessidade de pesquisas adicionais e alguns periódicos da área clínica estão seguindo nessa mesma direção (MOHER et al, 2009).

Revisões Sistemáticas de estudos experimentais em animais ainda não são comuns, mas a consciência da necessidade de conduzir tais revisões é cada vez maior. Como os estudos de intervenção em animais diferem de ensaios clínicos randomizados em muitos aspectos, a metodologia para revisão sistemática em animais precisa ser adaptada e otimizada.

A Colaboração Cochrane desenvolveu uma ferramenta para revelar o risco de viés dos artigos, a fim de que se estabeleça uma coerência e se evite discrepâncias na avaliação da qualidade metodológica de ensaios clínicos randomizados. Uma ferramenta semelhante foi desenvolvida para ser utilizada na experimentação animal. Trata-se da ferramenta SYRCLE (HOOIJMANS et al, 2014) que está demonstrada no Quadro 5 e foi utilizada na presente revisão sistemática.

Objetivo

2 OBJETIVO

2.1 OBJETIVO GERAL

Revisar de forma sistemática a literatura de estudos pré-clínicos com animais que avaliem o potencial das células-tronco da polpa dental na regeneração periodontal.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Identificar quais são os efeitos do uso tópico de células-tronco da polpa dental na regeneração dos tecidos periodontais, em comparação a outras técnicas de tratamentos.

Verificar os efeitos das células-tronco de polpa dental na regeneração do tecido ósseo em defeitos periodontais.

Verificar os efeitos das células-tronco de polpa dental na regeneração do ligamento periodontal em defeitos periodontais.

Verificar os efeitos das células-tronco de polpa dental na regeneração do cemento em defeitos periodontais.

Materials e Método

3 MATERIAIS E MÉTODO

Esta revisão sistemática fornece uma compreensão da situação atual da pesquisa científica no que se refere à utilização de células-tronco de polpa dentária na regeneração de defeitos periodontais criados artificialmente em animais. A estratégia de busca de artigos científicos permite entender a literatura existente e sugere novas formas de melhorar futuros estudos. A metodologia utilizada nesta revisão seguiu os seguintes passos: identificação da pergunta de pesquisa; protocolo e registro da revisão; definição dos critérios de elegibilidade; pesquisa em base de dados; seleção dos estudos apropriados; coleta de dados; avaliação do risco de viés dos estudos.

3.1 IDENTIFICAÇÃO DA PERGUNTA DE PESQUISA

Esta revisão sistemática foi concebida para responder à pergunta: “Em defeitos periodontais criados artificialmente em animais, quais são os efeitos da aplicação tópica de células-tronco da polpa dental comparado a outras técnicas de tratamento na regeneração dos tecidos periodontais?”

3.2 PROTOCOLO E REGISTRO

A revisão sistemática adotou regras de planejamento e execução segundo as etapas propostas pelo *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis* (PRISMA) (MOHER et al, 2009). O Checklist referente ao PRISMA consta no Anexo A.

A recomendação PRISMA orienta a redação de revisões sistemáticas e metanálises por meio de um *checklist* composto por 27 itens e um fluxograma composto por quatro fases (Figura 1). Seu objetivo é auxiliar os autores a melhorar o relato das revisões sistemáticas e metanálises. O foco é em ensaios clínicos randomizados, mas o PRISMA também pode ser usado como uma base para relatos de revisões sistemáticas de outros tipos de pesquisa, particularmente avaliações de intervenções. O *checklist* não é um instrumento para avaliar a qualidade de revisões sistemáticas publicadas, no entanto, também pode ser útil para sua avaliação crítica (MOHER et al, 2009).

O protocolo da revisão sistemática está registrado no *International Prospective Register of Systematic Reviews* (PROSPERO), identificado pelo número de registro CRD42015016035. O protocolo pode ser acessado pelo endereço eletrônico

<http://www.crd.york.ac.uk/PROSPERO/> .

3.3 DEFINIÇÃO DOS CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE

A pergunta que guiou a pesquisa – “Em defeitos periodontais criados artificialmente em animais, quais são os efeitos da aplicação tópica de células-tronco da polpa dental comparado ao não-tratamento na regeneração dos tecidos periodontais?” – foi formulada utilizando a estratégia PICOS (NEEDLEMAN, 2002) que representa o acrônimo descrito no Quadro 1.

Quadro 1 – Descrição da estratégia PICOS para a elaboração da pergunta que guiou a pesquisa. Florianópolis, SC, Brasil, 2016.

Acrônimo	Definição	Descrição
P	Paciente/População (sujeito de pesquisa)	Animais com defeito periodontal criado
I	Intervenção	Aplicação tópica de células-tronco da polpa dental
C	Comparação	Não tratamento
O	<i>Outcome</i> (desfecho/resultado)	Regeneração
S	<i>Study type</i> (tipo de estudo)	Em animais

Fonte: Elaborado pela própria autora.

Dessa forma, foram selecionados apenas os artigos cujo objetivo foi investigar a ação das células-tronco da polpa dental na regeneração de tecidos periodontais em defeitos criados em animais, comparado ao não tratamento dos defeitos.

Os critérios de inclusão e exclusão foram estabelecidos considerando a pergunta formulada a partir da estratégia PICOS e estão descritos de forma detalhada no Quadro 2.

Publicações que apresentassem informações insuficientes acerca da população incluída no estudo, intervenção avaliada, controle, desfecho e/ou resultados também foram excluídas. Não houve limite estabelecido de tempo.

Quadro 2 – Critérios de inclusão e exclusão segundo estratégia PICOS. Florianópolis, SC, Brasil, 2016.

PICOS	Critérios de inclusão	Critérios de exclusão
P	Animais cujos defeitos periodontais criados artificialmente (por cirurgia ou por ligadura) foram tratados com células-tronco da polpa	Animais cujos defeitos periodontais tenham sido criados por outros métodos
I	Grupo intervenção que avalie a ação do uso tópico de células-tronco da polpa	Intervenção não tópica das células-tronco da polpa (administrada por via sistêmica)
C	Grupo controle/comparação sem aplicação de célula-tronco da polpa	Grupo controle/comparação com aplicação de outro tipo de célula-tronco
O	Regeneração periodontal (cimento, PDL e osso)	Avaliação da regeneração de um único tecido: ósseo, cimento ou ligamento periodontal
S	(1) Estudos comparativos, ensaios clínicos controlados randomizados, ensaios clínicos controlados sem randomização, ensaios clínicos autocontrolados, dissertações e teses (2) Estudos publicados em qualquer idioma	Estudos observacionais, descritivos, retrospectivos, revisões, relatos de caso, resumos apresentados em congressos e conferências, protocolos de estudos, cartas ao editor, opiniões pessoais, capítulos de livros e manuais institucionais

Fonte: Elaborado pela própria autora.

3.4 PESQUISA EM BASE DE DADOS

Foram desenvolvidas estratégias de busca individuais para cada uma das seguintes bases de dados bibliográficos: *US National Library of Medicine National Institutes of Health* (PubMed), Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), Scopus, Web of Science.

3.4.1 PubMed

PubMed é um recurso livre desenvolvido e mantido pelo

National Center for Biotechnology Information (NCBI), integrante da *U.S. National Library of Medicine (NLM)*, localizado no *National Institutes of Health (NIH)*. PubMed compreende mais de 25 milhões de citações de literatura biomédica do MEDLINE, revistas de ciências da vida, e livros online. Citações PubMed e resumos incluem os campos da biomedicina e da saúde abrangendo porções das ciências da vida, ciências comportamentais, ciências químicas e bioengenharia. PubMed também fornece acesso a *web sites* adicionais relevantes e *links* para outros recursos de biologia molecular NCBI (PUBMED 2016).

Seu acesso é gratuito e pode ser realizado por meio da plataforma disponível no endereço: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>.

3.4.2 LILACS

É uma base de dados criada em 1982 que supre a falta de cobertura das grandes bases de dados no que diz respeito às revistas e jornais da região, dando visibilidade internacional a estas publicações e viabilizando o acesso ao conteúdo por meio de fotocópias dos artigos (LILACS, 2016). Os termos utilizados para busca podem ser encontrados acessando ao DeCS- Descritores em Ciências da Saúde nos idiomas português, espanhol e inglês.

Seu acesso é aberto e pode ser realizado pelo portal da Biblioteca Regional de Medicina (BIREME) por meio do endereço eletrônico: <http://www.bireme.br/php/index.php> ou ainda por acesso direto pelo site <http://lilacs.bvsalud.org/>.

3.4.3 Scopus

É a maior base de dados de resumos e citações de literatura científica revisada por pares. O acervo da base ultrapassa 21 mil periódicos, 5 mil editores internacionais, 24 milhões de patentes, além de outros documentos (SCOPUS, 2016).

Assim como outras bases, o conteúdo é assinado e disponível por meio do Portal de Periódicos CAPES/MEC (<http://www.periodicos.capes.gov.br/>) apenas para as instituições participantes que possuam IP identificador para acesso. O acesso à base pode ser realizado também pelo endereço <http://www.scopus.com>.

3.4.4 Web of Science

Seu acervo conta com mais de 9000 periódicos indexados (WEB

OF SCIENCE, 2016). A consulta à Principal Coleção da Web of Science oferece ferramentas para realização de análises bibliométricas, permitindo, por exemplo, a avaliação do número de citações para cada referência. O acesso à Principal Coleção da Web of Science pode ser feito por meio do Portal de Periódicos CAPES/MEC que possui assinatura junto à *Thomson Reuters Scientific*, viabilizando o acesso a referências e resumos em todas as áreas do conhecimento.

3.4.5 Literatura cinzenta

Adicionalmente, foi realizada busca na literatura cinzenta, etapa recomendada na execução das revisões sistemáticas (NEEDLEMAN, 2002), utilizando o ProQuest *Dissertations and Theses database*.

3.4.5.1 ProQuest *Dissertations and Theses database*

A ProQuest *Dissertations and Theses database* foi fundada em 1938, e apresenta coleção com 5 bases de dados (ProQuest Health and Medical Complete, ProQuest Nursing & Allied Health Source, ProQuest Health Management, ProQuest Psychology Journals e ProQuest Family Health) compondo a ProQuest Hospital Collection (PROQUEST, 2016). Em seu acervo existem periódicos da área da saúde, dissertações e recursos baseados em evidências (PROQUEST, 2016).

Seu acesso pode ser realizado pelo site <http://search.proquest.com/>.

Realizou-se busca manual nas listas de referências dos artigos selecionados para identificação de referências adicionais que poderiam ter sido perdidas nas bases de dados eletrônicas.

3.5 BUSCA

A busca foi feita utilizando-se descritores que atingissem o maior número de publicações que abordassem a pergunta da pesquisa. Os descritores foram identificados por meio do *Medical Subject Headings* (MESH) (para busca no PubMed, Scopus e Web of Science) e do Descritores em Ciências da Saúde (DECS) (para busca no LILACS). As palavras-chave foram identificadas em artigos, previamente conhecidos, que abordavam o tema de interesse do estudo.

Os termos identificados foram inseridos na plataforma de busca do PubMed como forma de teste, com o objetivo de selecionar e identificar novas palavras ou expressões que reportassem à pesquisa. Os

termos foram inseridos sem uso de aspas nessa etapa inicial, a fim de resgatar todos os termos, suas combinações e sua classificação (Mesh terms, All fields) no resultado da busca detalhada. Os termos utilizados para busca e seus resultados detalhados estão apresentados no Quadro 3.

Após escolha e conferência de todos os termos identificados para composição da estratégia de busca, foram realizados os cruzamentos para busca em cada base de dados com auxílio de uma bibliotecária.

Quadro 3 – Termos utilizados para busca e resultados detalhados. Florianópolis, SC, Brasil, 2016.

Categoria da estratégia PICO	Termos de Busca
“I” Intervenção	Search (("stem cells"[MeSH Terms] OR ("stem"[All Fields] AND "cell"[All Fields]) OR "stem cell"[All Fields] OR ("stem"[All Fields] AND "cells"[All Fields]) OR "stem cells"[All Fields] OR ("mesenchymal"[All Fields] AND "stem"[All Fields] AND "cell"[All Fields]) OR "mesenchymal stem cell"[All Fields] OR ("mesenchymal"[All Fields] AND "stem"[All Fields] AND "cells"[All Fields]) OR "mesenchymal stem cells"[All Fields]) AND ("dental pulp"[MeSH Terms] OR ("dental"[All Fields] AND "pulp"[All Fields]) OR "dental pulp"[All Fields]))
“O” Outcomes	Search (("regeneration"[MeSH Terms] OR "regeneration"[All Fields] OR regenerative[All Fields] OR "reconstructive surgical procedures"[MeSH Terms] OR "reconstructive"[All Fields] OR "reconstruction"[All Fields] OR "wound healing"[MeSH Terms] OR "repair"[All Fields] OR "healing"[All Fields] OR "tissue engineering"[MeSH Terms] OR ("tissue"[All Fields] AND "engineering"[All Fields]) OR "tissue engineering"[All Fields]) AND ("periodontium"[MeSH Terms] OR "periodontium"[All Fields] OR periodontal[All Fields] OR ("periodontal"[All Fields] AND "tissue"[All Fields]) OR "periodontal tissue"[All Fields]))

Fonte: Elaborado pela própria autora.

Nessa etapa, utilizaram-se aspas para todos os descritores, exceto naqueles empregados no LILACS. Para as duas categorias (“I” e “O”) da estratégia PICO foram cruzados descritores utilizando-se o operador booleano OR quando se tratava de descritores sinônimos, e o operador booleano AND quando tratava-se de outro descritor. A busca final resultou do cruzamento entre “I” AND “O”.

Optou-se por não fazer inclusão da categoria “P” e “C” da

estratégia PICO no momento da busca para minimizar a chance de excluir publicações que por ventura não tivessem incluído a palavra “animal” em seu texto, mas sim o modelo experimental usado, por exemplo rato ou cão (categoria “P”). Da mesma maneira, artigos que não tivessem mencionado o termo “grupo controle sem tratamento” teriam sido excluídos (categoria “T”). A triagem destas duas categorias foi feita manualmente por meio da leitura dos artigos selecionados.

Para o PubMed, os termos no singular foram cruzados com o termo similar no plural por apresentarem resultados diferentes. Os termos identificados como *Mesh terms* foram buscados de duas formas, inicialmente como *Mesh terms* e, após, como *All fields*. Nenhum limite foi aplicado para a busca e todos os cruzamentos foram construídos na ferramenta “busca avançada”. A estratégia de busca final realizada para o PubMed está identificada na Tabela 1.

A busca realizada nas bases Scopus e Web of Science podem ser visualizadas nas Tabelas 2 e 3 respectivamente.

As buscas na literatura cinzenta foram realizadas no ProQuest *Dissertations and Theses database* (Tabela 4).

3.6 SELEÇÃO DOS ESTUDOS

Os resultados obtidos da busca na base de dados foram exportados para o EndNote basic (©2015 THOMSON REUTERS), versão online do gerenciador de referências. Todas as duplicatas foram removidas. Os títulos e resumos foram analisados de forma independente por dois revisores (C.S. e M.N.)*. Nessa etapa todos os artigos que não correspondiam aos critérios de inclusão foram excluídos. Caso houvesse alguma divergência entre os autores, quanto da inclusão do artigo, um terceiro revisor foi consultado (M.M.R.C)**.

Alguns títulos e resumos apresentaram informações parciais, insuficientes para aplicação dos critérios de inclusão e/ou exclusão, sendo assim os artigos selecionados foram analisados na íntegra por dois revisores. Se necessário, o terceiro revisor era igualmente consultado para avaliação dos pontos em desacordo na seleção dos artigos.

* Cintia Schiochett e Miguel Noronha

** Mabel Mariela Rodriguez Cordeiro

3.7 COLETA DE DADOS

Dois examinadores extraíram de cada artigo selecionado as seguintes informações: autor(es), título, ano de publicação, periódico, tamanho da amostra, área do defeito periodontal criado nos animais, objetivo, método, intervenção, comparação, tempo de duração do estudo, desfechos, resultados e principal conclusão.

Todas as informações foram cruzadas. As divergências foram resolvidas por discussão e acordo mútuo entre os dois revisores. Novamente, caso não houvesse consenso entre as informações coletadas pelos dois primeiros revisores, o terceiro revisor foi consultado para decisão definitiva.

O protocolo de revisão sistemática sugere que caso algum dado de interesse para o desenvolvimento da revisão não esteja disponível, sejam feitas tentativas de contato com os autores para recuperar alguma informação inexistente pertinente. Nesta pesquisa não houve necessidade de contatar nenhum autor.

Tabela 1 - Estratégia de busca final realizada na base PubMed. Florianópolis, SC, Brasil, 2016.

Busca	Estratégia de busca
#3	#1 AND #2 Search (("regeneration"[MeSH Terms] OR "regeneration"[All Fields] OR regenerative[All Fields] OR "reconstructive surgical procedures"[MeSH Terms] OR "reconstructive"[All Fields] OR "reconstruction"[All Fields] OR "wound healing"[MeSH Terms] OR "repair"[All Fields] OR "healing"[All Fields] OR "tissue engineering"[MeSH Terms] OR ("tissue"[All Fields] AND "engineering"[All Fields]) OR "tissue engineering"[All Fields]) AND ("periodontium"[MeSH Terms] OR "periodontium"[All Fields] OR periodontal[All Fields] OR ("periodontal"[All Fields] AND "tissue"[All Fields]) OR "periodontal tissue"[All Fields]))
#2	Search (("stem cells"[MeSH Terms] OR ("stem"[All Fields] AND "cell"[All Fields]) OR "stem cell"[All Fields] OR ("stem"[All Fields] AND "cells"[All Fields]) OR "stem cells"[All Fields] OR ("mesenchymal"[All Fields] AND "stem"[All Fields] AND "cell"[All Fields]) OR "mesenchymal stem cell"[All Fields] OR ("mesenchymal"[All Fields] AND "stem"[All Fields] AND "cells"[All Fields]) OR "mesenchymal stem cells"[All Fields]) AND ("dental pulp"[MeSH Terms] OR ("dental"[All Fields] AND "pulp"[All Fields]) OR "dental pulp"[All Fields]))
#1	

Fonte: Elaborado pela própria autora.

Tabela 2 - Estratégia de busca final realizada na base Scopus. Florianópolis, SC, Brasil, 2016.

Busca	Estratégia de busca	Itens encontrados
#3	#1 AND #2	157
#2	(Regenerat* OR reconstruct* OR repair OR healing OR (tissue w/5 engineer*) AND (Periodont*))	
#1	((stem W/5 cell) OR (mesenchymal W/5 stem W/5 cell)) AND (dental W/5 pulp))	

Fonte: Elaborado pela própria autora.

Tabela 3 - Estratégia de busca final realizada na base Web of Science. Florianópolis, SC, Brasil, 2016.

Busca	Estratégia de busca	Itens encontrados
#3	#1 AND #2	234
#2	Regenerat* OR reconstruct* OR repair OR healing OR (tissue AND engineer*) AND Periodont*	
#1	(stem AND cell*) OR (mesenchymal AND stem AND cell*) AND dental AND pulp	

Fonte: Elaborado pela própria autora.

Tabela 4 - Estratégia de busca final realizada no ProQuest *Dissertations and Theses database*. Florianópolis, SC, Brasil, 2016.

Busca	Estratégia de busca	Itens encontrados
#3	#1 AND #2	444
#2	regeneration OR regenerative OR reconstruct* OR repair OR healing OR (tissue AND engineer*) AND periodontium OR periodontal	
#1	(stem AND cell*) OR (mesenchymal AND stem AND cell*) AND dental AND pulp	

Fonte: Elaborado pela própria autora.

3.8 RISCO DE VIÉS DOS ESTUDOS INCLUÍDOS

3.8.1 Risco de viés

Para avaliação do risco de viés dos estudos em animais foi aplicada a ferramenta SYRCLE disponibilizada pela *SYRCLE at Central Animal Laboratory*^{*}, que viabiliza a avaliação do risco de viés segundo os critérios: alocação aleatória (viés de seleção), similaridade nos grupos (viés de seleção), cegamento de participantes e profissionais (viés de performance), cegamento de avaliadores de desfecho (viés de detecção), desfechos incompletos (viés de atrito), relato de desfecho seletivo (viés de relato) e outras fontes de viés (outros viéses) (HOOIJMANS et al, 2014), conforme quadro para análise do risco de viés disponível no Anexo 1.

A ferramenta sugere 10 perguntas que devem ser aplicadas aos artigos incluídos na RS cujas respostas podem ser “SIM” para baixo

^{*} Radboud University Medical Center, Nijmegen, the Netherlands.

risco de viés; “NÃO” para alto risco de viés e - “?” (*unclear*) para risco de viés incerto (HOOIJMANS et al, 2014).

A avaliação do risco de viés e da qualidade metodológica dos estudos foi realizada por dois revisores, de forma independentemente. Quaisquer desacordos entre os revisores (C.S e M.N)* foram resolvidos por discussão e consenso, ou ainda por intermédio de terceiro revisor M.M.R.C)** , quando necessário.

* Cintia Schiochett e Minguel Noronha

** Mabel Mariela Rodriguez Cordeiro

Resultados

4 RESULTADOS

4.1 SELEÇÃO DOS ESTUDOS

Ao final da busca eletrônica nas bases de dados 1007 referências foram encontradas. Após remoção das duplicatas, 799 estudos foram avaliados por meio da leitura de títulos e resumos. A avaliação resultou na seleção de 09 estudos. Identificou-se 01 estudo por meio da busca manual nas listas das referências. Sendo assim foram selecionados 10 estudos que foram lidos na íntegra para seleção final da amostra. Esse processo levou à exclusão de 08 estudos (Tabela 5) e à seleção final de 02 artigos que atenderam aos critérios de elegibilidade. O fluxograma detalhado do processo de seleção, inclusão e exclusão dos estudos é apresentado na Figura 1.

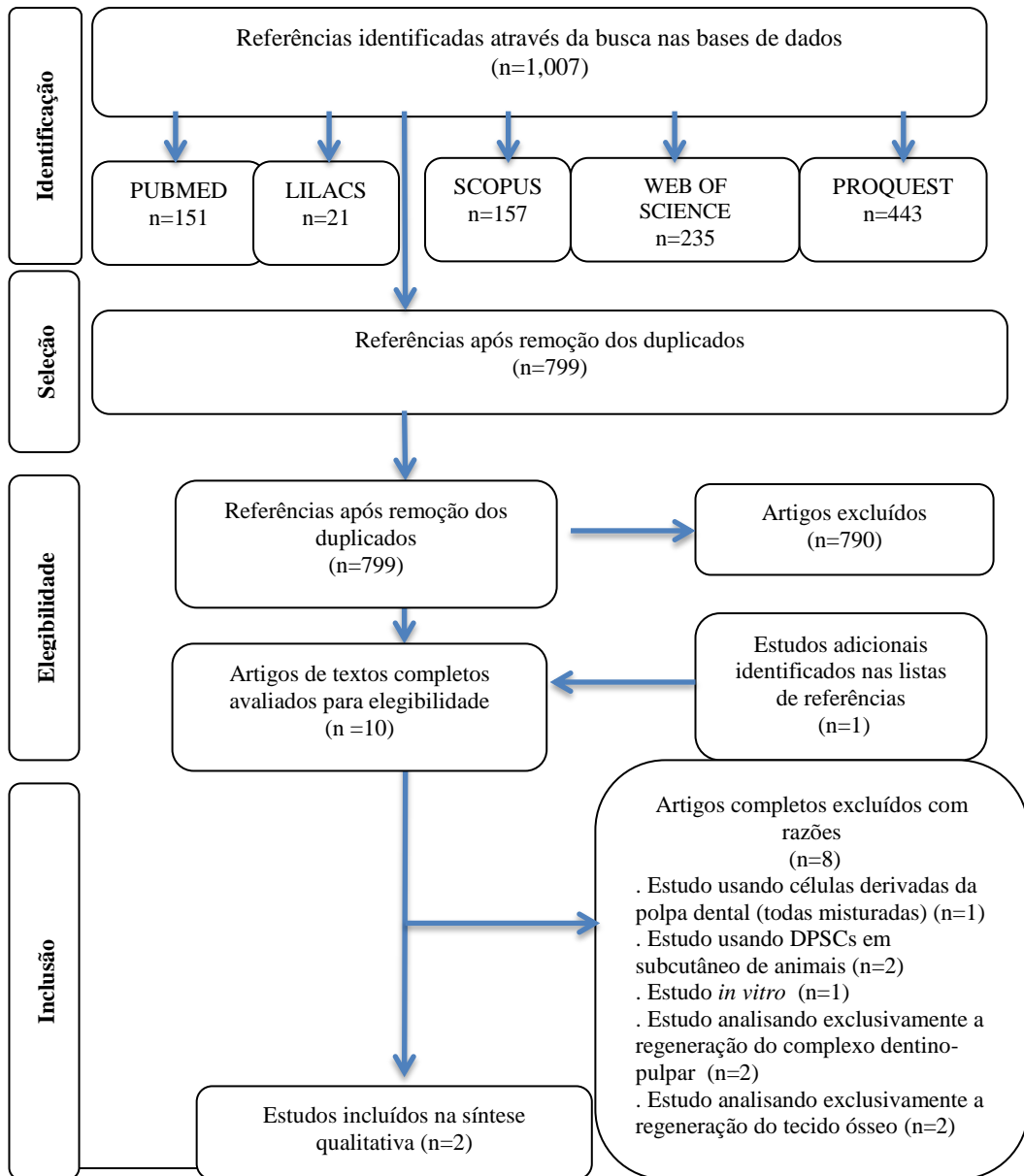
Tabela 5 - Artigos excluídos e razão da exclusão

Autor (Ano)	Razão da exclusão
Xu, L et al (2009)	1.
Ikeda H et al (2011) Zhang W et al (2006)	2.
Navabazam AR et al (2013)	3.
Shi S et al (2005) Wei FL et al (2013)	4.
Liu HC et al (2011) Zheng Y et al (2009)	5.

Fonte: Elaborado pela própria autora.

1. Estudo usando células derivadas da polpa dental (todas misturadas).
2. Estudo usando transplantação de DPSCs em subcutâneo de animais.
3. Estudo *in vitro*.
4. Estudo analisando exclusivamente a regeneração do complexo dentino-pulpar.
5. Estudo analisando exclusivamente a regeneração do tecido ósseo.

Figura 1 – Fluxograma de busca dos artigos da revisão sistemática e critérios de seleção.*



* Adaptado do PRISMA.

Fonte: elaborado pela própria autora

4.2 CARACTERÍSTICAS DOS ESTUDOS

Dois estudos preencheram os critérios de elegibilidade e foram incluídos na síntese qualitativa (PARK et al, 2011, KHORSAND et al, 2013). Os trabalhos foram publicados em dois periódicos, sendo eles "*Cell Transplantation*" e *Journal of Oral Implantology*", respectivamente.

O Quadro 4 apresenta os artigos incluídos na revisão.

Quadro 4 – Artigos incluídos na revisão. Distribuição segundo autor, ano, título e país de origem. Florianópolis, SC, Brasil, 2016.

Autor, ano	Título	País
PARK et al, 2011	Efficacy os periodontal stem cell transplantation in the treatment of advanced periodontitis	República da Coréia
KHORSAND et al, 2013	Autologous dental pulp stem cells in regeneration of defect created in canine periodontal tissue	Iran

Fonte: Elaborado pela própria autora.

No total, 18 cães foram incluídos nestes dois estudos sendo 8 em Park et al (2011) e 10 em Khorsand et al (2013). O tipo de defeito e sua localização variou entre os dois experimentos. Um resumo das características principais dos estudos selecionados pode ser observado na Tabela 6.

A origem das células-tronco foi autóloga em ambos os estudos.

As células-tronco utilizadas por Park et al (2011) foram isoladas e expandidas a partir de três tecidos dentais a saber, PDLSCs (células tronco do ligamento periodontal), DPSCs (células tronco da polpa dental) e PAFSCs (células tronco do folículo periapical) oriundos dos segundos molares superiores ou terceiros molares inferiores de cada cão. O desenvolvimento radicular dos dentes estava incompleto. A expressão do CD146* determinada por RT-PCR** e a expressão do STRO-1*** obtida por imunofluorescência comprovaram que se tratava

* Marcador de célula tronco mesenquimal. Células mesenquimais com elevado potencial de diferenciação expressam altos níveis de CD146 na superfície celular (RUSSEL et al, 2010).

** Reverse transcription polymerase chain reaction: técnica utilizada para detectar expressão de RNA.

*** Marcador de célula tronco mesenquimal.

de células-tronco para os três tipos celulares com capacidade de se diferenciarem em diferentes fenótipos. A equipe de pesquisadores criou, artificialmente, defeitos cirúrgicos circunferenciais em torno da raiz mesial de pré-molares (segundo e quarto pré-molares inferiores), com envolvimento apical da raiz. Os três tipos de células-tronco, individualmente, foram transplantados nos defeitos. Um dos primeiros molares inferiores formou o grupo controle positivo (sem defeito), enquanto que o grupo controle negativo (com defeito e sem células-tronco) e três grupos teste (que receberam individualmente os três tipos de células-tronco) foram determinados aleatoriamente entre os quatro pré-molares, totalizando 5 grupos de avaliação. Não foi utilizado nenhum tipo de arcabouço. Os autores avaliaram perda de inserção e profundidade de sondagem em três períodos de tempo, no momento da criação do defeito (-4 semanas), no momento do transplante de células (0 semanas), e 8 semanas após o transplante (+8 semanas).

Khorsand et al (2013) isolaram somente células-tronco da polpa dental. Para isso, coletou-se tecido pulpar de dois pré-molares superiores extraídos de cada cão. Citometria de fluxo utilizou alguns anticorpos: CD146, CD44*, CD90**, SSEA-4*** e anti-marcador de macrófago. CD146 e anti-marcador de macrófagos foram usados para excluir a origem endotelial e a natureza macrofágica das células, respectivamente. A capacidade de diferenciação celular em outras linhagens foi determinada por detecção de RT-PCR da expressão de genes específicos. O RNA total foi recolhido das células induzidas a diferenciarem-se em linhagens de células de osso, cartilagem e tecido adiposo. A equipe de pesquisadores criou defeitos periodontais de 3 paredes induzidos por ligadura nos primeiros pré-molares inferiores dos cães, totalizando 2 grupos de avaliação: teste e controle. O transplante de células ocorreu 4 semanas após a indução do defeito. O grupo teste recebeu DPSCs associado a osso xenógeno liofilizado, Bio-Oss®**** e o grupo controle recebeu somente Bio-Oss®. A regeneração de tecido ósseo, ligamento periodontal e cimento foi avaliada, histológica e histomorfometricamente, 8 semanas após as cirurgias.

* CD44 é um marcador de célula-tronco mesenquimal (MSC) utilizado para assegurar que a célula seja da população das MSCs.

** CD90 é um marcador de célula-tronco mesenquimal (MSC) utilizado para assegurar que a célula seja da população das MSCs.

*** SSEA-4 é um marcador de células-tronco embrionárias utilizado para examinar pluripotência das células isoladas.

**** Osso xenógeno liofilizado -Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Suíça.

4.3 RISCO DE VIÉS NOS ESTUDOS INDIVIDUAIS

Para avaliação do risco de viés dos estudos em animais foi aplicada a ferramenta SYRCLE disponibilizada pela *SYRCLE at Central Animal Laboratory* (HOOIJMANS et al, 2014). O risco de viés foi avaliado de forma individual em cada estudo. Os dois estudos incluídos preencheram os critérios para serem classificados como sendo de baixo risco de viés (Quadro 5).

4.4 RESULTADOS DOS ESTUDOS INDIVIDUAIS

No estudo de Park et al (2011), nenhuma diferença entre os grupos foi verificada em relação à perda de inserção no tempo de 4 semanas antes da cirurgia (-4 semanas). No momento da cirurgia (0 semanas), não houve diferença significativa na perda de inserção e profundidade de sondagem entre o grupo controle negativo e os grupos que receberam células-tronco. Oito semanas após a cirurgia (+8 semanas), as diferenças na perda de inserção e profundidade de sondagem foram estatisticamente significativas entre os 5 grupos. As células-tronco do ligamento periodontal mostraram os melhores resultados, tanto na perda de inserção ($4,03 \text{ mm} \pm 0,84$) como na profundidade de sondagem ($2,88 \text{ mm} \pm 0,75$), apenas sendo ultrapassado pelo grupo controle positivo (grupo que não passou por cirurgia e tratamento). O defeito no grupo das DPSCs (ganho de $0,35 \text{ mm}$) foi quase o mesmo observado no grupo de controle negativo (ganho de $0,4 \text{ mm}$), não mostrando nenhum benefício na utilização destas células.

Tabela 6: Distribuição dos estudos selecionados segundo autor, ano, animais (número- N, idade e número- N de defeitos criados), tipo de defeito, origem e quantidade de células, arcabouço, objetivo, tipo de regeneração periodontal e principal conclusão. Florianópolis, SC, Brasil, 2016.

Autor (Ano)	N- Animais/ Idade em meses/ N- Defeitos	Tipo de defeito	Origem da célula/ quantidade e usada	Arcabouço	Objetivo	Tipo de regeneração periodontal	Principal conclusão
Park et al (2011)	8-cães (beagle)/10 /32	Um defeito circunferencial de 3mm realizado com broca foi criado ao redor da raiz mesial dos 2 e 4 pré-molares inferiores direito e esquerdo de cada cão. A raiz ficou isolada do osso alveolar. Os 1 molares foram o controle positivo (sem defeito criado) e negativo (com defeito mas sem tratamento). As raízes dentro do defeito criado foram raspadas e alisadas para remover toda fibra de ligamento periodontal e cimento. Os defeitos foram preenchidos com material de moldagem para induzir resposta inflamatória e prevenir a reparação tecidual espontânea.	DPSCs* / 6x10 ⁶ PDLSCs** / 6x10 ⁶ PAFSCs*** / 6x10 ⁶	Nenhum	Avaliar a eficácia do transplante de células tronco da polpa dental na doença periodontal avançada.	Após 8 semanas diferenças na perda de inserção (PI) e profundidade de sondagem (PS) foram estatisticamente significantes entre os 5 grupos, com o grupo que utilizou PDLSCs** apresentando os melhores resultados tanto na PI (4.03 mm ± 0.84) como na PS (2.88 mm ± 0.75), somente sendo superado pelo grupo controle positivo. O defeito remanescente do grupo que utilizou DPSCs* foi quase o mesmo que o observado no grupo controle negativo sem	A análise estatística indicou que o uso de PDLSC melhorou significativamente a regeneração do tecido periodontal em comparação aos grupos com DPSC bem como ao grupo controle negativo sem tratamento (p <0,0001)

						tratamento.	
Khorsan d et al (2013)	10-cães (mongrel)/ 12-24/20	Osso alveolar foi removido com uma broca, e um defeito cirúrgico foi criado bilateralmente na raiz mesial dos primeiros pré-molares inferiores. Dimensões do defeito: 3mm no sentido vestibulo-lingual, 5 milímetros apico-coronal, e 8 milímetros méso-distal. A superfície da raiz foi raspada com uma broca esférica para assegurar a remoção do cimento e ligamento periodontal. Dois entalhes, uma no nível da crista do osso e o outro no ápice do defeito, foram feitas sobre a superfície de raiz.	DPSCs* / 2x10 ⁷	Bio-Oss® (Geistlich, Osteohealth Biomaterials, Bern, Switzerland)	Examinar o potencial das DPSCs associado a biomateriais na promoção da regeneração do periodonto em periodontite e criada experimentalmente.	Não houve diferença significativa na formação de osso entre os grupos teste (Bio-Oss® DPSC + *) e o controle (Bio-Oss®). A formação de novo cimento no grupo teste foi de 3,83 ± 1,32 mm comparado aos 2,42 ± 1,40 mm no grupo controle, que foi estatisticamente significativa (P <0,05). Em relação à formação de PDL, o valor médio foi de 3,30 ± 1,12 mm para o grupo teste e 1,77 ± 1,27 mm para os grupos controle (P <0,05).	DPSC associadas ao Bio-Oss® são uma excelente alternativa. São necessárias pesquisas adicionais nesta área.

*Células tronco da polpa dental. **Células tronco do ligamento periodontal. ***Células tronco do folículo periapical.

Fonte: Elaborado pela própria autora

Quadro 5: Avaliação dos autores sobre cada item do risco de viés para os estudos incluídos. Florianópolis, SC, Brasil, 2016.

Signaling questions	Park et al 2011	Khorsand et al 2013
1. Was the allocation sequence adequately generated and applied?	yes	yes
2. Were the groups similar at baseline?	yes	yes
3. Was the allocation to the different groups adequately concealed during?	yes	yes
4) Were the animals randomly housed during the experiment?	?	?
5) Were the caregivers and/or investigators blinded from knowledge which intervention each animal received during the experiment?	?	?
6) Were animals selected at random for outcome assessment?	?	?
7) Was the outcome assessor blinded?	?	?
8) Were incomplete outcome data adequately addressed?	yes	yes
9) Are reports of the study free of selective outcome reporting?	yes	yes
10) Was the study apparently free of other problems that could result in high risk of bias?	yes	yes

yes = low risk of bias; no = high risk of bias; ? = unclear risk of bias

Fonte: Quadro sugerido pelos autores Hooijmans et al 2014

Por outro lado, Khorsand et al (2013) relataram que as DPSCs aumentaram a formação de novo cemento e ligamento periodontal mas não influenciaram na formação de novo osso alveolar. Neste estudo, o valor médio de formação óssea ao utilizar DPSCs foi de 3,60 mm ± 1,06 e 3.10 mm ± 0,82 nos grupos controle, que não foi significativa. No entanto, a formação de novo cemento (3,83 mm ± 1,32) e ligamento periodontal (3,30 mm ± 1,12) nos grupos teste foi estatisticamente significativa, quando comparado com aos grupos controle (formação de cemento foi de 2,42 mm ± 1,40 e de ligamento periodontal foi de 1,77 mm ± 1,27) (P <0,05).

Uma meta-análise não foi realizada porque o tipo de defeito nos dois estudos foi diferente. Um estudo (Khorsand et al. 2013) avaliou

apenas DPSCs associadas a um biomaterial, enquanto o outro investigou DPSCs, PDLSCs e PAFSCs sem uso de arcabouço (Park et al. 2011). Além disso, os parâmetros avaliados foram diferentes entre os estudos.

Discussão

5 DISCUSSÃO

Esta revisão sistemática identificou e analisou as evidências científicas disponíveis sobre estudos pré-clínicos em animais que avaliaram o efeito das DPSCs na regeneração do osso alveolar, cimento e PDL em defeitos periodontais criados artificialmente.

As doenças periodontais e a cárie dentária são as principais doenças infecciosas crônicas da cavidade oral e as mais importantes causas de perda dental em humanos (ALBANDAR, 2005). As doenças periodontais incluem um grupo de doenças com respostas inflamatórias que afetam os tecidos que circundam os dentes. A gengivite é uma doença inflamatória restrita aos tecidos moles, não destrutiva e reversível quando tratada. No entanto, quando não cuidada pode evoluir para uma doença inflamatória e destrutiva chamada periodontite. A periodontite é acompanhada pela migração apical do epitélio juncional, destruição da inserção conjuntiva e perda de osso alveolar (FLEMMIG, 1999).

O tratamento convencional da periodontite inclui controle de biofilme, raspagem e alisamento radicular. Estas terapias periodontais podem paralisar a evolução da doença, sem, no entanto, regenerar tecidos danificados e perdidos pelo processo inflamatório (CHRISTGAU et al, 2006). A regeneração tecidual guiada, a utilização de fatores de crescimento e agentes moduladores do hospedeiro, em situações clínicas específicas, podem ser eficazes na reconstrução de tecidos periodontais (CHRISTGAU et al, 2006; CHEN et al, 2012).

O objetivo final da terapia periodontal regenerativa é a regeneração simultânea de novo cimento, PDL (inserido no cimento novo), e osso alveolar, isto é, a restauração do periodonto ao estado morfológico e funcional que existia antes do aparecimento da doença. Para isso, conexões apropriadas precisam ser estabelecidas entre os tecidos recém regenerados, incluindo ligações de fibras de Sharpey entre o PDL e a raiz do dente, bem como entre o osso alveolar e o PDL. Este processo requer a migração, proliferação e diferenciação de células periodontais na ferida periodontal (McCULLOCH & BORDIN, 1991).

A Engenharia Tecidual integra um campo interdisciplinar emergente no qual se aplicam os princípios da engenharia e das ciências da vida para o desenvolvimento de substitutos biológicos (DISCHER et al, 2009). Os três componentes essenciais na engenharia tecidual incluem i) uma população de células multipotentes

tronco/progenitoras, ii) a presença de moléculas indutoras e iii) um arcabouço condutor (SRISUWAN et al, 2006).

A célula-tronco é definida pela sua capacidade de auto-renovação, proliferação extensiva e potencial de diferenciação em células funcionais de linhagens diferentes. Populações de células-tronco foram identificadas e caracterizadas a partir de uma ampla variedade de tecidos e diferem entre si na capacidade de diferenciação. Algumas células-tronco têm o potencial para se diferenciarem em todos os tipos de tecidos do corpo (totipotentes, por exemplo: ovo fertilizado), enquanto que outras diferenciam-se em um número limitado de tecidos (CHRISTGAU et al, 2006). Células-tronco mesenquimais são multipotentes (exibem potencial de diferenciação em várias células, porém em número limitado de linhagens); apresentam aderência ao plástico e um padrão de expressão de antígenos de superfície específicos (DOMINICI et al, 2006).

Diferentes tipos de células-tronco derivadas de tecido dental podem ser utilizados para regeneração de defeitos periodontais. As células-tronco mais estudadas são as PDLSCs, as isoladas da papila apical e as DPSCs. Apesar das PDLSCs mostrarem-se promissoras para regenerar tecidos periodontais, provavelmente devido ao comprometimento com o seu tecido de origem (AKIZUKI et al, 2005; LIU et al, 2008), a disponibilidade e a quantidade de células que podem ser obtidas a partir do ligamento periodontal pode, por vezes, ser um problema. Portanto, as DPSCs podem ser uma alternativa terapêutica.

Os dois estudos incluídos na revisão sistemática tiveram resultados diferentes em relação à utilização da DPSCs. Park et al (2011) observaram diferenças significativas na perda de inserção e profundidade de sondagem entre os grupos tratados com diferentes tipos de células-tronco. As PDLSCs apresentaram melhores resultados na restauração de perda de inserção e profundidade de sondagem quando comparadas ao uso de outras células-tronco e ao grupo controle negativo. As DPSCs demonstraram o mesmo resultado que o grupo controle negativo: superfície radicular desnuda e circundada por tecido de granulação. Diferentemente deste resultado, Khorsand et al (2013), compararam as DPSCs com o grupo controle e relataram que as DPSCs contribuíram na formação de novo cemento e PDL mas não influenciaram na formação de novo osso alveolar.

É importante destacar que a principal diferença entre os estudos é que Park et al (2011) utilizaram as células-tronco no defeito sem associação de qualquer arcabouço, enquanto Khorsand et al (2013)

utilizaram um biomaterial (Bio-Oss®), que exerceu a função de arcabouço, associado às células-tronco da polpa. O arcabouço é um dos alicerces da engenharia tecidual (SRISUWAN et al, 2006), podendo servir apenas como um suporte para as células ou também fornecendo fatores indutores de diferenciação celular e/ou organização tecidual. O Bio-Oss® pode ter impedido a dispersão das células-tronco para fora do defeito enquanto mantinha o espaço criado sob o retalho mucoperióstico. É importante relatar que Bio-Oss® apresenta propriedades osteocondutoras (BERGLUNDH & LINDHE, 1997), mas não têm qualquer propriedade indutora (PINHOLT et al, 1991). Se Park et al (2011) tivessem usado um arcabouço talvez os resultados do estudo tivessem sido diferentes, uma vez que se teria completado a tríade da engenharia tecidual, ou seja, células, arcabouço e moléculas indutoras.

No estudo de Park et al (2011), o melhor resultado de regeneração do defeito periodontal foi obtido com PDLSCs. Este fato pode estar relacionado ao comprometimento destas células com seu tecido de origem, isto é, o ligamento periodontal. Isso, associado à ausência de um arcabouço, podem ser os fatores responsáveis pelas diferenças observadas nos resultados entre os tipos de células-tronco utilizados. Sabe-se que as células-tronco/progenitoras servem como fontes de novas células dentro de um tecido, a fim de substituir células maduras perdidas ou danificadas. Portanto, as PDLSCs podem ter tido um comprometimento prévio aos tecidos periodontais e, talvez, necessitado de menos estímulo indutor para se diferenciarem em células maduras especializadas do ligamento periodontal, ou necessitado de menos sinalização para se manterem como células do ligamento periodontal dentro do defeito. Por outro lado, outros tipos de células-tronco podem precisar de mais estímulo para se diferenciarem em células do tecido periodontal, ou mesmo mais indução quimiotática ou sinalização por tropismo para migrarem para as posições corretas no interior do tecido recém formado, ou para evitar dispersão de células para fora da área de regeneração.

É também importante salientar que as células-tronco apresentam propriedades imunomoduladoras e anti-inflamatórias (ZHANG et al, 2009). Elas evitam a formação de tecido de granulação associado ao processo inflamatório. Tomado isto em consideração, a presença de células-tronco na lesão periodontal pode não só influenciar positivamente a regeneração dos tecidos, mas também controlar o processo inflamatório associado à doença periodontal, desde que os fatores etiológicos estejam controlados. Portanto, o uso

de um arcabouço pode ajudar a modular a inflamação e melhorar a resposta imune do hospedeiro uma vez que mantém as células-tronco no local desejado, evitando a dispersão das células para outros sítios do hospedeiro onde um outro processo inflamatório possa estar estabelecido. Além disso, a prevenção da formação de tecido de granulação é importante em qualquer regeneração de tecido. Na regeneração periodontal, a ausência de tecido de granulação permite que as células-tronco estejam em contato próximo à superfície radicular, a fim de estimular a diferenciação celular e a organização tecidual.

A utilização de biomaterial na regeneração periodontal pode agir como barreira evitando que o tecido de granulação tenha contato com as raízes durante o processo de cicatrização (GOTTLOW et al, 1984; EICKHOLZ, 1998) e impedindo a migração apical do epitélio. A migração de células epiteliais ao longo da superfície apical da raiz resultará no desenvolvimento de um epitélio juncional longo que por sua vez impede o repovoamento de células do ligamento periodontal. Como afirmado anteriormente, a ausência de tecido de granulação e o contato íntimo das células-tronco com a superfície da raiz podem explicar o estabelecimento apropriado da junção epitelial, com o posicionamento e comprimento adequados. Um dos fatores importantes para a inserção do tecido conjuntivo é o espaço criado sob o retalho mucoperiosteal (KARRING et al, 1993). A quantidade de regeneração óssea e de inserção de tecido conjuntivo é dependente do espaço disponível. Essa afirmação pode explicar também porque Khorsand et al (2013) obtiveram melhores resultados no que diz respeito à regeneração de tecidos periodontais ao fazerem uso de um biomaterial mantenedor de espaço. Park et al não utilizaram arcabouços nem membranas para manutenção do espaço, apesar do volume do *pellet* de células-tronco ter criado algum espaço entre a raiz dental desnuda e o retalho mucoperiosteal.

O tipo e tamanho dos defeitos periodontais e a quantidade de células-tronco usada também foram diferentes entre os estudos. Park et al (2011) criaram artificialmente um defeito periodontal cirúrgico circunferencial de 3mm de largura. Esse tipo de defeito tende a cicatrizar espontaneamente já que não há ação bacteriana interferindo no processo restaurador da ferida, apresentando-se como um processo inflamatório menos complexo. Os autores utilizaram aproximadamente 6×10^6 células em cada defeito. Neste estudo, o número de células foi decidido pelo fato de que o *pellet* celular deveria cobrir completamente a superfície da raiz desnuda e preencher o

defeito, seguindo experimentos preliminares que determinaram o número mínimo de células necessário para alcançar tal condição. Por outro lado, Khorsand et al (2013) criaram artificialmente um defeito periodontal por ligadura de dimensões 3 mm vestibulo-lingual, 5 mm apico-coronal, e 8 mm mésio-distal. Defeitos criados por ligadura não tendem a cicatrizar espontaneamente já que há a participação de bactérias no processo de cicatrização. Neste caso, o processo inflamatório é mais complexo devido à presença da infecção que, por sua vez, mantém o estímulo da resposta inflamatória. Os autores utilizaram aproximadamente 2×10^7 células-tronco de polpa dental transplantadas no defeito. Esse número foi justificado por experiências anteriores para determinar a quantidade de células mínima necessária. A densidade celular utilizada em abordagens de regeneração tecidual é muito importante uma vez que várias células morrem até que a vascularização e nutrição adequadas sejam alcançadas. Quando nenhum arcabouço é utilizado para apoiar tais células muitas delas podem espalhar-se e migrarem para áreas fora da área da regeneração. Neste contexto, no que diz respeito à relação entre o volume do defeito e o número das células (considerando a área total da lesão), Park et al (2011) proporcionalmente implantaram mais células no defeito do que Korshand et al (2013). Em outras palavras, o arcabouço usado por Korsand et al (2013) pode ser o responsável por uma melhor distribuição e manutenção das células no defeito, o que causou um resultado mais satisfatório na regeneração de cimento e ligamento periodontal. Pensando em aplicações clínicas futuras desse tipo de abordagem, o uso de um menor número de células é extremamente relevante, levando em consideração a obtenção do material biológico (tecido fonte, morbidade, etc.), custos relativos à expansão e preparo das células, bem como riscos de infecção e diferenciação espontânea durante a proliferação em cultura celular, dentre outros fatores.

Outro ponto que difere de um estudo para outro, é a escolha dos grupos controle. Park et al (2011) usaram como controle negativo um defeito sem tratamento, e acrescentaram um controle positivo sem defeito. Esses grupos controle permitiram aos autores se certificarem de que as células usadas para o tratamento foram ou não as responsáveis pela regeneração dos tecidos. Por sua vez, Korshand et al (2013) projetaram seus experimentos com um grupo teste (DPSCs com Bio-Oss®) e o grupo controle foi considerado aquele com apenas Bio-Oss®. Como afirmado anteriormente, Bio-Oss® tem propriedades osteocondutoras (BERGLUNDH & LINDHE, 1997) e, portanto, influencia em parte o processo de regeneração. No entanto, uma vez

que estes autores não utilizam um grupo controle negativo, é difícil avaliar se o resultado positivo das DPSCs para regeneração de cemento e ligamento periodontal foi devido às células, ao biomaterial ou a ambos.

O interesse em DPSCs está relacionado ao fato que sua obtenção não requer a extração de um dente. Diferente das células-tronco do ligamento periodontal, as DPSCs podem ser obtidas a partir da polpa mantendo o dente funcional na arcada dentária. Além disso, a quantidade de células-tronco que podem ser isoladas a partir da polpa dentária também é maior em comparação com ao número de células obtidas a partir do ligamento periodontal. Embora haja progressos na engenharia de tecidos periodontais ainda há necessidade de mais estudos, a fim de esclarecer questões como qual é o tipo ideal de defeito periodontal a ser avaliado, se a utilização de arcabouços traz melhores resultados e, em caso afirmativo, qual é o melhor arcabouço, e os resultados relacionados com o tipo e número de células-tronco transplantadas. Um fator muito importante a ser investigado é a participação real das células-tronco na regeneração dos tecidos periodontais e as moléculas de sinalização adequadas que possam ser aplicadas em situações específicas.

Limitações no processo de revisão

O fato de apenas dois artigos preencherem os critérios de inclusão representa uma limitação da literatura. Isto pode ser explicado pela escassez de publicações neste campo e à metodologia rigorosa aplicada à avaliação com critérios muito específicos de elegibilidade. O número de publicações encontradas no ProQuest superou em quase três vezes as publicações do Pubmed, fato esse que explica a novidade da matéria e a carência de publicações. Muitos artigos foram excluídos porque não se adequaram qualitativamente aos critérios de elegibilidade.

Por outro lado, apesar dos resultados da presente revisão sistemática serem limitados, pode-se supor que DPSCs podem ser uma boa alternativa.

Podem surgir algumas dúvidas do ponto de vista clínico a respeito do uso das DPSCs, se é vantajosa a relação custo-benefício. O uso de células-tronco dentais para a regeneração periodontal ainda é um assunto recente e mais pesquisas são necessárias para aplicá-las com segurança e eficácia em estudos humanos.

6 CONCLUSÃO

A partir desta revisão sistemática não é possível inferir que o uso das DPSCs possa ser vantajoso para a regeneração do tecido periodontal, devido à escassez de pesquisas com animais nessa área e aos diferentes desenhos metodológicos dos estudos incluídos. No entanto pode-se supor que existem benefícios no que diz respeito à regeneração dos tecidos periodontais. Pesquisas adicionais são necessárias para verificar o verdadeiro potencial e a verdadeira participação de DPSCs na regeneração de um defeito periodontal.



Referências

7 REFERÊNCIAS

- Akizuki, T., Oda, S., Komaki, M., Tsuchioka, H., Kawakatsu, N., Kikuchi, A., Yamato, M., Okano, T. & Ishikawa, I. (2005) Application of periodontal ligament cell sheet for periodontal regeneration: a pilot study in beagle dogs. *J Periodontal Res* **40**, 245-251. doi:10.1111/j.1600-0765.2005.00799.x.
- Albandar, J. M. (2005) Epidemiology and risk factors of periodontal diseases. *Dent Clin North Am* **49**, 517-532, v-vi. doi:10.1016/j.cden.2005.03.003.
- Berglundh, T. & Lindhe, J. (1997) Healing around implants placed in bone defects treated with Bio-Oss. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res* **8**, 117-124.
- Bernardi, L; Luisi, SB; Fernandes, R; Dalberto, TP; Valentin, L; Chies, JAB et al. (2011) The isolation of stem cells from human deciduous teeth pulp is related to the physiological process of resorption. *J Endod.* 37 (7):973-9.
- Cai J, Weiss ML, Rao MS.(2004) In search of "stemness". *Exp. Hematol.* 32 (7): 585-98.
- Casagrande L, Cordeiro MM, Nör SA, Nör JE. (2011) Dental pulp stem cells in regenerative dentistry. *Odontology.* 99 (1): 1-7.
- Chen, Y. L.; Chen, P. K.; Jeng, L. B.; Huang, C. S.; Yang, L. C.; Chung, H. Y.; Chang, S. C. (2008) Periodontal regeneration using ex vivo autologous stem cells engineered to express the BMP-2 gene: An alternative to alveoloplasty. *Gene Ther.* 15:1469-1477.
- Chen, F. M., Sun, H. H., Lu, H. & Yu, Q. (2012) Stem cell-delivery therapeutics for periodontal tissue regeneration. *Biomaterials* **33**, 6320-6344. doi:10.1016/j.biomaterials.2012.05.048.
- Christgau, M., Moder, D., Hiller, K. A., Dada, A., Schmitz, G. & Schmalz, G. (2006) Growth factors and cytokines in autologous platelet concentrate and their correlation to periodontal regeneration outcomes. *J Clin Periodontol* **33**, 837-845. doi:10.1111/j.1600-051X.2006.00991.x.
- Crea, A.; Dassatti, L.; Hoffmann, O.; Zafiroopoulos, G. G.; Deli, G. (2008) Treatment of intrabony defects using guided tissue

- regeneration or enamel matrix derivative: A 3-year prospective randomized clinical study. *J. Periodontol.* 79: 2281–2289.
- Cullinan M.P. & Seymour G.J. (2013) Periodontal disease and systemic illness: Will the evidence ever be enough? *Periodontol* 2000;62: 271–286.
- Discher, D.E., Mooney, D.J. & Zandstra, P.W. (2009) Growth factors, matrices, and forces combine and control stem cells. *Science* **324**, 1673-1677. doi:10.1126/science.1171643.
- Dominici, M., Le Blanc, K., Mueller, I., Slaper-Cortenbach, I., Marini, F., Krause, D., Deans, R., Keating, A., Prockop, D. & Horwitz, E. (2006) Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* **8**, 315-317. doi:10.1080/14653240600855905.
- Eickholz, P.; Lenhard, M.; Benn, D. K.; Staehle, H. J. Periodontal surgery of vertical bony defects with or without synthetic bioabsorbable barriers. (1998) 12-month results. *J. Periodontol.* 69:1210–1217.
- Flemmig, T. F. (1999) Periodontitis. *Ann Periodontol* **4**, 32-38. doi:10.1902/annals.1999.4.1.32.
- Forbes, S.J. Adult stem cell plasticity: new pathways of tissue regeneration become visible. (2002) *Clin Sci (Lond)*, London, v. 103. n. 4, p. 355-369.
- Fortier, Lisa A. (2005) Stem cells: classifications, controversies, and clinical applications. *Vet Surg*, Philadelphia, v. 34, n. 5, p. 415-423.
- Gottlow, J.; Nyman, S.; Kaning, T.; Lindhe, J. (1984). New attachment formation as the result of controlled tissue regeneration. *J. Clin. Periodontol.* 11:494–503.
- Gronthos, S., Mankani, M., Brahimi, J., Robey, P. G. & Shi, S. (2000) Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* **97**, 13625-13630. doi:10.1073/pnas.240309797.
- Gronthos S, Brahimi J, Li W, Fisher LW, Cherman N, Boyde A, et al. (2002) Stem cell properties of human dental pulp stem cells. *J Dent Res.* 81 (8): 531-5.

- Hooijmans, C. R., Rovers, M. M., de Vries, R. B., Leenaars, M., Ritskes-Hoitinga, M. & Langendam, M. W. (2014) SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. *BMC Med Res Methodol* **14**, 43. doi:10.1186/1471-2288-14-43.
- Huang, G.T, Gronthos, S., Shi, S. Mesenchymal stem cells derived from dental tissues vs. those from other sources: their biology and role in regenerative medicine. (2009) *J Dent Res*, Washington, v. 88, n. 9, p. 792-806.
- Hynes K, Menicanin D, Gronthos S et al. Clinical utility of stem cells for periodontal regeneration. (2012) *Periodontol* **2000**, 59:203–227.
- Ikeda, H., Sumita, Y., Ikeda, M., et al (2011). Engineering Bone Formation from Human Dental Pulp- and Periodontal Ligament-Derived Cells. *Annals of Biomedical Engineering* **39**, n.1, 26-34.
- Karring, T.; Nyman, S.; Gottlow, J.; Laurell, L. (1993). Development of the biological concept of guided tissue regeneration-animal and human studies. *Periodontol. 2000* **1**:26–35.
- Khorsand, A., Eslaminejad, M.B., Arabsolghar, M., et al (2013). Autologous dental pulp stem cells in regeneration of defect created in canine periodontal tissue. *J Oral Implantol* **39**, 433-443. doi:10.1563/AAID-JOI-D-12-00027.
- Langer, R.; Vacanti, JP. (1993) Tissue Engineering. *Science* **14**, 920-926. doi: 10.1126/science.8493529.
- LILACS. Recomendação sobre Acesso Aberto e Conteúdo Online na LILACS. BIREME/OPAS/OMS. Disponível em: <<http://metodologia.lilacs.bvsalud.org/php/level.php?lang=pt&component=74&item=65>> Acesso em: 10 jan. 2016.
- Liu, H. W.; Yacobi, R.; Savion, N.; Narayanan, A. S.; Pitaru, S. (1997) A collagenous cementum-derived attachment protein is a marker for progenitors of the mineralized tissue-forming cell lineage of the periodontal ligament. *J. Bone Miner. Res.* **12**:1691–1699.
- Liu, Y., Zheng, Y., Ding, G., Fang, D., Zhang, C., Bartold, P. M., Gronthos, S., Shi, S. & Wang, S. (2008) Periodontal ligament

- stem cell-mediated treatment for periodontitis in miniature swine. *Stem Cells* **26**, 1065-1073. doi:10.1634/stemcells.2007-0734.
- Lozano F.J.R. (2012) Mesenchymal dental stem cells in regenerative dentistry. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. Nov 1;17 (6):e1062-7.
- Ma L et al. (2012). Cryopreserved Dental Pulp Tissues of Exfoliated Deciduous Teeth Is a Feasible Stem Cell Resource for Regenerative Medicine. *Plos One* 7(12): p.e51777.
- Mao JJ, Giannobile WV, Helms JA, et al. (2006) Craniofacial tissue engineering by stem cells. *J Dent Res* 85:966-979.
- Melchels, F.P.W et al (2010). Mathematically defined tissue engineering scaffold architectures prepared by stereolithography. *Biomaterials* 31, p. 6909-6916.
- McCulloch, C. A. & Bordin, S. (1991) Role of fibroblast subpopulations in periodontal physiology and pathology. *J Periodontal Res* **26**, 144-154.
- Miura M, Gronthos S, Zhao M, Fisher LW, Robey PG, Shi S. (2003) SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *PNAS*. 100 (10): 5807-12.
- Moher, D., Liberati, A., Tetzlaff, J., Altman, D. G. & Group, P. (2009) Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *PLoS Med*, v.6, n.7, 2009.
- Moore KA, Lemischka IR. (2006) Stem cells and their niches. *Science*. 311 (31): 1880- 5.
- Navabazam, A.R., Nodoshan F.S., Sheikha, M.H., et al (2013). Characterization of mesenchymal stem cells from human dental pulp, preapical follicle and periodontal ligament. *Iran J Reprod Med*, v.11, n.3, p. 235-242.
- Needleman, I.G. (2002) A guide to systematic review. *Journal of Clinical Periodontology*, v.29, p.6-9.
- Offenbacher S. Periodontal diseases: pathogenesis. *Annals of Periodontology*, v.1, p.821-878, 1996.
- Park, J.Y., Jeon, S.H. & Chung, P.H. (2011) Efficacy of periodontal stem cell transplantation in the treatment of advanced

- periodontitis. *Cell Transplant* 20, 271-285. doi:10.3727/096368910X519292.
- Pinholt, E. M., Bang, G. & Haanaes, H. R. (1991) Alveolar ridge augmentation in rats by Bio-Oss. *Scand J Dent Res* **99**, 154-161.
- PROQUEST. Dissertations & Theses Database. Disponível em: <<http://www.proquest.com/>>. Acesso em: 10 jan. 2016.
- Psaltis PJ, Zannettino AC, Worthley SG et al. (2008) Concise review: Mesenchymal stromal cells: Potential for cardiovascular repair. *Stem Cells* 26:2201–2210.
- PUBMED. PubMed Help [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2005. PubMed Help. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK3827/>>. Acesso em: 10 jan. 2016.
- Rios, H.F., Lin, Z., Oh, B., Park, C. H. & Giannobile, W. V. (2011) Cell- and gene-based therapeutic strategies for periodontal regenerative medicine. *J Periodontol* **82**, 1223-1237. doi:10.1902/jop.2011.100710.
- Russel, K.C., Phinney, D.G., Lacey, M.R., et al (2010). In Vitro High-Capacity Assay to Quantify the Clonal Heterogeneity in Trilineage Potential of Mesenchymal Stem Cells Reveals a Complex Hierarchy of Lineage Commitment. *Stem Cells*. 28,4,p. 788-798.
- SCOPUS. Elsevier. Disponível em: http://buscador.periodicos.capes.gov.br.ez54.periodicos.capes.gov.br/V/EYCGG6AXIGN7XGFN1EIH581KV4GNM1GRFUF8UTJPKHP4C2L-00950?func=find-db-info&doc_num=000007551. Acesso em: 10 jan. 2016.
- Shi Y, Hu G, Su J et al. (2010) Mesenchymal stem cells: A new strategy for immunosuppression and tissue repair. *Cell Research* 20:510-518.
- Shimono M, Ishikawa T, Ishikawa H, et al. (2003) Regulatory mechanisms of periodontal regeneration. *Microsc Res Tech* 60:491-502.

- Srisuwan, T., Tilkorn, D. J., Wilson, J. L., Morrison, W. A., Messer, H. M., Thompson, E. W. & Abberton, K. M. (2006) Molecular aspects of tissue engineering in the dental field. *Periodontol 2000* **41**, 88-108. doi:10.1111/j.1600-0757.2006.00176.x.
- Walker, M.R.; Patel, K.K.; Stappenbeck, T.S. (2008) The stem cell niche. *J Pathol*, Edinburg, v. 217, n. 2, p. 169-180.
- Ward BB, Brown SE, Krebsbach PH. (2010) Bioengineering strategies for regeneration of craniofacial bone: a review of emerging technologies. *Oral Dis* 16:709-716.
- WEB OF SCIENCE. Coleção Principal (Thomson Reuters Scientific). Detalhes da base. Disponível em <http://buscador.periodicos.capes.gov.br.ez54.periodicos.capes.gov.br/V/AP9IV2KCP5R8GYXJDG2LH1NB1YVLQPIKM67ILKC97MNI7G5PIT-03418?func=find-db-info&doc_num=000002653>. Acesso em: 10 jan. 2016.
- Wu Y, Chen L, Scott PG et al. (2007) Mesenchymal stem cells enhance wound healing through differentiation and angiogenesis. *Stem Cells* 25:2648–2659.
- Xu L, Tang L, Jin F, et al (2009). The apical region of developing tooth root constitutes a complex and maintains the ability to generate root and periodontium-like tissues. *J Periodont Res* 2009; 44: 275–282.
- Zhang, Q.; Shi, S.; Liu, Y.; Uyanne, J.; Shi, Y.; Shi, S.; Le, A. D. (2009) Mesenchymal stem cells derived from human gingiva are capable of immunomodulatory functions and ameliorate inflammation-related tissue destruction in experimental colitis. *J. Immunol.* 15:7787–7798.
- Zheng, Y., Liu, Y., Zhang, C.M., et al (2009). Stem Cells from Deciduous Tooth Repair Mandibular Defect in Swine. *J Dent Res* 88, n.3, p.249-254.

ANEXO A – Checklist - Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement.

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

Section/topic	#	Checklist item
Summary measures	13	State the principal summary measures (e.g., risk ratio, difference in means).
Synthesis of results	14	Describe the methods of handling data and combining results of studies, if done, including measures of consistency (e.g., I^2) for each meta-analysis.
Risk of bias across studies	15	Specify any assessment of risk of bias that may affect the cumulative evidence (e.g., publication bias, selective reporting within studies).
Additional analyses	16	Describe methods of additional analyses (e.g., sensitivity or subgroup analyses, meta-regression), if done, indicating which were pre-specified.
RESULTS		
Study selection	17	Give numbers of studies screened, assessed for eligibility, and included in the review, with reasons for exclusions at each stage, ideally with a flow diagram.
Study characteristics	18	For each study, present characteristics for which data were extracted (e.g., study size, PICOS, follow-up period) and provide the citations.
Risk of bias within studies	19	Present data on risk of bias of each study and, if available, any outcome level assessment (see item 12).
Results of individual studies	20	For all outcomes considered (benefits or harms), present, for each study: (a) simple summary data for each intervention group (b) effect estimates and confidence intervals, ideally with a forest plot.
Synthesis of results	21	Present results of each meta-analysis done, including confidence intervals and measures of consistency.
Risk of bias across studies	22	Present results of any assessment of risk of bias across studies (see Item 15).
Additional analysis	23	Give results of additional analyses, if done (e.g., sensitivity or subgroup analyses, meta-regression [see Item 16]).
DISCUSSION		
Summary of evidence	24	Summarize the main findings including the strength of evidence for each main outcome; consider their relevance to key groups (e.g., healthcare providers, users, and policy makers).
Limitations	25	Discuss limitations at study and outcome level (e.g., risk of bias), and at review-level (e.g., incomplete retrieval of identified research, reporting bias).
Conclusions	26	Provide a general interpretation of the results in the context of other evidence, and implications for future research.
FUNDING		
Funding	27	Describe sources of funding for the systematic review and other support (e.g., supply of data); role of funders for the systematic review.

Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, The PRISMA Group (2009). Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. PLoS Med, v.6, n.7, 2009.

ANEXO B

Artigo “Dental pulp stem cell in regeneration of periodontium: a systematic review”