

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

Sara Yrma Piccinin Villarroel

**Angiogênese Pulpar: Biologia, Importância e Aplicações Terapêuticas – Uma  
Revisão de Literatura**

Florianópolis  
2019

Sara Yrma Piccinin Villarroel

**Angiogênese Pulpar: Biologia, Importância e Aplicações Terapêuticas – Uma  
Revisão de Literatura**

Trabalho apresentado à Universidade  
Federal de Santa Catarina, como  
requisito para a conclusão do Curso de  
Graduação em Odontologia  
Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Mabel Mariela  
Rodriguez Cordeiro

Florianópolis

2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Villarroel, Sara Yrma Piccinin  
Angiogênese Pulpar: Biologia, Importância e Aplicações  
Terapêuticas - Uma Revisão de Literatura / Sara Yrma  
Piccinin Villarroel ; orientador, Mabel Mariela  
Rodríguez Cordeiro, 2019.  
42 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -  
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências  
da Saúde, Graduação em Odontologia, Florianópolis, 2019.

Inclui referências.

1. Odontologia. 2. Odontologia. 3. Angiogênese Pulpar.  
4. Endodontia Regenerativa. I. Rodríguez Cordeiro, Mabel  
Mariela . II. Universidade Federal de Santa Catarina.  
Graduação em Odontologia. III. Título.

Sara Yrma Piccinin Villarroel

**Angiogênese Pulpar: Biologia, Importância e Aplicações Terapêuticas – Uma  
Revisão de Literatura**

Este Trabalho Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de “Cirurgião-dentista” e aprovado em sua forma final pelo Curso de graduação em Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 21 de outubro de 2019.

---

Prof.<sup>a</sup>, Dr.<sup>a</sup> Glaucia Santos Zimmermann  
Coordenadora do Curso

**Banca Examinadora:**

---

Profa. Dra. Mabel Mariela Rodriguez Cordeiro  
Orientadora  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Profa. Dra. Thais Mageste Duque  
Membro  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Profa. Dra. Beatriz Dulcinéia Mendes de Souza  
Membro  
Universidade Federal de Santa Catarina

À minha família, presente em cada passo meu, sempre com muito apoio e carinho. Amo muito vocês!

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Ricardo e Ivani, por serem meus pilares e exemplos de vida, sempre me incentivando a buscar meus sonhos, em todos os momentos com muito apoio e paciência. Por todos os dias serem sinônimo de amor, dedicação, coragem, esforço e minha maior admiração.

Ao meu irmão Thiago, que mesmo distante fisicamente, sempre se faz presente. É nossa forte conexão que nos permite acompanharmos juntos cada passo que seguimos. Foram suas palavras sempre únicas e nos momentos certos, fundamentais para a realização desta etapa.

À minha avó Zeny, por todo o seu carinho e amor. Com a sua voz doce e seu humor único, sempre me alegra e deixa meu coração aquecido.

Aos queridos amigos Dayara, Micheli, Roberta e Tauã, que foram preciosos presentes da graduação. À Samara, sou imensamente grata por sua amizade, sempre com muito carinho e companheirismo. Minha gratidão por cada momento que tive a felicidade de compartilhar com vocês. Aprendemos e crescemos muito juntos, sempre com muito apoio, aprendizado e inesquecíveis risadas. Levarei sempre comigo cada um de vocês.

À minha dupla Nathalia, sou profundamente grata por nossos caminhos terem se encontrado nessa etapa tão importante de nossas vidas. Ter você nos meus dias, sendo meu equilíbrio nas inúmeras situações em que enfrentamos juntas, foi determinante. Tenho muita sorte em poder compartilhar tantos momentos com você, sempre contando com seu carinho e compreensão. Suas frases únicas, nossas histórias e sintonia, estarão comigo.

Às minhas queridas amigas Ana Beatriz, Bruna e Paula, sou muito grata por todos esses anos de amizade, compartilhando alegria, carinho e boas lembranças.

À minha orientadora, professora Mabel, por todos os ensinamentos, conversas e paciência durante a construção deste trabalho. Agradeço muito o estímulo que sempre me transmitiu, sendo essencial para o encantamento que fui sentindo pelo tema, durante todas as etapas. Sou muito grata pela oportunidade de conviver com você, que é um grande exemplo de profissional, e pelo contato com uma área tão linda da Odontologia.

A todos os professores com quem tive o prazer de aprender. Sou imensamente grata por cada exemplo de dedicação, empatia, entusiasmo e amor pela profissão.

À Universidade Federal de Santa Catarina, por ter me proporcionado momentos únicos e marcantes, de aprendizado e de convívio com pessoas maravilhosas!

“A criatividade tem uma natureza borboleteante, que inclui a liberdade da desorganização – sem isso, não sai nada. Não há criação possível.” (Nise da Silveira)



## RESUMO

A angiogênese é caracterizada como o processo de formação de novos vasos sanguíneos a partir de vasos pré-existentes, tanto no período embrionário como durante a vida adulta, caracterizando-se como marcadora de vitalidade devido à essencialidade da circulação sanguínea para os órgãos e tecidos, na obtenção de oxigênio, nutrientes, transporte de metabólitos, migração de células para diferentes áreas do corpo, entre muitas outras ações em que a vascularização se faz presente direta ou indiretamente. A manutenção da circulação sanguínea em um tecido lesado é primordial para que o processo de reparo aconteça, seja naturalmente através da cicatrização, ou através de abordagens regenerativas da Engenharia de Tecidos, que buscam restabelecer a funcionalidade do tecido através da inserção de uma construção tecidual. O grande desafio que a área da regeneração tecidual enfrenta é a vascularização inicial dos tecidos recém-implantados até o momento da incorporação da vasculatura do hospedeiro, garantindo o sucesso da integração tecidual. A partir desse contexto, o presente estudo teve por objetivo realizar uma revisão de literatura através da análise de pesquisas nas diferentes áreas de atuação da Engenharia de Tecidos que investigaram possíveis abordagens de vascularização dos tecidos fabricados *in vitro*, por meio de um levantamento bibliográfico de artigos recentes, bem como de livros e artigos clássicos relacionados ao tema. Os artigos selecionados foram pesquisados nas bases de dados Pubmed, Scopus, Scielo, bem como em outras ferramentas de busca, como o Google Acadêmico. No campo da odontologia, as abordagens de regeneração do tecido pulpar apresentam-se como uma alternativa ao tratamento endodôntico convencional. A polpa dental é um tecido altamente vascularizado e com complexa organização histológica, sendo a manutenção da vascularização pulpar, quando no tecido não sadio, de vital necessidade para iniciação da regeneração do tecido pulpar e consequente restituição das ações biológicas e da funcionalidade do órgão dental. A regeneração do tecido pulpar em toda extensão do canal radicular em dentes maduros encontra-se ainda na fase experimental, visto que existem obstáculos a serem superados para tornar o uso clínico possível, a exemplo da vascularização. Os avanços nas estratégias regenerativas do tecido pulpar em dentes maduros reduzem cada vez mais o futuro definido pela possível aplicabilidade clínica.

**Palavras-chave:** Angiogênese. Engenharia de tecidos. Polpa dental.

## ABSTRACT

Angiogenesis is characterized as the process to form new blood vessels from pre-existing vessels, both in the embryonic period and during adulthood, being characterized as a vitality marker due to the essentiality of blood circulation to organs and tissues, in obtaining oxygen, nutrients, metabolic transportation, migration of cells to different areas of the body among many other actions in which vascularization is directly or indirectly present. The maintenance of blood circulation in an injured tissue is primordial for the healing process, being naturally through wound healing or even through regenerative approaches as Tissue Engineering that seek to restore tissue functionality by inserting a tissue construct. The major challenge that a tissue regeneration approach faces is the initial vascularization of newly implanted tissues until the anastomosis with the host vasculature, ensuring the success of tissue integration. From this context, the present study aimed to perform a literature review through the analysis of the researches in the different areas of appliance of Tissue Engineering that investigate possible approaches of tissue vascularization manufactured *in vitro*, through a bibliographic survey of recent articles, as well as books and classic manuscripts related to the theme. The selected articles were searched in the Pubmed, Scopus, Scielo databases, as well as in other search tools, such as Google Scholar. In Dentistry, dental pulp regeneration approaches are an alternative to conventional root canal treatment. Dental pulp is a highly vascularized tissue with complex histological organization, being the maintenance of pulp vascularization, in an unhealthy tissue, of vitally necessity to begin the regeneration of the dental pulp and, consequently, restore its biological role and functionality of the dental organ. The regeneration of the pulp tissue throughout the root canal of mature teeth is still in an experimental stage, since there are obstacles to overcome to make its clinical application possible, such as vascularization. Advances in pulp tissue regenerative strategies in mature teeth increasingly reduce the future defined by possible clinical applicability.

**Keywords:** Angiogenesis. Tissue Engineering. Dental pulp.

## SUMÁRIO

|   |    |
|---|----|
| <b>1. INTRODUÇÃO</b> .....  | 13 |
| <b>2. OBJETIVOS</b> .....   | 15 |
| 2.1- Objetivo Geral .....   | 15 |
| 2.2- Objetivos Específicos.....   | 15 |
| <b>3. METODOLOGIA</b> .....   | 16 |
| <b>4. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....   | 17 |
| 4.1 Vasculogênese.....  | 17 |
| 4.2 Angiogênese .....   | 18 |
| 4.2.1 Controle Angiogênico.....   | 19 |
| 4.2.1.1 Células Endoteliais .....   | 19 |
| 4.2.1.2 VEGF.....   | 20 |
| 4.2.1.3 FGF .....   | 21 |
| 4.2.1.4 MMPs .....  | 22 |
| 4.2.1.5 Angiopietina.....   | 22 |
| 4.2.1.6 Receptores Hepatocelulares Produtores de Eritropoetina (Eph) e Efrinas .....                            | 22 |
| 4.3 Angiogênese Intussusceptiva .....   | 23 |
| 4.4 Processos Dependentes da Angiogênese .....  | 23 |
| 4.4.1 Processos Fisiológicos.....   | 24 |
| 4.4.2 Processos Patológicos.....  | 25 |
| 4.5 Polpa Dental .....  | 26 |
| 4.6 Engenharia de Tecidos.....  | 26 |
| 4.6.1 Terapias Regenerativas Pulpares .....   | 28 |
| 4.6.1.1 Estratégias para Vascularização dos Tecidos Tipo Polpa Dental Resultantes da Engenharia de Tecidos..... | 29 |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>5. DISCUSSÃO .....</b>  | <b>33</b> |
| <b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>   | <b>36</b> |
| <b>7. REFERÊNCIAS .....</b>  | <b>37</b> |
| <b>8. ANEXO - Ata de apresentação do trabalho de conclusão de curso.....</b> | <b>42</b> |

## 1. INTRODUÇÃO

Suprimento de oxigênio, de nutrientes, chegada de células de defesa e transporte de detritos são algumas das necessidades comuns e vitais dos órgãos e tecidos que compõem o corpo humano, e a indisponibilidade desses recursos resultaria em incapacidade de sobrevivência. A circulação sanguínea cuida de todas essas indispensabilidades, solucionando as carências que as diferentes regiões do corpo venham a apresentar. Nestas situações, há a necessidade de maior aporte sanguíneo e, a partir disso, novos vasos se formam a partir dos pré-existentes, através do processo conhecido como *angiogênese* (ROMBOUTS et al., 2017; ROBERTS-CLARK et al., 2000; SAGHIRI et al., 2015). A neoformação vascular, no decorrer do desenvolvimento embrionário, juntamente com a vasculogênese, e predominantemente durante a vida adulta, ocorre através da angiogênese, que é a formação de novos vasos sanguíneos a partir do brotamento (RISAU et al., 1995; UCCELLI et al., 2019) ou intussuscepção dos vasos presentes (SPIEGELAERE de W. et al, 2012; UCCELLI et al., 2019).

Assim como a circulação sanguínea é de fundamental importância para o funcionamento do organismo, para o dente não é diferente. Fazendo-se uma analogia entre a formação e desenvolvimento do embrião até a fase adulta, no germe do dente que vai se desenvolvendo e originando o órgão, evidencia-se o papel da vascularização durante todas as etapas com proporcional valor. A formação de novos vasos sanguíneos é essencial nos processos de reparo e regeneração dos tecidos dentais, assim como no combate às infecções, com recursos de defesa caracterizando algumas das atividades funcionais naturais de uma polpa saudável. É um tecido altamente vascularizado, sendo a manutenção da vascularização de essencial importância para a contínua funcionalidade da polpa, principalmente pelo fato de o abastecimento sanguíneo provir, conforme citado por DISSANAYAKA et al. (2015), através de uma estreita passagem caracterizada pela abertura do ápice do canal radicular.

Com o intuito de acelerar e melhorar o processo de regeneração dos tecidos, a ciência tem tido um papel fundamental na criação de novas técnicas terapêuticas através da Engenharia de Tecidos, por meio de combinações de células e arcabouços de polímeros, os quais apresentam resultados significativos na terapia regenerativa (CONSOLARO et al., 2009; KAULLY et al., 2009). Esta área está constante

crescimento, envolvendo diferentes campos de atuação e, na Odontologia, os estudos empregam as mais atuais descobertas em pesquisas da medicina regenerativa com a finalidade de conseguir a regeneração dos tecidos da cavidade oral (ZIMTA et al., 2019).

É precisamente nessa área em ascensão na Odontologia que este trabalho buscou trazer os resultados de estratégias regenerativas relacionados ao aumento da vascularização nas construções de tecido tipo polpa, assim como a análise das dificuldades do uso clínico para dentes maduros. Investigou-se, através da revisão de literatura, as novas perspectivas das estratégias de regeneração do tecido pulpar na totalidade do canal radicular de dentes maduros, assim como elencou as abordagens mais promissoras nesse campo.

Devido à grande importância que a angiogênese representa ao funcionamento e manutenção do organismo, esta pesquisa de revisão de literatura objetivou também descrever os processos que envolvem a formação de novos vasos sanguíneos, com a finalidade de complementar a análise das estratégias regenerativas assim como a interpretação dos desafios que a Engenharia de Tecidos ainda enfrenta, com maior ênfase aos da endodontia regenerativa.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1- Objetivo Geral**

Realizar uma revisão de literatura sobre a angiogênese pulpar e sua aplicação nas terapias regenerativas.

### **2.2- Objetivos Específicos**

- Descrever os processos de angiogênese através dos resultados de ensaios e estudos emergentes.
- Analisar as terapias regenerativas angiogênicas pulpares em ascensão e classificar seus potenciais benefícios.
- Apresentar os desafios que a Engenharia de Tecido Pulpar enfrenta e as perspectivas futuras.

### 3. METODOLOGIA

O presente estudo foi realizado através de um levantamento bibliográfico de artigos recentes, bem como de livros e artigos clássicos relacionados ao tema angiogênese pulpar.

Os artigos selecionados para a presente revisão da literatura foram pesquisados nas bases de dados PubMed, Scopus e SciELO, bem como em outras ferramentas de busca, como o Google Acadêmico. Ainda, foi feita busca manual de artigos constantes nas referências bibliográficas dos manuscritos localizados por meio das bases de dados da literatura científica e que, na sua leitura, foram considerados relevantes para o presente estudo.

As palavras-chave em português foram: angiogênese, polpa dental, vasculogênese, neovascularização, VEGF. Os termos em inglês incluíram: *angiogenesis, dental pulp, vasculogenesis, neovascularization, VEGF*. Os artigos analisados foram os que abordavam os processos de neoformação vascular, biologia e vascularização da polpa dental, endodontia regenerativa, assim como técnicas de Engenharia de Tecidos em outras áreas de atuação.

Foram incluídos no estudo 43 artigos lidos na íntegra, de 1992 até 2019, caracterizados por pesquisas laboratoriais e clínicas, bem como revisão de literatura, nas línguas portuguesa e inglesa.



## 4. REVISÃO DE LITERATURA

### 4.1 Vasculogênese

Já cedo durante a ontogenia, a origem de um plexo vascular primário, a partir de células precursoras vasculares preexistentes no embrião, se dá através do processo denominado vasculogênese (FLAMME et al., 1997; RISAU et al., 1995, SAGHIRI et al., 2015).

As ilhas do sangue são as primeiras estruturas vasculares discerníveis que irão dar origem a uma rede vascular primitiva no saco vitelino, assim que o mesoderma inicial se forma através do processo de gastrulação. As células periféricas da ilha de sangue são os precursores de células endoteliais denominadas angioblastos, enquanto as células que estão no centro são células precursoras hematopoiéticas. A formação do plexo capilar primário origina-se a partir da diferenciação e posterior fusão das ilhas de sangue e da diferenciação das células endoteliais (RISAU et al., 1995).

Após a formação do plexo vascular primário, as células endoteliais se proliferam e, então, novos vasos sanguíneos são formados por mecanismos de brotamento ou não-brotamento vascular, a partir de um vaso sanguíneo existente, que caracteriza o processo de formação vascular chamado de angiogênese. Em certos órgãos inicialmente avasculares no período embrionário, como o cérebro, tem-se o surgimento de vasos sanguíneos através do processo de angiogênese (RUNDHAUG J. 2005; DAVIS et al., 1999). Esse tipo de formação vascular de vital importância para a fase embrionária será o processo que permanecerá durante a vida adulta (RISAU et al., 1995, SAGHIRI et al., 2015).

Durante o desenvolvimento do embrião, o sistema vascular que origina-se a partir da vasculogênese é formado antes de ser usado para sua função principal, que é a nutrição do embrião que apresenta um rápido crescimento; inversamente, os vasos sanguíneos na forma adulta respondem diretamente às demandas teciduais (RISAU et al., 1995). A demanda de formação de novos vasos sanguíneos na forma adulta ocorre de acordo com as necessidades do organismo, tanto em condições fisiológicas quanto patológicas, como na cicatrização de feridas, nos processos inflamatórios, na proliferação endometrial, na recuperação pós- isquêmica e, também, em hemangiomas, psoríase e no crescimento tumoral (MADEDDU P. 2005; RISAU et

al., 1995; RUNDHAUG J., 2005). Um entendimento do processo de angiogênese normal e anormal é crucial para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas para combater essas patologias (RUNDHAUG J., 2005).

## 4.2 Angiogênese

A angiogênese é um processo que apresenta inúmeras etapas (ZIMTA et al., 2019) e foi a partir do conhecimento dos mecanismos moleculares envolvidos no controle do processo que foi possível o desenvolvimento de terapias (POLVERINI et al., 2002) anti-angiogênicas e pró-angiogênicas (SAGHIRI et al., 2015).

Resultante de inúmeras causas, a hipóxia tecidual gera a ativação da produção de fatores pró-angiogênicos pelas células do microambiente local assim como citocinas (BLANCO et al., 2013; ZIMTA et al., 2019). A liberação do Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGF) que faz ligação com seu receptor compatível, que se encontra na superfície das células endoteliais dos vasos, tem como resultado a ativação de células que se encontravam quiescentes (BLANCO et al., 2013; ZIMTA et al., 2019). A iniciação da angiogênese demanda que alguns eventos ocorram, tais como o desprendimento dos pericitos da parede do vaso, a degradação da membrana basal vascular e da matriz extracelular através da ação das metaloproteinases de matriz (MMPs) (RUNDHAUG J., 2005, BLANCO et al., 2013; ZIMTA et al., 2019), assim como a especificação das células epiteliais ativadas pela sinalização do VEGF em células *tip* e *stalk* (BLANCO et al., 2013). Através de uma atuação coordenada das células endoteliais especificadas, o broto incipiente vai tomando forma a partir da proliferação e invasão dessas células no tecido que apresenta hipóxia, sem perderem a ligação com a rede vascular original (BLANCO et al., 2013). Fazendo a liderança do broto angiogênico, as células *tip*, por sua característica migratória com seus filopódios, apresentam a capacidade de reconhecer o gradiente de VEGF e direcionam-se guiando o broto para a fonte de VEGF (UCCELLI et al., 2019; BLANCO et al., 2013). Com a característica de serem potencialmente proliferativas, as células *stalk* seguem as células *tip* dando forma ao corpo do brotamento (UCCELLI et al., 2019; BLANCO et al., 2013), com forte adesão para assegurar que o broto permaneça estável (BLANCO et al., 2013) e vão iniciando a configuração do lúmen vascular (UCCELLI et al., 2019; BLANCO et al., 2013). As células *tip* dos diferentes brotos formados se anastomosam entre si, proporcionando

conectividade (BLANCO et al., 2013). Com o lúmen vascular formado nos novos vasos, o fluxo sanguíneo se estabelece levando oxigênio ao tecido e cessando, dessa forma, a liberação de fatores de crescimento no local, caracterizando a quiescência das células endoteliais (BLANCO et al., 2013). Finalizando o processo, ocorre a maturação dos vasos sanguíneos recém-formados com a deposição da membrana basal vascular e o recrutamento dos pericitos (ZIMTA et al., 2019; RUNDHAUG J., 2005).

#### **4.2.1 Controle Angiogênico**

Fatores de crescimento pró-angiogênicos são responsáveis pelo estímulo da angiogênese, se destacando o VEGF por sua potente ação (POLVERINI et al., 2002; FERRARA et al., 2003; MATTUELLA et al., 2007). Para que esse estímulo ocorra, é necessário um desencadeador para que os fatores de crescimento pró-angiogênicos sejam expressos, tais como a insuficiência do suprimento de oxigênio e nutrientes nos tecidos (SAGHIRI et al, 2015).

O processo da angiogênese é regulado através da produção equilibrada de numerosas moléculas quimio-biológicas estimuladoras e inibitórias, sendo um processo, em organismos adultos, que ocorre caracteristicamente em curta duração. O rígido controle fisiológico é essencial para manter esta resposta sob controle, proporcionado pelos inibidores naturais da angiogênese (SAGHIRI et al., 2015; POLVERINI et al., 2002; LIN et al., 2016). O conhecimento desses mediadores, que estão no ambiente em baixas concentrações, ou gerados sob demanda, como moléculas associadas à superfície celular, permitiu um novo olhar sobre o tratamento de doenças associadas ou dependentes da angiogênese (POLVERINI et al., 2002).

##### **4.2.1.1 Células Endoteliais**

O aglomerado de estruturação vascular mais básico dos novos vasos sanguíneos são as células endoteliais (SWEENEY et al., 2018). Responsáveis pela formação inicial da rede de capilares sanguíneos, que constituem uma microcirculação vascular. É a partir dessa rede que a vasculatura irá tomar forma, gerando o suprimento sanguíneo necessário (POLVERINI et al., 2002). Os tecidos perfundidos que necessitam desenvolver a neovascularização demandam a proliferação e migração das células endoteliais para seu interior, viabilizando o

processo da formação de novos vasos sanguíneos (SWEENEY et al., 2018). Sem essa indução fisiológica, o natural das células endoteliais seria de raramente se replicar, mas, frente a um estímulo, essas células prontamente em resposta, se dividem (POLVERINI et al., 2002).

Conforme a maturação do vaso sanguíneo vai ocorrendo, as células endoteliais se organizam em uma monocamada em íntimo contato com o sangue que atua como uma barreira, protegendo-o de transbordar. A cobertura endotelial apresenta uma permeabilidade que seleciona a passagem de nutrientes e gases para o interior do vaso, quando houver exigência (SWEENEY et al., 2018).

No decorrer da vida adulta, sangue e tecidos estão em constante troca de substâncias. É através da permeabilidade seletiva do revestimento endotelial dos vasos sanguíneos que a transição de matérias ocorre, apresentando ainda uma grande área de superfície (MICHIELS C., 2003).

#### **4.2.1.2 VEGF**

Fazem parte da família VEGF em mamíferos cinco polipeptídeos distintos, VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, (UCCELLI et al., 2019), VEGF-E, que é codificado por vírus (APTE et al., 2019) e PLGF, sendo o VEGF-A o que apresenta maior importância, fazendo o controle da angiogênese (UCCELLI et al., 2019; APTE et al., 2019). Por realizarem processamento proteolítico pós-translacional e processamento alternativo, apresentam alta complexidade, em contraste à pequena quantidade de integrantes (UCCELLI et al., 2019), apresentando diversas isoformas (APTE et al., 2019).

Essa família de proteínas possui diferentes compatibilidades com três tipos de receptores tirosina quinase, VEGFR-1, VEGFR-2 E VEGFR-3, que são considerados como expressos especificamente no endotélio, ao passo que os ligantes podem ser expressos em diferentes tecidos e células (BLANCO et al., 2013). Os receptores VEGFR-1 e VEGFR-2 são os que se ligam ao VEGF-A, sendo que apresenta maior afinidade de associação com o receptor VEGFR-1 do que com o receptor VEGFR-2, que por sua vez, se faz o mediador principal da sinalização do VEGF-A durante sua ação na angiogênese (UCCELLI et al., 2019; DVORAK H., 2005; BLANCO et al., 2013). O receptor VEGFR-1 apesar de apresentar uma alta afinidade de ligação com o VEGF-A, apresenta uma ação quinase muito fraca, não iniciando a cascata de

transdução de sinais de forma eficaz, atuando, então, como um receptor chamariz, de forma a inibir a ação do receptor VEGFR-2, através da disputa por VEGF-A e moderando, dessa forma, a ação da via do fator VEGF nas células do endotélio vascular (UCCELLI et al., BLANCO et al., 2013).

Esta proteína é o agente chave que possui a capacidade de desencadear os eventos que resultam na formação de uma nova vasculatura (UCCELLI et al., 2019) e influencia muitos passos na resposta angiogênica, estimulando a degradação da matriz extracelular que circunda as células endoteliais, promovendo, dessa forma, a migração e organização destas células em estruturas tubulares (POLVERINI et al., 2002; FERRARA et al., 2003; MATTUELLA et al., 2007). O VEGF ainda é capaz de oferecer para as células endoteliais sinais de anti-senescência e sobrevivência e induzir a permeabilidade vascular (DVORAK H., 2005). Entre todos os fatores pró-angiogênicos, o VEGF é o mais fundamental para a diferenciação do sistema vascular e apontou ser, para as células endoteliais, um potente mitógeno que pode promover proliferação e migração celular (SAGHIRI et al., 2015).

A hipóxia tecidual é o regulador principal da expressividade do VEGF, ocorrendo através da ação do fator induzível por hipóxia (HIF), que é um dos genes regulados por hipóxia que apresentam a capacidade de atuarem como fatores em diferentes circunstâncias, como a sinalização para o VEGF (APTE et al., 2019). Em situações em que há o predomínio da hipóxia, como no crescimento tumoral, a expressão do VEGF persistirá potencializando a angiogênese e, conseqüentemente, o avanço do tumor (ROMBOUTS et al., 2017; POLVERINI et al., 2002). A expressão do VEGF é também observada em diferentes situações por fatores de crescimento, citocinas, hormônios e, nos casos de ocorrência de tumores, por genes supressores de tumor e oncogenes (DVORAK H., 2005).

#### **4.2.1.3 FGF**

Compondo uma família de 22 proteínas, os fatores de crescimento de fibroblastos interagem com receptores específicos (KHURANA et al., 2003; SAGHIRI et al., 2015), sendo FGF-1 o membro mais importante, conhecido também como FGF ácido, por ser capaz de se ligar em qualquer um dos sete subtipos de receptores de FGF (FGFRs) e apresentar maior abrangência de ações (SAGHIRI et al., 2015). Em

diferentes células do corpo humano, como as células endoteliais, os fibroblastos e as células musculares lisas, essa família de proteínas é capaz de gerar distintas ações, tais como diferenciação, proliferação e migração celular (KHURANA et al., 2003).

#### **4.2.1.4 MMPs**

As metaloproteinases de matriz (MMPs) são um grupo de enzimas do tipo proteases que possuem um importante papel no processo de angiogênese. A ação dessas enzimas está associada à degradação da matriz extracelular (MEC) das paredes dos vasos, favorecendo a migração das células endoteliais (SAGHIRI et al., 2015; RUNDHAUG J., 2005). Atualmente, porém, já se sabe que essas enzimas apresentam ações que vão muito além durante a angiogênese, apresentando um papel mais complexo, que age tanto para facilitar quanto para inibir o processo. As MMPs foram subdivididas em grupos, com relação à especificidade de substrato, assim como em seu tipo de estrutura e todas precisam ser proteoliticamente processadas para serem ativadas devido ao fato de serem desenvolvidas como pró-enzimas latentes (RUNDHAUG J., 2005).

#### **4.2.1.5 Angiopoietina**

As angiopoietinas (Ang) são proteínas essenciais no processo de formação vascular, principalmente no estágio secundário (THURSTON G., 2003) e apresentam duas formas principais: Ang-1 e Ang-2, que se ligam aos receptores Tie 1 e Tie 2 das células endoteliais (SAGHIRI et al., 2015). As Ang possuem especificidade para o endotélio vascular devido ao fato de seus receptores estarem nessas células, bem como também ocorre com o VEGF (MICHIELS C., 2003).

#### **4.2.1.6 Receptores Hepatocelulares Produtores de Eritropoietina (Eph) e Efrinas**

A maior família de receptores do tipo tirosina quinase em humanos engloba os receptores hepatocelulares produtores de eritropoietina (Eph) (WOLF et al., 2019; MICHIELS C., 2003). Os ligantes para esses receptores são da mesma forma numerosos e conhecidos como efrinas (MICHIELS C., 2003) e sua ligação é que divide

os receptores Eph em dois grupos: Eph-A, com nove receptores e Eph-B, com cinco receptores (WOLF K. et al, 2019). Encontrados comumente no sistema nervoso, os ligantes efrina e receptores Eph também servem como marcadores da identidade vascular (WOLF et al., 2019; MICHIELS C., 2003). Efrina B2 e receptor Eph B4 são expressos por células endoteliais (MICHIELS C., 2003) e estão envolvidos na definição da identidade arterial e venosa, como marcadores característicos de cada tipo de formação vascular, sendo efrina B2 marcador arterial e Eph B4 marcador venoso (WOLF et al., 2019; MICHIELS C., 2003; AIRD W., 2007).

### **4.3 Angiogênese Intussusceptiva**

Os vasos sanguíneos podem crescer a partir de um mecanismo alternativo ao brotamento, processo conhecido como angiogênese intussusceptiva (UCCELLI et al., 2019), caracterizada pela divisão vascular através desse processo que é intravascular (NOWAK-SLIWINSKA et al., 2018; MENTZER et al., 2014). É um processo que, além do crescimento vascular, pode abranger a remodelação vascular, cerceando os vasos que estão em excesso (SPIEGELAERE et al., 2012).

A formação dos pilares de tecido intraluminal a partir de invaginações de paredes opostas dos capilares para o lúmen vascular, iniciam o processo que resulta, após o crescimento do pilar, na divisão do vaso sanguíneo (SPIEGELAERE et al., 2012). Quando em comparação com o brotamento vascular, é tido como um processo mais rápido e com menor necessidade de uso de energia metabólica, visto que as células epiteliais se proliferam e migram minimamente; resultados de estudos sugerem que a angiogênese intussusceptiva realiza a remodelação adicional da vasculatura dos tecidos em crescimento (SPIEGELAERE et al., 2012).

Mais estudos se fazem necessários para melhor investigação dos mecanismos que envolvem a angiogênese intussusceptiva, para possibilitar a elaboração de terapias pró-angiogênicas no tratamento de tecidos isquêmicos, por ser um mecanismo rápido, auxiliando na restauração do plexo vascular funcional (SPIEGELAERE et al., 2012).

### **4.4 Processos Dependentes da Angiogênese**

Diversos processos dependem da formação de novos vasos sanguíneos para se desenvolver e persistir, sendo de origem fisiológica ou patológica. Uma particularidade que é capaz de diferenciar a angiogênese fisiológica da patológica é o tempo da duração do processo, em que dura alguns dias ou semanas no processo fisiológico, enquanto que no patológico perdura por alguns meses ou anos (POLVERINI et al., 2002).

É a partir de estímulos que o brotamento de novos vasos ocorre e, em situações de normalidade, esse estímulo de fatores pró-angiogênicos logo cessa frente à ação dos inibidores da angiogênese e, quando há a ruptura no equilíbrio entre o estímulo e a inibição desse processo, se tem uma situação de anormalidade, tendo-se uma angiogênese aberrante que caracteriza o aspecto patológico.

#### **4.4.1 Processos Fisiológicos**

Diversos processos fisiológicos necessitam de maior aporte sanguíneo, pois é através dele que ocorre transporte de oxigênio, suprimento de nutrientes, trocas gasosas, assim como remoção de resíduos (ROMBOUTS et al., 2017). É também através da circulação sanguínea que ocorre a migração de células inflamatórias guiadas através de um gradiente quimiotático estabelecido pela produção de citocinas pró-inflamatórias, durante a resposta a um processo inflamatório (GIRAUD et al., 2018).

De forma coordenada os ativadores e inibidores da angiogênese atuam nas conformações fisiológicas para induzir e manter o processo de formação de novos vasos sanguíneos por um prazo limitado, apenas o suficiente para o processo ocorrer (POLVERINI et al., 2002).

Quando os tecidos sofrem algum tipo de injúria, seja por patógeno, estímulo nocivo, irritantes ou células danificadas, necessitam de um processo de cura. O mecanismo natural de defesa do corpo, a inflamação, é responsável por esse processo (AGHASAFARI et al., 2018). Além das citocinas, o sistema de Complemento é outro importante agente do processo inflamatório.

As imunoglobulinas estão presentes na exsudação plasmática e têm como principal função a marcação da estranheza do agente agressor, tendo o sistema complemento a atuação enzimática contra estes agentes identificados. É, portanto,



uma ação conjunta de anticorpos e complemento visando a digestão enzimática do agressor (CONSOLARO et al., 2009). Dados recentes demonstraram que os fibroblastos do tecido pulpar são as primeiras células não imunes capazes de produzir todos os componentes requeridos para ativação do Sistema Complemento (GIRAUD et al., 2018).

Outros processos fisiológicos que também demandam de um crescente abastecimento sanguíneo são a cicatrização de feridas, assim como no endométrio que está sendo preparado para implementação do óvulo fertilizado (POLVERINI et al., 2002).

#### **4.4.2 Processos Patológicos**

Inúmeras patologias estão relacionadas com a formação de novos vasos sanguíneos, conhecidas como desordens dependentes de angiogênese, que podem ser de origem neoplásica, como o Carcinoma Epidermóide, inflamatória, como a Psoríase, ou ainda de desenvolvimento, como o Hemangioma. Nessas situações, já não se observa mais um controle angiogênico e coordenado dos ativadores e inibidores, e sim uma neovascularização implacável e desequilibrada (POLVERINI et al., 2002).

Diferentemente da estrutura bem organizada dos vasos sanguíneos normais, originados pela angiogênese fisiológica, os novos vasos que foram estimulados pela angiogênese patológica se apresentam demasiadamente atípicos, caracterizando-se por presença de fenestrações, hiperpermeáveis ao plasma e às proteínas plasmáticas, com ramificações desiguais, além de não apresentarem um claro padrão de hierarquia (DVORAK H., 2005).

Sendo o VEGF o fator pró- angiogênico que apresenta maior importância na diferenciação do sistema vascular (SAGHIRI et al., 2015), tem sido constatado que apresenta também uma ação significativa em diferentes patologias, como no crescimento tumoral e metástase, sendo de fundamental importância os processos terapêuticos que visam como alvo as vias de sinalização do VEGF assim como suas diferentes isoformas e seus receptores (APTE et al., 2019).

Conforme elucidado anteriormente, a angiogênese, tanto no período embrionário como na fase adulta, não ocorre de forma rápida e frequente, mas sim diante de um estímulo como na cicatrização de feridas. O oposto ocorre durante o

crescimento tumoral que acontece de forma rápida e dependente de uma circulação sanguínea nova para suprir as demandas de oxigênio e favorecer a metástase, que ocorre através da formação de novos vasos sanguíneos através do processo conhecido como neoangiogênese. Uma série de indutores angiogênicos medeiam esse processo, incluindo quimiocinas, fatores de crescimento e moléculas de adesão (MICHIELS C., 2003).

#### **4.5 Polpa Dental**

Retida entre paredes rígidas de tecidos mineralizados, a polpa dental é caracterizada por ser um tecido conjuntivo altamente vascularizado (MATTUELLA et al., 2007), sendo imprescindível nos processos de defesa e regeneração dos tecidos dentais e, conforme caracterizado por YU et al. (2007), “O confinamento físico da polpa dentária, sua alta incidência de inervação do nervo sensorial e os ricos componentes microcirculatórios tornam a polpa dental um tecido único” (YU et al., 2007).

O tecido pulpar apresenta uma alta capacidade de se regenerar após sofrer uma injúria e a intensidade, assim como a duração dessa lesão, são diretamente proporcionais ao tipo de resposta que a polpa irá apresentar (MATTUELLA et al., 2007). Para que essa regeneração ocorra, é necessário que haja formação de novos vasos sanguíneos, para aumentar a vascularização da área afetada, através do processo de angiogênese (ROMBOUTS et al., 2017; ROBERTS-CLARK et al., 2000).

#### **4.6 Engenharia de Tecidos**

Na busca da reconstrução de tecidos lesados frente a injúrias e patogêneses, surge a Engenharia de Tecidos, com o intuito de acelerar ou melhorar o processo através da colocação de membranas, materiais ou outros produtos no sítio acometido. É um campo de crescente evolução nas diferentes áreas em que abrange, tendo sido alcançados grandes avanços nas combinações de células e arcações de polímeros com formação de estruturas tridimensionais (CONSOLARO et al., 2009; KAULLY et al., 2009).

É através da combinação de biomateriais, fatores indutivos de crescimento e diferenciação e células-tronco que a Engenharia de Tecidos e a medicina regenerativa

apresentam como finalidade o restabelecimento integral da funcionalidade dos órgãos lesados (GALLER et al., 2011). Inúmeros foram os avanços nessa área nos últimos anos nas composições dos arcabouços, com biomateriais que sejam biocompatíveis com os tecidos e que apresentem bioatividade e não mais apenas materiais inertes e com a função exclusiva de serem veículos de entrega (GALLER et al., 2011).

Esse processo de reconstrução pode ocorrer por reparo ou regeneração, ambos com o resultado de tecido reconstruído. O reparo ocorre a partir da formação de tecido de granulação em áreas conjuntivas previamente inflamadas. Já a regeneração ocorre em tecidos que não apresentam natureza conjuntiva, através da reconstrução por tecido similar, sem a participação de tecido de granulação (CONSOLARO et al., 2009; DISSANAYAKA et al., 2017).

Assim como os tecidos do corpo necessitam de um suporte sanguíneo constante e suficiente para suprir as demandas de diversas origens que ocorrem diariamente, os tecidos transplantados assim também se caracterizam. O tempo que esse suprimento sanguíneo levará para chegar nas células das diferentes regiões do tecido implantado é crucial e decisiva para a sobrevivência e êxito da terapia proposta. Técnicas que possibilitem um acelerado suprimento vascular no tecido já implantado fazem-se ainda necessários a serem desenvolvidos, garantindo a integração funcional (DISSANAYAKA et al., 2017).

Nos transplantes que são feitos *in vivo*, os capilares próximos fornecem suprimento de oxigênio via difusão, porém somente ampara as células que se encontram a uma distância restrita do vaso sanguíneo, assim como a invasão dos vasos do hospedeiro no tecido implantado tem o obstáculo do tempo prolongado do processo (DISSANAYAKA et al., 2017; DISSANAYAKA W. et al, 2015). As células que se encontram em hipóxia devido à impossibilidade de serem supridas por difusão, secretam fatores de crescimento no microambiente que estimula a angiogênese por parte da vasculatura hospedeira que, aos poucos, vai invadindo o tecido implantado (DISSANAYAKA et al., 2015).

O grande desafio que esta área enfrenta é o adequado suprimento sanguíneo na totalidade do implante tecidual, vital para o sucesso da terapia e, ainda que existam muitas possíveis abordagens terapêuticas, não há um modo único e universal que atenda o obstáculo da neoformação vascular (DISSANAYAKA et al., 2017). No interior do tecido formado através da Engenharia Tecidual, para que não ocorra o desenvolvimento de núcleos necróticos, faz-se necessária a presença de uma rede

vascular com distância adequada das células (100–200  $\mu\text{m}$ ) (BERTASSONI et al., 2014).

#### 4.6.1 Terapias Regenerativas Pulpares

Os progressos que a medicina regenerativa teve nos últimos tempos foram de grande influência para a Odontologia que, atualmente, emprega as mais atuais descobertas em pesquisa com células-tronco, biologia molecular, engenharia de tecidos, assim como a ciência dos materiais, com a finalidade de obter-se a regeneração dos tecidos da cavidade oral (ZIMTA et al., 2019).

Em situações em que o dente apresenta necessidade de tratamento endodôntico, o método convencional consiste na remoção do tecido pulpar necrótico ou infectado que será posteriormente substituído por biomaterial sintético inerte, caracterizando o dente como ausente de resposta biológica (ATHIRASALA et al., 2017; KUANG et al., 2016). Como resultado, o elemento dental se torna mais vulnerável a fraturas, assim como a apresentar infecções recorrentes de microinfiltrações (KUANGA et al., 2016). A endodontia regenerativa se apresenta como uma terapia alternativa, tendo como objetivo a regeneração do tecido pulpar (ATHIRASALA et al., 2017; KUANG et al., 2016), gerando substitutos para as estruturas dentárias danificadas (SAGHIRI et al., 2015), com o intuito de reparar a atividade dental (ATHIRASALA et al., 2017). Segundo YADLAPATI et al. (2017), os protocolos regenerativos apresentaram resultados favoráveis em relação à cicatrização de lesões periapicais e taxa de sobrevivência de dentes tratados.

As pesquisas da endodontia regenerativa seguem duas estratégias: o transplante de células e o *homing* celular, ou seja, diferem quanto ao uso ou não de células nos arcabouços biocompatíveis (ERAMO et al., 2017).

Sendo um tecido altamente vascularizado, é justamente através da vasculatura da polpa que ocorre, inicialmente, a regulação das funções biológicas, caracterizando um dos desafios das terapias regenerativas pulpares ser o suprimento vascular adequado para possibilitar a ocorrência da conformação histológica do tecido pulpar (KUANG et al., 2016).

Um grande número de estudos tem apresentado o objetivo de regeneração do tecido pulpar vascularizado por meio do cultivo de células-tronco e células epiteliais

em diferentes estratégias, tais como: arcabouços de matrizes tridimensionais, construções de tecido sem arcabouço e substratos planos (ATHIRASALA et al., 2017).

#### **4.6.1.1 Estratégias para Vascularização dos Tecidos Tipo Polpa Dental Resultantes da Engenharia de Tecidos**

Buscando uma nova abordagem que não utilize arcabouços, DISSANAYAKA et al. (2014) desenvolveram um estudo com microtecidos esféricos pré-vascularizados livres de arcabouço, inseridos na polpa humana, e avaliaram o potencial na regeneração pulpar. Foram cultivadas, em molde de agarose, células-tronco da polpa dental (DPSCs) advindas da polpa de dentes recém extraídos e células endoteliais da veia umbilical humana (HUVECs) obtidas comercialmente, em monocultura de DPSCs e co-cultura de ambas as células em grupos de concentrações diferentes de DPSCs, implantados no dorso de camundongos imunossuprimidos (DISSANAYAKA et al., 2014). O desenvolvimento dessa abordagem livre de arcabouço, segundo os autores, visou sanar a possível falha de comunicação (*cross-talk*) entre as células, a degradação seletiva em que as abordagens com arcabouço estão sujeitas, assim como possibilitar, sem a interferência de um material secundário, a interação fisiológica entre as células (DISSANAYAKA et al., 2014). Nos grupos de co-cultura de células DPSCs e HUVECs, os pesquisadores observaram a formação de lúmens vasculares, o que não foi observado no grupo que possuía apenas DPSCs, e ainda constataram, nas co-culturas, por meio da detecção de células CD31+ e CD31- revestindo lúmens vasculares, a simultaneidade de vasos de camundongos e humanos no tecido regenerado, mostrando uma conexão entre as estruturas vasculares formadas por HUVECs *in vitro* e a vasculatura do hospedeiro (DISSANAYAKA et al., 2014). Tecido semelhante a polpa vascularizada foi constatado por DISSANAYAKA et al. (2014) nos resultados da pesquisa, com a detecção de células semelhantes a odontoblastos presentes ao longo da superfície de dentina. Os autores relataram que, apesar da facilidade de aquisição das HUVECs, seu uso no cenário clínico não é possível devido à incompatibilidade imunológica, sugerindo-se como potencial opção de troca, as células endoteliais progenitoras e as células endoteliais microvasculares (DISSANAYAKA et al., 2014). A grande quantidade de células necessárias para formar uma quantidade considerável de tecido, segundo DISSANAYAKA et al. (2014) é uma das maiores limitações da técnica livre de

arcabouços, e sugerem uma abordagem que combine as técnicas com uso de arcabouços e as livres de arcabouço para pesquisas futuras em endodontia regenerativa.

Empregando um sistema de hidrogel peptídico 3D PuraMatrix, DISSANAYAKA et al. (2015) investigaram o potencial regenerativo de tecidos tipo polpa dental através de células-tronco da polpa dentária (DPSCs) encapsuladas no hidrogel injetável pré-vascularizado com células endoteliais da veia umbilical humana (HUVECs). As DPSCs foram isoladas de terceiros molares humanos hígidos recém-extraídos, enquanto que as HUVECs foram adquiridas comercialmente e, após as monoculturas e co-culturas em diferentes proporções de ambas as células serem feitas, passaram a ser encapsuladas em concentrações distintas de PuraMatrix (DISSANAYAKA et al., 2015). Observou-se que o arcabouço de hidrogel peptídico propiciou o desenvolvimento de uma rede vascular HUVEC estável firmada por DPSCs em seu interior, caracterizando como o melhor resultado o grupo de co-cultura de células HUVECs e DPSCs no microambiente de concentração 0,15% de PuraMatrix (DISSANAYAKA et al., 2015). Relatou-se, ainda, a capacidade de DPSCs de mediar a angiogênese *in vitro*, especialmente pela expressão de VEGF, assim como a observação de que a regeneração da totalidade do tecido pulpar é diretamente dependente de uma conexão vascular (DISSANAYAKA et al., 2015).

Esses autores demonstraram, também, a ocorrência de regeneração parcial do tecido tipo polpa em transplantes *in vivo*, com a região coronal do canal radicular sem contato com a vasculatura do hospedeiro, tendo a abertura coronal selada com trióxido mineral agregado MTA. A equipe fez ainda uma observação sobre o uso de HUVECs no contexto clínico por causa da incompatibilidade imunológica que apresenta, podendo ser substituída por células endoteliais progenitoras e células endoteliais microvasculares (DISSANAYAKA et al., 2015).

Em uma abordagem com o intuito de desenvolver um transportador de células-tronco da polpa dentária (DPSCs) que apresentem um potencial angiogênico, KUANG R. et al. (2016) desenvolveram um copolímero em bloco fabricado em microesferas nanofibras esponjosas (NF-SMS) interconectadas em microesferas injetáveis, cultivadas em um meio hipóxico e, então, injetadas no canal radicular. Como resultado, os pesquisadores observaram, como consequência da hipóxia, aumento da expressão de VEGF pelas hDPSCs através da ativação do fator indutível por hipóxia (HIF-1 $\alpha$ ), originando uma vascularização mais abundante e, devido à

composição fibrosa do arcabouço, melhor proliferação e fixação das hDPSCs *in vitro*, com capacidade de regeneração de tecido vascularizado semelhante a polpa em modelo de implantação subcutânea em camundongo e modelo *in situ* de reparo da polpa dental em camundongos (KUANG et al., 2016). Foi possível observar no tecido regenerado uma organização histológica com estrutura de polpa dental natural, acreditando-se que a alta vascularização do tecido do grupo cultivado em hipóxia regulou a organização do tecido durante o processo de regeneração (KUANG et al., 2016).

ATHIRASALA et al. (2017) propuseram uma estratégia de fabricação de construções de tecido semelhante a polpa pré-vascularizados de hidrogel GelMA em canais radiculares completos *in vitro*, com o desenvolvimento de uma vasculatura feita através da engenharia de tecidos que acompanhe o tecido semelhante a polpa desde o início do processo regenerativo, com o objetivo de prevenir a hipóxia tecidual até a instauração da neo-vasculogênese. No estudo, embebidas em hidrogel GelMA, células semelhantes a odontoblastos (OD21) foram utilizadas, assim como células endoteliais formadoras de colônias (ECFCs) potencializando-se as condições de promoção de formação de monocamadas endoteliais no hidrogel com maior rigidez (ATHIRASALA et al., 2017). O microcanal a ser inserido no hidrogel GelMA com células foi fabricado a partir de fibras de agarose sacrificial modelada com uso de capilar de vidro equipado com um pistão de metal no interior e, então, posicionaram-se as fibras sacrificiais dentro de um dente, no centro aproximado de um pré-molar previamente preparado e desinfetado, e seguiu-se com o preenchimento da câmara pulpar e do canal radicular com precursor do hidrogel carregado com OD21, cercando completamente a fibra de agarose que, após fotopolimerização do hidrogel GelMA, foi aspirada e, então, as ECFCs foram semeadas nos microcanais construídos (ATHIRASALA et al., 2017). Observou-se, além das formação da monocamada endotelial dentro do microcanal, o desenvolvimento de brotos angiogênicos ativos posteriormente a sete dias de cultura (ATHIRASALA et al., 2017). Os pesquisadores relataram que é um estudo que serve como base para novas pesquisas de desenvolvimento de estratégias para a engenharia da polpa dental vascularizada mais sintetizada e eficiente, com uso de outros tipos celulares, visto que, para este estudo, foram utilizadas células de animais que apresentam incompatibilidade para uso clínico (ATHIRASALA et al., 2017).

Com o intuito de investigar o potencial de indução da angiogênese do iloprost, uma prostaciclina exógena de ação prolongada, SEANG et al. (2018) desenvolveram um sistema tridimensional de cultura de órgão, utilizando fatias de dente humano com o tecido pulpar ileso. Como resultado da pesquisa, os autores observaram aumento da expressão de VEGF através dos marcadores histo-químicos, caracterizando a promoção da angiogênese no grupo de sistema cultivado com iloprost, com aumento de formação de novos vasos sanguíneos (SEANG et al., 2018). De acordo com SEANG et al. (2018), iloprost pode ser uma biomolécula favorável para o aumento da formação de novos vasos sanguíneos.

JUN et al. (2018) fizeram um experimento com a finalidade de investigar o potencial angiogênico em células da polpa dentária (DPCs) e células endoteliais, de um tipo de plasma de fibrina, o concentrado de fatores de crescimento (CGF), que possui numerosos fatores de crescimento, como o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), o fator de crescimento de fibroblastos (FGF), fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), entre outros. Segundo os autores, a abordagem de concentrado de plaquetas é ser um arcabouço natural advindo do sangue humano, que apresenta a capacidade de agilizar o reparo tecidual e, por não possuir o total de componentes do sangue, afasta o risco de doenças infecciosas (JUN et al., 2018). Nesse experimento, JUN et al. (2018) elaboraram o CGF através da centrifugação do sangue coletado de três adultos saudáveis e não fumantes, com a filtração dos coágulos de CGF. Foram semeadas DPCs e células endoteliais da veia umbilical humana (HUVECs) em meio com CGF em diferentes concentrações, sendo que as células endoteliais nessas diferentes concentrações de CGF foram inseridas em matrigel e cultivadas (JUN et al., 2018). Os autores observaram que as DPCs cultivadas com CGF tiveram maior proliferação celular em comparação com o grupo controle, assim como as HUVECs, que ainda obtiveram maior migração celular e, ainda, nas células endoteliais tratadas com CGF cultivadas em matrigel, verificou-se a formação de estruturas semelhantes a vasos sanguíneos após quatro horas, com aumento quantitativo de desenvolvimento de tubos em comparação ao grupo controle (JUN et al., 2018). Com os resultados do estudo, os pesquisadores observaram, ainda, o aumento da expressão de VEGF, PDGF nas DPCs, sugerindo que o CGF apresenta um papel significativo na revascularização da polpa dental, porém ressaltaram que se fazem necessários estudos futuros com CGF *in vivo* (JUN et al., 2018).



## 5. DISCUSSÃO

Vascularização é sinônimo de vida, pois é a partir desse processo que se inicia a complexidade do desenvolvimento na fase embrionária, caracterizado pela diferenciação de tecidos e o desenvolvimento dos órgãos (RISAU et al., 1995). A garantia da existência e possível manutenção de processos fisiológicos também se dá através da circulação sanguínea na vida adulta. Faz-se marcadora para funcionalidade, vitalidade, regeneração, compatibilidade, sobrevivência e outras tantas situações em que a vascularização atua concomitantemente ou, ainda, se apresenta como resultado.

São inúmeros os processos dependentes da formação de novos vasos sanguíneos, tanto em situações fisiológicas como patológicas e que podem ocorrer nas diferentes regiões do corpo humano. As pesquisas feitas através de modelos angiogênicos *in vitro*, com o intuito de investigação dos mecanismos envolvidos durante o processo (KAULLY et al., 2009) determinaram a possibilidade da compreensão da angiogênese aberrante que ocorre em patologias como o câncer, e, a partir disso, tornou-se possível desenvolver terapias com moléculas-alvo (POLVERINI et al., 2002). Em situações em que os tecidos necessitam de maior fluxo sanguíneo, como no reparo de feridas, fisiologicamente, a formação de novos vasos sanguíneos ocorre de maneira controlada através do equilíbrio de fatores pró-angiogênicos e as moléculas inibidoras do processo (SAGHIRI et al., 2015). Esse processo fisiológico de formação de novos vasos sanguíneos faz-se vital da mesma forma no sucesso da implantação das construções teciduais a partir da Engenharia de Tecidos, sendo a base para adaptação e sobrevivência no tecido em que foi introduzido.

Assim como ocorre com os tecidos lesados durante a cicatrização, construções teciduais da Engenharia de Tecidos necessitam de maior aporte sanguíneo no momento da implantação, para garantir que todas as regiões recebam oxigênio e nutrientes suficientes, de acordo com a demanda de cada tecido. Como processo natural, o organismo hospedeiro do implante desenvolve o brotamento dos vasos sanguíneos com o intuito de suprir as necessidades que o tecido implantado está demandando através da hipóxia, porém caracteriza-se por um processo lento, incapaz de garantir a chegada de novos vasos sanguíneos antes da necrose de células que residem no interior dos tecidos implantados (KAULLY et al., 2009). Da

mesma forma, o organismo tenta suprir o novo tecido que apresenta carência de oxigênio através da difusão tecidual, que só beneficia as células que se encontram próximas aos vasos sanguíneos do organismo hospedeiro, que estão na periferia do tecido implantado (DISSANAYAKA et al., 2017; KAULLY et al., 2009).

A área da Engenharia de Tecidos é uma área multidisciplinar que ao longo dos últimos anos, junto ao avanço da tecnologia, tornou realidade o que se pensava ser, como citado por GALLER et al. (2011), “ficção científica”, como o primeiro transplante bem-sucedido de traqueia desenvolvida a partir da Engenharia de Tecidos e, na área da Odontologia, o desenvolvimento do primeiro germe dental com bioengenharia. Esse novo campo na área odontológica está em crescente desenvolvimento, com terapias clínicas com desfechos favoráveis, e está presente tanto no campo da regeneração do complexo dentino-pulpar, como na regeneração óssea, abrangendo diferentes áreas de atuação (GALLER et al., 2011; YADLAPATI et al., 2017).

O desafio da vascularização ideal durante o processo de regeneração do tecido pulpar potencializou o aumento de pesquisas de estratégias, com o intuito da resolutividade dessa desafiadora barreira, e diferentes abordagens estão sendo desenvolvidas ao redor do mundo com pesquisas para o desenvolvimento da vascularização do tecido semelhante à polpa desenvolvidos através da Engenharia de Tecidos (ATHIRASALA et al., 2017), como as que foram apresentadas neste estudo. Muitos dos resultados promissores das pesquisas de vascularização nas construções de bioengenharia estão servindo como norteadores para futuras pesquisas, tanto na área da medicina regenerativa aplicada na Odontologia, como em estudos desenvolvidos dentro da Odontologia regenerativa, com a expectativa de cada vez mais chegar perto da resolução da dificuldade envolvida na vascularização ideal nos tecidos implantados.

Estratégias de regeneração do tecido pulpar se encontram como uma alternativa ao tratamento endodôntico convencional, na área da endodontia regenerativa, e buscam o mesmo desfecho a partir de diferentes protocolos: a regeneração pulpar, com o restabelecimento de sua funcionalidade e biologia (ATHIRASALA et al., 2017; KUANG et al., 2016; ERAMO et al., 2017).

Algumas abordagens envolvem o transplante de células, enquanto outras são caracterizadas por arcabouços sem células e com fatores de crescimento, conhecido como *homing* celular (ERAMO et al., 2017). Cada estratégia empregada nas

pesquisas possui dificuldades em aplicabilidade clínica, como a vascularização insatisfatória para a viabilidade do transplante de células, o alto custo envolvido e a complexidade da técnica, assim como, no caso do *homing* celular, a insuficiência de células endógenas para serem atraídas quimiotaticamente pelos fatores de crescimento inseridos no arcabouço de material biocompatível, quando em dentes maduros com polpa inflamada (ERAMO et al., 2017). Dentro de cada estratégia de pesquisa com o objetivo de regeneração pulpar, seja *homing* celular ou em transplante de células, os estudos estão buscando solucionar os desafios encontrados em pesquisas anteriores.

Diferentes abordagens com o intuito de regenerar o tecido pulpar de dentes maduros se desenvolveram nos últimos anos, porém a necessidade de processos biológicos intensos para desenvolver uma vasculatura interconectada e funcional das estratégias propostas (ATHIRASALA et al., 2017), assim como a complexidade que envolve o desenvolvimento e o tempo prolongado de fabricação, caracterizam os empecilhos para a prática clínica. Conforme citado por ATHIRASALA et al. (2017), a falta de uma estratégia de biofabricação mais simplificada que permita o desenvolvimento de uma vasculatura de curto prazo e com maior capacidade de aplicabilidade clínica, faz-se o grande obstáculo para o uso clínico da endodontia regenerativa na regeneração do tecido pulpar em toda extensão do canal radicular em dentes maduros.

A ideia de que será possível manter a vitalidade da polpa dental em dentes maduros independente da origem que danificou o tecido, proporcionando a devolução da funcionalidade e maior longevidade ao dente em comparação à terapia endodôntica convencional, torna os esforços dos pesquisadores valiosíssimo na construção de uma nova Odontologia.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O tratamento endodôntico convencional é a solução protocolar para as lesões no tecido pulpar, que resultam no alívio da dor assim como na possibilidade de o dente ser mantido em boca, sem a polpa viva. O dente com canal radicular obturado com material inerte não apresenta mais vitalidade e, com isso, torna-se mais frágil e sem capacidade para combater infecções. Este estudo apontou a possibilidade de tratar a polpa dental e restabelecer a atividade biológica desse tecido e, conseqüentemente, manter a vitalidade do dente, sendo este o principal objetivo que a endodontia regenerativa está explorando através das pesquisas de estratégias da Engenharia de Tecidos.

Esta revisão de literatura mostrou que a angiogênese resultante dos ensaios e experimentos presentes nos estudos é aquela mediada pelo processo do brotamento de capilares a partir de vasos pré-existentes. Ainda foi possível observar a preocupação de garantir influxo sanguíneo aos tecidos regenerados ou desenvolvidos por Engenharia de Tecidos, visando a sua vitalidade e funcionalidade.

A complexidade da obtenção de células-tronco isoladas de tecidos, das técnicas de cultivo de células juntamente com o alto custo envolvido, a dificuldade ainda não vencida de fabricação de um arcabouço ideal e do desenvolvimento de uma vascularização satisfatória, são os desafios que a Engenharia de Tecidos está continuamente buscando solucionar, conforme descrito nesta revisão de literatura.

Os obstáculos que impossibilitam a aplicabilidade clínica das técnicas de regeneração do tecido pulpar em toda extensão do canal radicular de dentes maduros são análogas aos que a Engenharia de Tecidos enfrenta, conforme já elencados. Porém, não está distante o futuro em que a execução clínica será viável, devido aos avanços cada vez mais precisos das estratégias regenerativas, assim como os vastos esforços dos pesquisadores em diferentes partes do mundo. Dessa forma, ficará na mão dos cirurgiões-dentistas que buscam o melhor para o bem-estar e qualidade de vida de seus pacientes, a constante atualização frente à nova Odontologia.

## 7. REFERÊNCIAS

AGHASAFARI, Parya; GEORGE, Uduak; PIDAPARTI, Ramana. A review of inflammatory mechanism in airway diseases. **Inflammation Research**, [s.l.], p.1-16, 10 out. 2018. Springer Nature America, Inc.

AIRD, William C. Phenotypic Heterogeneity of the Endothelium. **Circulation Research**, [s.l.], v. 100, n. 2, p.174-190, 2 fev. 2007. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health).

APTE, Rajendra S.; CHEN, Daniel S.; FERRARA, Napoleone. VEGF in Signaling and Disease: Beyond Discovery and Development. **Cell**, [s.l.], v. 176, n. 6, p.1248-1264, mar. 2019. Elsevier BV.

ATHIRASALA, Avathamsa *et al.* A Novel Strategy to Engineer Pre-Vascularized Full-Length Dental Pulp-like Tissue Constructs. **Scientific Reports**, [s.l.], v. 7, n. 1, p.1-11, 12 jun. 2017. Springer Nature.

BLANCO, R.; GERHARDT, H. VEGF and Notch in Tip and Stalk Cell Selection. **Cold Spring Harbor Perspectives In Medicine**, [s.l.], v. 3, n. 1, p.1-19, 19 out. 2012. Cold Spring Harbor Laboratory.

CARMELIET, Peter; JAIN, Rakesh K. Angiogenesis in cancer and other diseases. **Nature**, [s.l.], v. 407, n. 6801, p.249-257, set. 2000. Springer Nature.

CONSOLARO, Alberto *et al.* **Inflamação e reparo: um sílabo para a compreensão clínica e implicações terapêuticas**. Maringá: Dental Press International, 2009. 352 p.

DISSANAYAKA, W.I. *et al.* Scaffold-free Prevascularized Microtissue Spheroids for Pulp Regeneration. **Journal Of Dental Research**, [s.l.], v. 93, n. 12, p.1296-1303, 8 set. 2014. SAGE Publications.

DISSANAYAKA, Waruna Lakmal *et al.* The Interplay of Dental Pulp Stem Cells and Endothelial Cells in an Injectable Peptide Hydrogel on Angiogenesis and Pulp Regeneration In Vivo. **Tissue Engineering Part A**, [s.l.], v. 21, n. 3-4, p.550-563, fev. 2015. Mary Ann Liebert Inc.

DISSANAYAKA, Waruna Lakmal; ZHANG, Chengfei. The Role of Vasculature Engineering in Dental Pulp Regeneration. **Journal Of Endodontics**, [s.l.], v. 43, n. 9, p.102-106, set. 2017. Elsevier BV.

DVORAK, H. F. Angiogenesis: update 2005. **Journal Of Thrombosis And Haemostasis**, [s.l.], v. 3, p.1835-1842, 2005.

ERAMO, S. *et al.* Dental pulp regeneration via cell homing. **International Endodontic Journal**, [s.l.], v. 51, n. 4, p.405-419, 7 nov. 2017. Wiley.

FERRARA, Napoleone; GERBER, Hans-peter; LECOATER, Jennifer. The biology of VEGF and its receptors. **Nature Medicine**, [s.l.], v. 9, n. 6, p.669-676, jun. 2003. Springer Nature.

FLAMME, Ingo *et al.* Molecular Mechanisms of Vasculogenesis and Embryonic Angiogenesis. **Journal Of Cellular Physiology**. v. 73 p. 206 – 210, 1997.

FOLKMAN, Judah; SHING Yuen. Angiogenesis. **The Journal of Biological Chemistry**. v. 267, n 16, Issue of June 5. p. 10931-10934, 1992.

GALLER, K. M. *et al.* Scaffolds for Dental Pulp Tissue Engineering. **Advances in Dental Research**. v. 23, n. 3, p. 333-339, 2011.

GIRAUD, Thomas *et al.* Pulp capping materials modulate the balance between inflammation and regeneration. **Dental Materials**, [s.l.], p.1-12, set. 2018. Elsevier BV.

GONCALVES, S *et al.* Tooth Slice–Based Models for the Study of Human Dental Pulp Angiogenesis. **Journal Of Endodontics**, [s.l.], v. 33, n. 7, p.811-814, jul. 2007. Elsevier BV.

JUN, Huan *et al.* Effects of concentrated growth factors on the angiogenic properties of dental pulp cells and endothelial cells: an in vitro study. **Brazilian Oral Research**, [s.l.], v. 32, p.1-9, 11 jun. 2018. Fap UNIFESP (SciELO).

KAULLY, Tamar *et al.* Vascularization—The Conduit to Viable Engineered Tissues. **Tissue Engineering Part B: Reviews**, [s.l.], v. 15, n. 2, p.159-169, jun. 2009. Mary Ann Liebert Inc.

KHURANA, Rohit; SIMONS, Michael. Insights from Angiogenesis Trials Using Fibroblast Growth Factor for Advanced Arteriosclerotic Disease. **Trends In Cardiovascular Medicine**, [s.l.], v. 13, n. 3, p.116-122, abr. 2003. Elsevier BV.

KUANG, Rong *et al.* Nanofibrous spongy microspheres for the delivery of hypoxia-primed human dental pulp stem cells to regenerate vascularized dental pulp. **Acta Biomaterialia**, [s.l.], v. 33, p.225-234, mar. 2016. Elsevier BV.

MADEDDU, Paolo. Therapeutic angiogenesis and vasculogenesis for tissue regeneration. **Experimental Physiology**, [s.l.], v. 90, n. 3, p.315-326, maio 2005. Wiley.

MATTUELLA, Leticia Grando *et al.* Vascular Endothelial Growth Factor and Its Relationship With the Dental Pulp. **Journal Of Endodontics**, [s.l.], v. 33, n. 5, p.524-530, maio 2007. Elsevier BV.

MENTZER, Steven J.; KONERDING, Moritz A. Intussusceptive angiogenesis: expansion and remodeling of microvascular networks. **Angiogenesis**, [s.l.], v. 17, n. 3, p.499-509, 26 mar. 2014. Springer Nature.

MICHIELS, Carine. Endothelial cell functions. **Journal Of Cellular Physiology**, [s.l.], v. 196, n. 3, p.430-443, 25 jul. 2003. Wiley.

NOWAK-SLIWINSKA, Patrycja *et al.* Consensus guidelines for the use and interpretation of angiogenesis assays. **Angiogenesis**, [s.l.], v. 21, n. 3, p.425-532, 15 maio 2018. Springer Nature.

POLVERINI, Peter J.; D.D.S. Angiogenesis in Health and Disease: Insights into Basic Mechanisms and Therapeutic Opportunities. **Journal Of Dental Education**, Minneapolis, v. 66, n. 8, p.962-975, 3 jul. 2002. Journal of Dental Education.

ROBERTS-CLARK, D.j.; SMITH, A.j. Angiogenic growth factors in human dentine matrix. **Archives Of Oral Biology**, Birmingham, v. 45, n. 11, p.1013-1016, 30 maio 2000. Elsevier BV

ROMBOUTS, C. *et al.* Pulp Vascularization during Tooth Development, Regeneration, and Therapy. **Journal Of Dental Research**, [s.l.], v. 96, n. 2, p.137-144, 11 out. 2016. SAGE Publications.

RISAU, Werner *et al.* Vasculogenesis. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**. v. 11, p. 73-91, 1995.

RUNDHAUG Joyce E. Matrix Metalloproteinases and Angiogenesis. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**. V. 9, n. 3, p. 267-285, agosto de 2005.

SAGHIRI, Mohammad Ali *et al.* Role of Angiogenesis in Endodontics: Contributions of Stem Cells and Proangiogenic and Antiangiogenic Factors to Dental Pulp Regeneration. **Journal Of Endodontics**, [s.l.], v. 41, n. 6, p.797-803, jun. 2015. Elsevier BV.

SEANG, Sonntana; PAVASANT, Prasit; LIMJEERAJARUS, Chalida N. Iloprost Induces Dental Pulp Angiogenesis in a Growth Factor-free 3-Dimensional Organ Culture System. **Journal Of Endodontics**, [s.l.], v. 44, n. 5, p.759-764, maio 2018. Elsevier BV.



SPIEGELAERE, Ward de *et al.* Intussusceptive Angiogenesis: A Biologically Relevant Form of Angiogenesis. **Journal Of Vascular Research**, [s.l.], v. 49, n. 5, p.390-404, 2012. S. Karger AG.

SWEENEY, Mark; FOLDES, Gabor. It Takes Two: Endothelial-Perivascular Cell Cross-Talk in Vascular Development and Disease. **Frontiers In Cardiovascular Medicine**, [s.l.], v. 5, p.1-14, 30 out. 2018. Frontiers Media SA.

THURSTON, Gavin. Role of Angiopoietins and Tie receptor tyrosine kinases in angiogenesis and lymphangiogenesis. **Cell And Tissue Research**, [s.l.], v. 314, n. 1, p.61-68, 1 out. 2003. Springer Science and Business Media LLC.

UCCELLI, Andrea *et al.* Vascular endothelial growth factor biology for regenerative angiogenesis. **Swiss Medical Weekly**, [s.l.], p.1-8, 27 jan. 2019. EMH Swiss Medical Publishers, Ltd.

WOLF, Katharine *et al.* Molecular identity of arteries, veins, and lymphatics. **Journal Of Vascular Surgery**, [s.l.], v. 69, n. 1, p.253-262, jan. 2019. Elsevier BV.


YADLAPATI, Mamatha *et al.* Characterization of a Vascular Endothelial Growth Factor–loaded Bioresorbable Delivery System for Pulp Regeneration. **Journal Of Endodontics**, [s.l.], v. 43, n. 1, p.77-83, jan. 2017. Elsevier BV.

ZIMTA, Alina-andreea *et al.* The Role of Angiogenesis and Pro-Angiogenic Exosomes in Regenerative Dentistry. **International Journal Of Molecular Sciences**, [s.l.], v. 20, n. 2, p.1-26, 18 jan. 2019. MDPI AG.

ZHANG, Rong *et al.* Angiogenic Activity of Dentin Matrix Components. **Journal Of Endodontics**, [s.l.], v. 37, n. 1, p.26-30, jan. 2011. Elsevier BV.

ZHANG, Weibo; YELICK, Pamela C. Vital Pulp Therapy—Current Progress of Dental Pulp Regeneration and Revascularization. **International Journal Of Dentistry**, [s.l.], v. 2010, p.1-9, 2010. Hindawi Limited.

## 8. ANEXO- Ata de apresentação do trabalho de conclusão de curso


**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**CURSO DE ODONTOLOGIA**  
**DISCIPLINA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE ODONTOLOGIA**

**ATA DE APRESENTAÇÃO DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

Aos 21 dias do mês de outubro de 2019, às 09 horas, em sessão pública no (a) auditório CES desta Universidade, na presença da Banca Examinadora presidida pelo Professor Robel O. F. Bordin e pelos examinadores:

1 - Thais M. Duque  
 2 - Beatriz Dulcinia Mendes de Souza  
 o aluno Dara Lema Riccinin Villarroel apresentou o Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação intitulado: Angiogênese Pulpar: Biologia, Importância e aplicações Terapêuticas - Uma Revisão de literatura como requisito curricular indispensável à aprovação na Disciplina de Defesa do TCC e a integralização do Curso de Graduação em Odontologia. A Banca Examinadora, após reunião em sessão reservada, deliberou e decidiu pela aprovação do referido Trabalho de Conclusão do Curso, divulgando o resultado formalmente ao aluno e aos demais presentes, e eu, na qualidade de presidente da Banca, lavrei a presente ata que será assinada por mim, pelos demais componentes da Banca Examinadora e pelo aluno orientando.

Robel O. F. Bordin  
 Presidente da Banca Examinadora

Thais M. Duque  
 Examinador 1

Beatriz Dulcinia Mendes de Souza  
 Examinador 2

Dara Lema Riccinin Villarroel  
 Aluno