

Avanços nos scaffolds usados em engenharia de tecidos do complexo dentino-pulpar: revisão sistemática

Dissertação apresentada à Universidade Católica Portuguesa para obtenção
do grau de Mestre em Medicina Dentária

Por:
André Guilherme Santos Domingues

Viseu, Novembro de 2024

Avanços nos scaffolds usados em engenharia de tecidos do complexo dentino-pulpar: revisão sistemática

Dissertação apresentada à Universidade Católica Portuguesa para obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Por:

André Guilherme Santos Domingues

Orientadora: Prof^ª Doutora Sara Paixão

Co-orientador: Prof. Doutor Miguel Cardoso

Viseu, Novembro de 2024

Membros do Júri das Provas Públicas

Presidente: Prof. Doutora Ana Sofia Duarte, Professora Auxiliar
(Categoria profissional e Filiação académica)

Arguente: Prof. Doutora Rita Noites, Professora Auxiliar
(Categoria profissional e Filiação académica)

Orientador: Prof. Doutora Ana Sara Paixão, Professora Auxiliar Convidada
(Categoria profissional e Filiação académica)

Classificação: 11 valores
Data das provas públicas: 28 /11 /2024

Validação e confirmação pelos serviços
escolares:

Epígrafe

‘Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota.’

Madre Teresa de Calcutá

Dedicatória

Aos meus pais, Guilherme e Nazaré, que sempre foram e serão o meu maior apoio, incondicional, em todas as situações, adversidades, conquistas e vitórias.

Por todos os valores e todos os ensinamentos que me transmitiram.

Por todas as manifestações de amor e todas as palavras necessárias, nos momentos fulcrais.

Por todo o altruísmo que me ensinaram a ter e consideração pelo próximo.

Por todo o respeito e amor à camisola, aquando do mundo do trabalho.

Por todos os carinhos e abraços que foram partilhados.

Por todas as lembranças que são tão recordadas.

Por todas as recordações maravilhosas que ficaram.

À minha irmã, Rita, que sempre acompanhou o meu percurso de vida e sempre soube ter as palavras certas e os conselhos certos para dar.

Por todas as vezes em que o 'não' foi a palavra certa a dizer, mesmo que o 'sim' fosse o caminho mais fácil.

Por todas as vezes em que o teu conselho era o mais indicado e claro, numa fase de dúvida.

Por todas as vezes em que eu precisava de um porto de abrigo e tu estavas lá.

Por todas as vezes em que te dei dores de cabeça e mesmo assim não desististe.

Por todos os ensinamentos e lições de vida de mana mais velha.

Por todo o carinho, amizade e amor que temos.

Agradecimentos

Aos meus pais, novamente. Sem eles, eu não era quem sou, nem teria atingido o que atingi. Eternamente grato a vocês, estejam vocês onde estiverem, sei que estão orgulhosos do que consegui obter. Esta é para vocês!

À minha irmã, novamente. Foi o meu porto seguro e o meu braço direito nos momentos mais importantes e críticos da minha vida, nunca deixou de acreditar em mim.

Ao meu avô, António dos Santos. Um homem repleto de sabedoria, com uma calma de fazer inveja e que tanto pediu a Deus para me ajudar neste percurso.

Ao meu cunhado; Manecas. Sempre pronto a dar uma força e uma ajuda quando as mesmas eram precisas e necessárias.

À minha namorada, Daniela Gomes. Um dos meus braços direitos e uma das minhas maiores fontes de força de energia, sempre com uma palavra de força positiva e um abraço no momento certo.

À minha orientadora, Professora Doutora Sara Paixão, pelo incentivo e ajuda, que foram fundamentais, juntamente com a paciência e disponibilidade.

Ao meu co-orientador, Professor Doutor Miguel Cardoso, pela disponibilidade e prontidão.

Aos meus companheiros de faculdade, Jorge Branquinho, Dylan de Carvalho, António Andrade e Eduardo Batista, que estiveram sempre presente nos bons e maus momentos, com um sorriso e uma mão aberta para ajudar.

Em particular, ao meu binómio, Jorge Branquinho, que sempre foi a pessoa mais disponível para ajudar em tudo, sempre pronto a dar uma mão e a dar uma palavra e uma dica em relação a tudo o que fosse necessário. Por todas as risadas e gargalhadas passadas e também, todos os momentos de receio e ansiedade. Sem ti, não teria terminado este curso, parceiro.

A todos os professores, pelo amor e capacidade que demonstram e na prontidão de ensino e em ajudar-nos, a nós, alunos, a sermos seres humanos ainda melhores e profissionais de saúde com capacidade para sermos brilhantes.

Em particular, à Professora Doutora Rita Pereira, por todas as dicas brilhantes e por todos os sorrisos partilhados, pela preocupação e disponibilidade inigualáveis.

Em particular, ao Professor Doutor Bruno Leitão, por todas as palavras de calma no momento certo, pela ajuda e disponibilidade e por todos os sorrisos partilhados.

Em particular, ao Professor Doutor Nélcio Veiga, que me ajudou a ingressar nesta universidade para concretizar o sonho de ser Médico Dentista.

A todos os funcionários e auxiliares, que lutam diariamente para uma UCP-Viseu melhor e conseguem fazer com que o mesmo aconteça.

Em particular, ao meu amigo, Carlos Maio, por toda a amizade e momentos partilhados, que fizeram sempre com que eu ficasse com um sorriso na cara.

A todos os meus amigos, que me desejavam o melhor, no meu percurso académico.

Aos restantes colegas da UCP-Viseu, que sempre tinham uma palavra de força e uma palavra de alento nos momentos mais difíceis, assim como uma gargalhada e um sorriso, nos momentos mais felizes.

A todos vocês, o meu muito obrigado, levo todos no meu coração.

Resumo

Introdução: Nos dias que correm, perante uma situação em que seja necessário um tratamento endodôntico, recorreremos à endodontia clássica, que atua na remoção da polpa dentária, com limas dentárias e substituição da mesma por guta-percha e cimento endodôntico, ficando estes materiais no interior dos canais dentários. No entanto, com a endodontia regenerativa, vamos avaliar a possibilidade de existir um tratamento alternativo à endodontia clássica, de forma a utilizar proteínas e outro tipo de moléculas que podem ajudar a fomentar o crescimento de novas células, através de *scaffolds* dentários.

Materiais e métodos: A presente revisão sistemática seguiu a questão principal PICO, com critérios de inclusão e critérios de exclusão, fundamentando-se nas *guidelines* PRISMA. Foram utilizadas plataformas de pesquisa de artigos, como a PubMed e a ScienceDirect, assim como foi utilizado um processo de triagem para determinar os artigos finais a serem utilizados.

Resultados: Após a seleção final, foram analisados 6 artigos para análise detalhada que referenciavam alguns *scaffolds* na ação dos mesmos, em relação a grupos controlo ou grupos com diferentes *scaffolds* entre si. De uma forma geral, foram obtidos bons valores a nível de resolução sintomática dos pacientes, assim como no comprimento das raízes e também na grossura das paredes dentinárias das raízes.

Conclusão: Apesar dos valores positivos obtidos nestes estudos, estatisticamente as diferenças entre os valores obtidos nos grupos controlo e experimentais não foram suficientes para definirem a vantagem da utilização dos *scaffolds*.

Palavras-chave: Endodontia; Scaffolds 3D; Engenharia de tecidos; Complexo dentino-pulpar

Abstract

Introduction: Nowadays, when we have a situation that needs an endodontic treatment, we use the classic endodontic approach, removing the dental pulp, using dental files and replacing the dental pulp with cones of guta-percha and endodontic sealers. However, trough the regenerative endodontics, we're going to evaluate the possibility of a different approachs instead of the normal use of the classic endodontics, using proteins and other source of molecules that can try to create the formation of new cells, and suddenly new dental pulp, through dental scaffolds.

Materials and Methods: The present systematic revision followed the main question PICO, with inclusion and exclusion criteria, grounding itself in the PRISMA guidelines. There were used search platforms, like PubMed and ScienceDirect and it was done a screening process to choose the final articles on use.

Results: After the final selection, 6 articles that compared the direct action of scaffolds, in between control groups and experimental groups or different scaffolds in different groups were choosen to further and deeper analysis. In general, good results were obtain in resolving symptoms, as in the the rooth length and in the rooth wall thickness.

Conclusion: Despite the results being positive in these studies, statistically the differences obtained in the control and experimental groups were not enough to establish the advantages of the scaffolds.

Keywords: Endodontics; 3D Scaffolds; Tissue engineering; Pulp-dentine complex

Índice

1. INTRODUÇÃO.....	2
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	8
Questão Principal	8
Critérios de Inclusão de Estudo	8
Critérios de Exclusão de Estudo.....	8
Estratégia de Pesquisa	9
Processo de Triagem	9
3. RESULTADOS	11
Tipos de dentes selecionados nos estudos.....	19
Modos de desinfecção utilizados	19
Tipos de medicação intracanal	20
Tempo de duração da medicação intracanal	20
Tipos de scaffolds usados nos estudos.....	21
Tipo de restauração efetuada.....	21
Tempo de follow-up dos pacientes.....	22
4. DISCUSSÃO.....	28
5. CONCLUSÃO.....	33
6. BIBLIOGRAFIA	35

Índice de figuras

Figura 1: Diagrama PRISMA.....	11
Figura 2: Tipos de dentes selecionados nos estudos.....	19
Figura 3: Modos de desinfecção utilizados.....	19
Figura 4: Tipos de medicação intracanal20	
Figura 5: Tempo de duração da medicação intracanal20	
Figura 6: Tipos de scaffolds usados nos estudos21	
Figura 7: Tipo de restauração efetuada21	
Figura 8: Tempo de follow-up dos pacientes.....	22

Índice de tabelas

Tabela 1: Características gerais dos estudos..... 13

Tabela 2: Qualidade dos estudos24

Siglas e acrónimos:

Células precursoras do folículo dentário (DFPCs)

Células-tronco da polpa dentária (DPSCs)

Células-tronco do ligamento periodontal (PDLSCs)

Células da papila apical (SCAP cells)

Células-tronco de dentes decíduos exfoliados (SHAD cells)

Ácidos polilácticos (PLA)

Ácidos poli-l-lácticos (PLLA)

Ácidos poliglicólicos (PGA)

Ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA)

Agregado de trióxido mineral (MTA)

Plasma rico em plaquetas (PRP)

Plasma rico em fibrina (PRF)

Coágulo sanguíneo (REG)

Hidrogel (FGF)

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

O que é a endodontia? A endodontia é uma especialidade do ramo da Medicina Dentária que estuda a parte fisiológica da polpa dentária, assim como a parte morfológica e trata a parte patológica da mesma. O seu foco tem como objetivo tratar todas as lesões associadas à polpa dentária, assim como aos tecidos radiculares associados às raízes dos dentes e consequentemente, à polpa. Sejam lesões causadas por cárie, por trauma ou por outro tipo de fatores associados. (1)

Na atualidade, as peças dentárias são constituídas por diversas estruturas e tecidos, dentro dos quais, o esmalte, a dentina, a polpa, entre outros. Estas são caracterizadas por determinadas células, que as constituem e promovem a sua função. (1)

Nesta revisão, iremos abordar o conceito do complexo dentina-polpa, assim como as técnicas ou métodos em estudo, com o intuito de percebermos se existem opções viáveis e factíveis, que possam ser um contorno às soluções atuais aquando da necessidade de um tratamento endodôntico. (1)

Apesar da dentina e da polpa serem distintas uma da outra, há forte evidência de que atuem como um tecido só, sendo que se diferenciam, por ser mais fácil e simples de as explicar ou descrever. Por exemplo, quando a dentina sofre uma agressão que leva à sua destruição, é iniciado um processo inflamatório com o intuito de proteger a polpa, assim como, é iniciada a produção de um tecido denominado de dentina terciária, sendo a mesma uma resposta biológica para manter a polpa impermeável e conseguir protegê-la do meio externo. (1)

Uma infeção na polpa dentária resultará numa inflamação da mesma e posterior infeção, pelo que, na atualidade a solução para esta, será uma pulpectomia e tratamento endodôntico, seja cirúrgico ou não cirúrgico, consoante a necessidade/gravidade do mesmo, seja por cárie, por doença periodontal, por trauma ou por fatores iatrogénicos não descritos. Algo que inicia com uma pulpite reversível, evoluindo para uma pulpite irreversível até se tornar numa necrose pulpar, sem o devido tratamento, acabará por necessitar da realização de um tratamento endodôntico. Mas apesar do tratamento endodôntico parecer uma solução definitiva, o dente endodonciado pode sofrer nova infeção ou até mesmo fratura, levando a tratamentos mais complexos e por conseguinte,

mais dispendiosos, como retratamentos endodônticos, cirurgias, necessidade de colocação de implantes, realização de enxertos ósseos, entre outros. (2)

No entanto, desenvolvimentos na área da medicina regenerativa, mais especificamente na área da endodontia regenerativa e também na engenharia de tecidos, possibilitaram a introdução de novas células com o intuito de conseguir regenerar o complexo dentina-polpa. (2,3)

A endodontia regenerativa é uma componente dentro da medicina regenerativa, que, juntamente com a engenharia tecidual, tenta ser uma alternativa à endodontia clássica, através da substituição de polpa necrosada por *scaffolds* que promovem a produção celular e conseguem providenciar o desenvolvimento de nova polpa dentária e tecido dentinário. (4)(5)(6,7)

Há também outro tipo de situações nas quais a endodontia regenerativa pode ser benéfica, como por exemplo: uma polpa necrosada em dente imaturo, não completamente desenvolvido, resultando num atraso do desenvolvimento da raiz do mesmo. Como opção terapêutica nestes casos, remove-se a polpa necrosada e são colocados *scaffolds* com células no interior do canal dentário, através de uma estrutura 3D, servindo os mesmos de matriz extracelular para o conteúdo celular, sendo porosos e permeáveis para facilitarem a migração e integração das células.(4) Este é um dos objetivos da endodontia regenerativa e da engenharia tecidual, a criação de *scaffolds* que possam ser biocompatíveis e também biodegradáveis, sem serem produtos tóxicos, capazes de providenciar o ambiente necessário ao desenvolvimento celular do complexo dentina-polpa. (3–5,8)

Os *scaffolds* têm de obedecer a determinados critérios, além dos referidos acima, para conseguirem cumprir a função para a qual foram criados, sendo esses critérios: tamanho e forma adequados, volume poroso adequado, baixa resposta imunitária e boa capacidade de vascularização. Tendo estes cumpridos, a comunicação celular e o suporte metabólico dos *scaffolds* podem ser mais eficazes e eficientes. (2,4)

Por isto, conseguimos perceber que a componente celular não só é importante, como fundamental, sendo que as células englobadas nos *scaffolds* devem conseguir diferenciar-se em vários tipos diferentes, como fibroblastos, odontoblastos, células nervosas, endoteliais e tendo capacidade de formação de novo tecido conjuntivo, tecido nervoso, vasos sanguíneos e também, dentina. (2,9) Além das células serem importantes e

fundamentais, também os *scaffolds* necessitam de cumprir determinados requisitos para conseguirem realizar com integridade a sua função. Ou seja, para garantir um procedimento regenerativo com sucesso, é necessário saber exatamente quais os tipos de *scaffolds* adequados ao tipo de tecido que pretendemos substituir ou mimetizar. (10)

Para que exista uma regeneração da polpa, terá de existir uma revascularização da mesma, assim como odontoblastos funcionais e também, fibras nervosas. Os três ingredientes para que esta regeneração ocorra com sucesso são a morfogénese, células-tronco e *scaffolds* de matriz extracelular. (8,11–14)

As células-tronco, são células embrionárias indiferenciadas ou células adultas que mantêm a sua divisão, sendo células totipotentes, podendo diferenciar-se em qualquer célula ou tecido, com capacidade de auto-regeneração. No entanto, as células-tronco adultas, só têm capacidade para se diferenciar em algumas, tais como DFPCs (células precursoras do folículo dentário), DPSCs (células-tronco da polpa dentária), PDLSCs (células-tronco do ligamento periodontal), SCAP *cells* (células da papila apical) e SHAD *cells* (células tronco de dentes decíduos exfoliados).(3,12,15,16)

Já nos *scaffolds*, temos outras classificações, tais como: degradação de matrizes, forma, presença ou ausência de células e também, com base na origem. Nos *scaffolds* com base na degradação de matrizes, estão englobados os biodegradáveis e os permanentes ou bioestáveis. Nos *scaffolds* com base na sua forma, temos os que são blocos sólidos, os que são folhas, os que são esponjas porosas e por último, os hidrogéis (*scaffolds* injetáveis). Nos *scaffolds* com base na presença ou ausência de células, dispomos dos que são semeados com células tronco e dos que não possuem células. Nos *scaffolds* com base na sua origem, possuímos os *scaffolds* naturais ou biológicos e os *scaffolds* artificiais ou sintéticos. Dentro dos *scaffolds* naturais, existem os plaquetários ricos em plasma, os plaquetários ricos em fibrina, os de colagénio, os de glicosaminoglicanos/ácido hialurónico, os de matriz dentinária desmineralizada e os de coágulos sanguíneos. Já dentro dos *scaffolds* artificiais, existem os polímeros, os de ácido poliláctico, os de ácido poliglicólico, os de ácido poliláctico-coglicólico, os de poliepsiloncaprolactona, os de biocerâmicas, os de cálcio, os bioativos vítreos e os de cerâmicas vítreas. Cada um destes possui vantagens e desvantagens.(10,12)

Posto isto, podemos dizer que a endodontia regenerativa já pode ter criado e fomentado vias alternativas à endodontia clássica, desde que haja a correta seleção e escolha do *scaffold* que seja mais indicado para um determinado tipo de tecido, de forma a aumentar e potenciar o sucesso do tratamento, providenciando assim resultados positivos e favoráveis.(4,9,10)

Nos *scaffolds* naturais, especialmente nos plaquetários ricos em plasma, os mesmos são autólogos, com uma fonte rica em fatores de crescimento, são simples de preparar e formam uma estrutura tridimensional (3D), de matriz de fibrina que permite e facilita a entrada de fatores de crescimento. A quantidade de plaquetas neste tipo de *scaffold* consegue ser cinco vezes superior à quantidade de plaquetas normal, o que leva a um aumento de fatores de crescimento e consequentemente, a um aumento da proliferação e das células tronco, para induzir regeneração de tecidos. No entanto, nem tudo são vantagens, este *scaffold* tem como desvantagens a necessidade de equipamento adequado para o mesmo e o aumento do custo do tratamento.(10,12,17,18)

Nos *scaffolds* naturais, plaquetários ricos em fibrina, estes podem ser considerados como concentrados imunes, com composições específicas e uma arquitetura 3D. Têm na sua composição vários fatores de crescimento distintos e são considerados como o biomaterial ideal para a regeneração do complexo dentina-polpa, atuam como barreira entre células desejadas e não desejadas, assim como têm a capacidade de acelerar o processo de regeneração após feridas, devido à sua constituição com fibrina e fatores de crescimento expelidos. O facto de possuírem fibrina na sua constituição é vantajoso, uma vez que a fibrina é um suporte natural de imunidade, devido à sua capacidade na angiogénese.(10,17,19)

Nos *scaffolds* de colagénio, tendo em conta que o colagénio é o maior componente das matrizes extracelulares e providencia uma boa força de tensão nos tecidos, este apresenta vantagens, tais como biocompatibilidade, é biodegradável, permite a formação de tecido mole e de tecido duro, no entanto, mecanicamente é fraco e entra rapidamente em degradação.(4,10–12,20,21)

Nos *scaffolds* de glicosaminoglicanos/ácido hialurónico existem vantagens, tais como: ajudam na diferenciação das células mesenquimatosas em odontoblastos, são biocompatíveis, ajudam na formação de matriz dentinária e também de polpa dentária, são

bioativos, mas devido à presença de ácido hialurônico na sua constituição são altamente solúveis em água e degradam-se facilmente em ambientes aquosos.(3,4,10–12)

Nos *scaffolds* de matriz dentinária desmineralizada temos vantagens também, como por exemplo: serem não imunogênicos e mecanicamente bem constituídos, têm ação direta na diferenciação de odontoblastos, são biocompatíveis, osteoindutores e também osteocondutores, mas como a desmineralização do dente é dependente do tempo (período de 2 a 6 dias), essa é uma das vantagens deste *scaffold*.(10)

Nos *scaffolds* artificiais ou sintéticos, existem os polímeros, tais como os ácidos polilácticos (PLA), os ácidos poli-L-lácticos (PLLA), os ácidos poliglicólicos (PGA), entre outros que têm sido usados como *scaffolds* para a regeneração pulpar. Estes têm vantagens, como serem biodegradáveis, não tóxicos, permitem um manuseio preciso da dureza mecânica, da taxa de degradação, da porosidade e da sua microestrutura. Polímeros sintéticos são degradados por hidrólise, enquanto os polímeros naturais são degradados através de enzimas. No entanto, como todos os outros, estes também têm desvantagens, tais como: podem causar uma inflamação aguda ou crônica na resposta do hospedeiro e também podem reduzir o pH localmente, devido à acidez dos produtos degradados.(3,4,10–12,15,22)

Nos *scaffolds* sintéticos ou artificiais, também existem os biocerâmicos, que são constituídos por cálcio, fosfato e cerâmicas vítreas. Estes podem ser modificados para obter melhores níveis de permeabilidade, alterar tamanho e formato dos poros para facilitar a dureza mecânica do *scaffold*, mas ao mesmo tempo, demoram muito tempo para serem produzidos, têm ausência de fases orgânicas, têm uma taxa de degradação lenta e densidade alta.(4,10,12)

Portanto, este trabalho tem como objetivo verificar e comparar a atuação de alguns tipos de *scaffolds* que já possuem testes realizados, através da análise detalhada e comparação entre alguns dos artigos que foram escolhidos e selecionados, com a atuação da endodontia tradicional.

MATERIAIS E MÉTODOS

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Questão Principal

A questão principal segue os padrões PICO:

Nos pacientes a necessitar de um tratamento a nível do complexo dentina-polpa através da engenharia tecidual com dentes imaturos (*Population*), qual o *scaffold* (*Intervention*) que supera os métodos convencionais (*Control*) em atingir equilíbrio e funcionalidade entre regeneração de tecidos e do complexo dentina-polpa (*Outcomes*)?

Critérios de Inclusão de Estudo

- Artigos originais de pesquisa focados na engenharia de tecidos relacionados com o complexo dentina-polpa.
- Estudos que reportem avanços no desenho de *scaffolds* e respetiva aplicação.
- Publicações na língua universal, Inglês.
- Investigações feitas em humanos e modelos animais.
- Artigos com relevância publicados nos últimos 10 anos.
- Estudos que providenciem informação detalhada sobre as características dos *scaffolds* e também, consequências dos mesmos.
- Estudo *in vivo* com relevância direta à regeneração tecidual e regeneração funcional.

Critérios de Exclusão de Estudo

- Investigações com falta de informação sobre as características e consequências dos *scaffolds*.
- Estudos *in vitro* sem relação direta com aplicações *in vivo*.
- Estudos com ênfase em aplicações de engenharia de tecidos *non-scaffold*.
- Resumos de conferências, pôsteres, e trabalhos não revistos por jornais científicos.

Estratégia de Pesquisa

O protocolo de pesquisa será descrito seguindo as diretrizes do PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*), abordando 27 pontos essenciais durante a elaboração da revisão sistemática. Além disso, será elaborado um diagrama de fluxo com quatro fases distintas, com o objetivo de proporcionar uma revisão transparente e compreensível.

Foi realizada uma pesquisa criteriosa para encontrar estudos relevantes através de bases de dados eletrônicas, incluindo *PubMed* e *ScienceDirect*. A pesquisa irá cobrir publicações realizadas nos últimos 10 anos. Adicionalmente, uma pesquisa suplementar irá triar secções referenciadas de estudos relevantes, elegíveis para inclusão na revisão sistemática.

A estratégia de pesquisa englobou as seguintes palavras-chave: ("Pulp Dentin Complex" OR "Tooth Pulp" OR "Dental Pulp Cavity") AND ("Tissue Engineering" OR "Biocompatible Materials" OR "Scaffolds, Tissue") AND ("Regeneration" OR "Restoration" OR "Functional Restoration").

Processo de Triagem

- Artigos selecionados da estratégia de pesquisa e que estejam englobados na triagem baseada na relevância do título ou do resumo.
- Estudos que englobem os critérios de inclusão e que sejam sujeitos a uma segunda triagem com base na revisão do texto inteiro descrito nos artigos.
- Os critérios de exclusão serão rigorosamente aplicados durante ambas as fases da triagem de artigos para garantir a qualidade e relevância dos estudos selecionados.

Esta estratégia de pesquisa tem como objetivo identificar e incluir estudos relevantes nos avanços em *scaffolds* na engenharia tecidual do complexo dentina-polpa, garantindo uma abordagem metódica e concisa para esta revisão sistemática.

RESULTADOS

3. RESULTADOS

Após a pesquisa nas bases de dados, foram obtidos cerca de 153 artigos, tendo filtrado os que se encontravam duplicados. Após filtrar os duplicados, sobraram um total de 147 artigos que cumpriam os critérios de inclusão. Após a leitura dos respectivos resumos, sobraram 24, dos quais foi necessário ler os artigos na sua totalidade, para interpretar se os mesmos se englobavam ou não na temática presente nesta revisão sistemática. Após esta filtragem, foram escolhidos 6 artigos para que os mesmos fossem incluídos nesta revisão sistemática, cumprindo assim os critérios de inclusão associados.

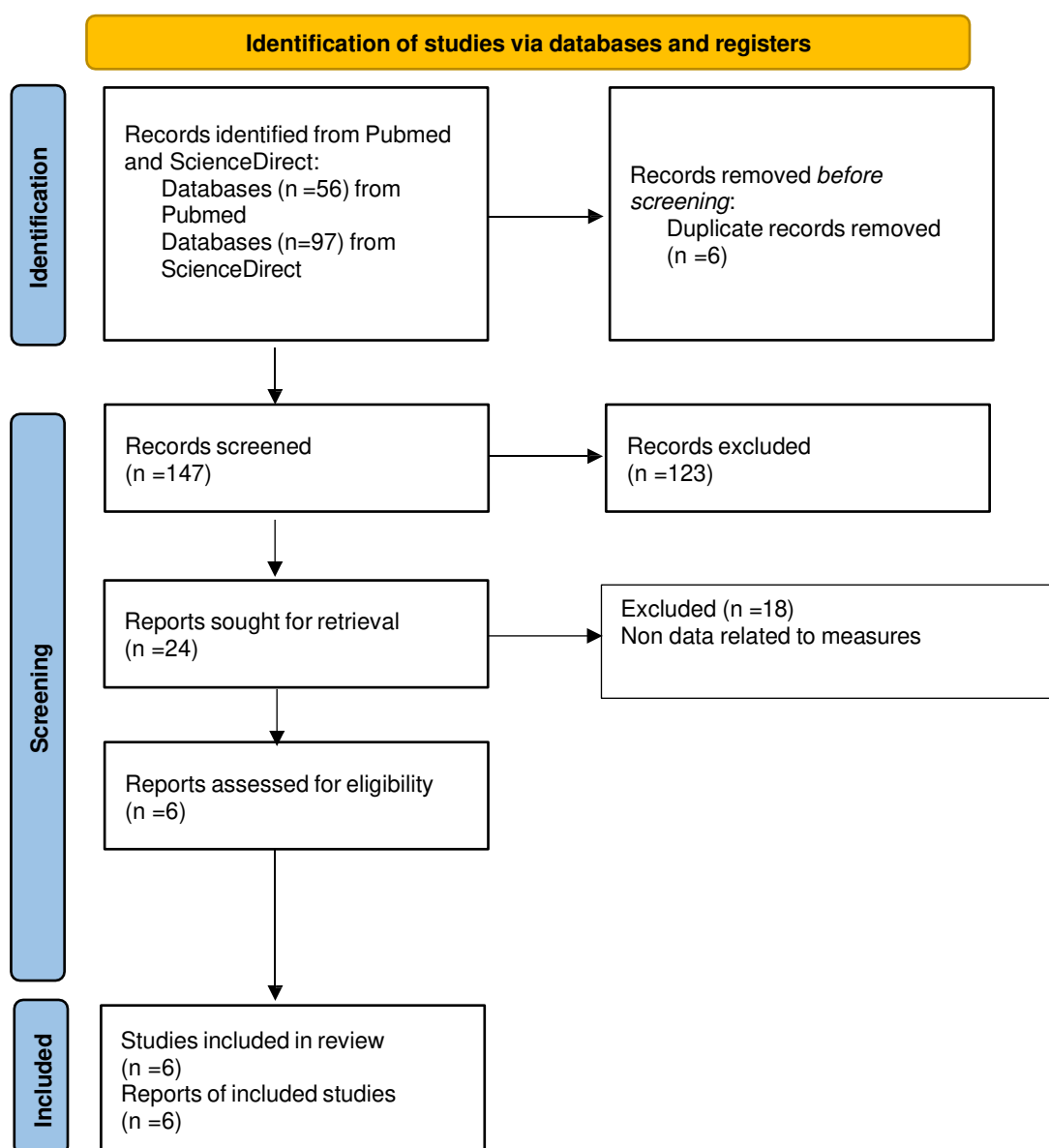


Figura 1: Diagrama PRISMA

As principais características dos artigos incluídos para análise encontram-se descritas na seguinte tabela:

Tabela 1: Características gerais dos estudos

Autor/Ano	<i>Mohamed M. Nagy/2014</i>	<i>Xijun Jiang/2017</i>	<i>Ayca Tuba Ulusoy/2019</i>	<i>K S D Ravi Kalyan/2019</i>	<i>Xijun Jiang/2021</i>	<i>Mahendran Kavitha/2022</i>
Tipo de Estudo	Ensaio clínico	Controlo clínico randomizado	Ensaio randomizado prospetivo	Avaliação pré-clínica e ensaio clínico	Controlo clínico randomizado	Controlo clínico randomizado
Objetivo	Avaliar o potencial regenerativo de dentes permanentes imaturos, com polpas necrosadas após a aplicação de diferentes scaffolds	Avaliar a eficácia de uma membrana de colagénio denominada Bio-Gide como <i>scaffold</i> na endodontia regenerativa	Avaliar a eficácia de um coágulo sanguíneo, de plasma rico em plaquetas e de um plasma rico em fibrina como scaffolds na endodontia regenerativa	Avaliar a eficácia pré-clínica e clínica de um <i>scaffold</i> de clorexidina para terapia pulpar vital.	Avaliar o desenvolvimento da raiz em dentes permanentes imaturos após tratamentos endodônticos regenerativos com ou sem uma membrana de colagénio	Avaliação comparativa entre plasma rico em fibrina e um concentrado de fatores de crescimento como scaffold em procedimentos regenerativos endodônticos
Amostra	36 dentes (divididos em 3 grupos distintos, dando um total de 12 dentes por grupo)	43 pacientes: 22 para controlo e 21 para grupo experimental	Um total de 88 dentes em 77 crianças	40 dentes (20 para cada grupo)	80 dentes (40 dentes em cada grupo)	16 dentes (8 para o grupo de PRF e 8 para o grupo de fatores de crescimento)
Desinfecção	No primeiro tratamento, a desinfecção foi realizada com hipoclorito de sódio a 2.6%. No segundo tratamento, a	No primeiro tratamento foi aplicado hipoclorito de sódio a 1,25%. No segundo tratamento foi	No primeiro tratamento foi aplicado hipoclorito de sódio a 1,25%. No segundo tratamento foi aplicada	Não referido	No primeiro tratamento não há indicação do tipo de desinfetante que foi utilizado. No segundo tratamento, a	No primeiro tratamento, a desinfecção foi feita com hipoclorito de sódio a 1.5%, 20 mL de EDTA e

	desinfecção foi realizada novamente com hipoclorito de sódio a 2.6%.	aplicado EDTA a 17%.	clorexidina a 2% e também EDTA a 17%.		desinfecção foi feita com EDTA a 17%.	com clorexidina a 2%. No segundo tratamento, repetiu-se a mesma estratégia de desinfecção.
Medicação	No primeiro tratamento, foi aplicada uma pasta tripla de antibiótico constituída por metronidazol, ciprofloxacina e doxiciclina.	No primeiro tratamento foi aplicado pasta de hidróxido de cálcio. No segundo tratamento foi aplicado ProRoot MTA.	No primeiro tratamento foi aplicada uma pasta antibiótica constituída por clindamicina, ciprofloxacina e metronidazol, todos em quantidades iguais.	Não referido	Não referido	No primeiro tratamento, foi aplicada uma pasta tripla de antibiótico, composta por metronidazol, ciprofloxacina e minociclina.
Tempo de administração do medicamento	No primeiro tratamento, o tempo de administração do antibiótico foram 3 semanas.	No primeiro tratamento, a medicação esteve colocada durante 2 semanas.	No primeiro tratamento, a medicação esteve colocada no canal durante 4 semanas.	Não referido	Refere que os pacientes foram reavaliados 1 ou 2 semanas após o primeiro tratamento.	No primeiro tratamento, o tempo de administração do antibiótico foram 2 semanas.
Técnica	A amostra de MTA foi colocada no canal através de	Bio-Gide colocado por cima de um	No grupo de PRP foi centrifugado sangue	Não referido	Bio-Gide colocado por cima de um	A amostra de PRP foi centrifugada após a colheita

	um plugger e uma semana após esta, foi terminado o preenchimento do canal com gutta-percha termoplástica. A amostra de REG (coágulo sanguíneo) foi colocada através da provocação do sangramento apical com uma lima. A amostra de FGF (hidrogel com bFGF) foi colocada após a indução de hemorragia apical e colocada assim a folha de hidrogel no coágulo através de um plugger.	coágulo de sangue.	recolhido do braço direito do paciente e colocado num tubo com citrato, durante 15 minutos para obter uma amostra de PRP sem eritrócitos e leucócitos para depois ser colocada no canal. No grupo de PRF foi recolhido do sangue do paciente e o mesmo foi centrifugado sem qualquer tipo de anti-coagulante. Após a mesma, o excesso de células vermelhas foi removido com uma gaze esterilizada e a amostra de PRF foi cortada em pedaços e		coágulo sanguíneo.	sanguínea do paciente, sem anticoagulantes. Foi depois seccionada em pedaços pequenos e colocada no canal. A amostra de fatores de crescimento foi também centrifugada após a recolha de sangue venoso do paciente e foi cortada em pequenos pedaços e colocada no canal.
--	---	--------------------	--	--	--------------------	--

			colocada no canal. No grupo do coágulo sanguíneo foi estimulado o sangramento da região periapical dos dentes com uma lima K15 e aguardaram 10 minutos para ser formado o coágulo dentro do canal.			
Follow-up	O <i>follow-up</i> foi feito até um período máximo de 18 meses.	26 e 28 meses	O <i>follow-up</i> variou dos 10 aos 49 meses.	O <i>follow-up</i> foi realizado até aos 24 meses.	O <i>follow-up</i> mais longo no grupo de controlo foram 76 meses e no grupo experimental, 68 meses.	O <i>follow-up</i> foi feito entre 3, 6, 12 e 18 meses, mas não refere qual foi o total de meses de <i>follow-ups</i> nem um valor médio.
Restauração	A restauração foi feita com compósito de resina adesiva Z100.	ProRoot MTA + uma camada de compósito de resina Filtek Z250	Em todos os grupos foi colocado ProRoot MTA com uma camada fina de ionómero de vidro. A restauração final foi realizada com	As restaurações foram efetuadas com ionómero de vidro, seguidas da colocação de coroas de aço.	ProRoot MTA + colocação de compósito de resina Filtek Z250.	Biodentine + cimento de ionómero de vidro tipo II

			um compósito de resina acid etch.			
Resultados	Após os 18 meses de follow up, a maioria dos casos apresentou evidência radiográfica de cura periapical. Os grupos de REG e FGF apresentaram um aumento progressivo na grossura e no comprimento das raízes dos dentes e uma diminuição no ápice dos mesmos. O uso do <i>scaffold</i> de hidrogel não apresentou resultados significativos para regeneração.	Descoloração pós-operatória da coroa foi verificada em 64% dos pacientes do grupo de controlo e 71% foi verificado no grupo experimental. Não foi verificada falha restaurativa em nenhum dos grupos. Calcificação pulpar foi verificada em 55% do grupo de controlo e 48% foi verificado no grupo experimental. Testes pulpares elétricos foram atingidos em 18% no grupo controlo e 33% no grupo	Dos dentes, 73,9% apresentaram fechamento apical completo, 4,1% apresentaram fechamento em curso e 21,9% não apresentaram sinais de desenvolvimento da raiz. Um total de 63 dentes (86%) apresentaram resposta positiva a testes de sensibilidade em todos os grupos. Quando os resultados são comparados na média do <i>follow-up</i> (27 meses), todos os tratamentos mostraram resultados semelhantes em	Após os 24 meses, dos 40 dentes, 36 foram selecionados para avaliação. O sucesso da terapia pulpar vital foi de 90% com o scaffold de clorexidina e 94.7% com o MTA, pelo que o scaffold obteve valores próximos do MTA e provou ser benéfico na sua utilização.	No total, foram avaliados 76 dentes (38 para cada grupo), não tendo sido notadas diferenças clínicas nos dentes entre os grupos. Todos os dentes se encontravam assintomáticos aquando da realização das análises. No grupo experimental foram detetados valores superiores ao grupo de controlo, na grossura da parede da dentina no terço médio da raiz. Havia 25 pré-molares no grupo controlo e 30 no grupo	Durante o <i>follow-up</i> , 3 pacientes de cada grupo não puderam prosseguir devido à COVID-19. Como tal, foram apenas contabilizados os valores de 10 dentes (5 para cada grupo). Ambos os grupos demonstraram desenvolvimento da raiz, redução no tamanho do forâmen apical e cura das lesões periapicais.

		experimental. Não houve diferença estatística significativa entre os dois grupos, em todos os parâmetros estudados.	todas as medidas das raízes que foram avaliadas.		experimental, sendo que foram esses 30 pré- molares que mostraram desenvolvimento superior na grossura da parede da dentina no terço médio da raiz.	
--	--	--	---	--	---	--

Tipos de dentes selecionados nos estudos

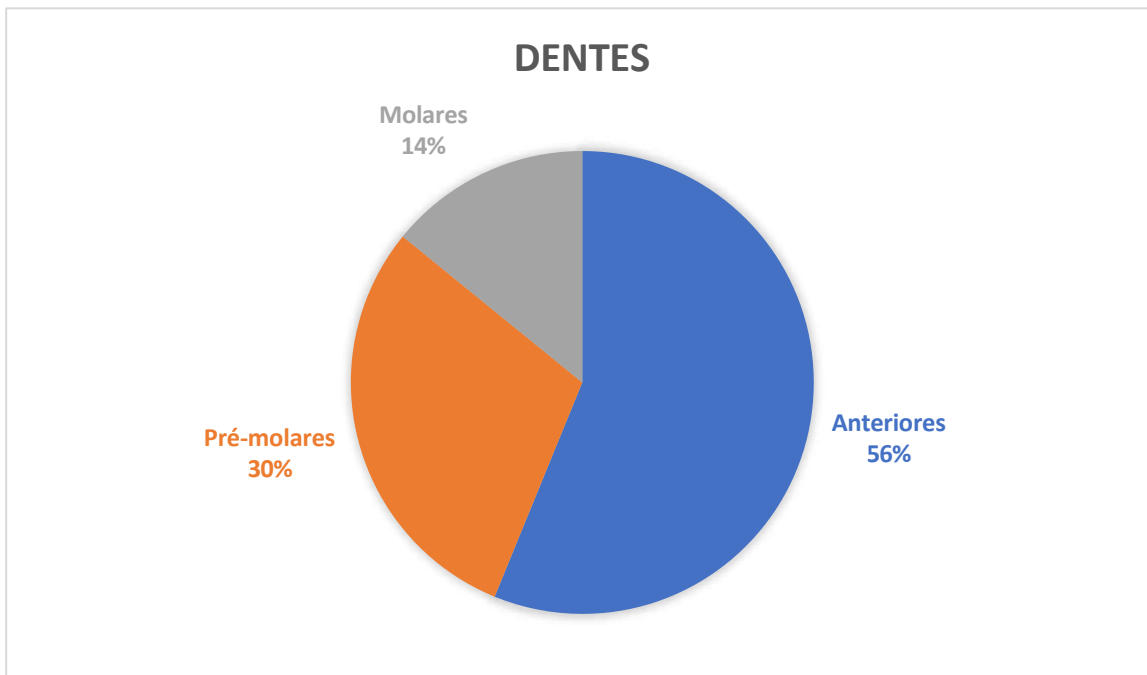


Figura 2: Tipos de dentes selecionados nos estudos

Modos de desinfecção utilizados

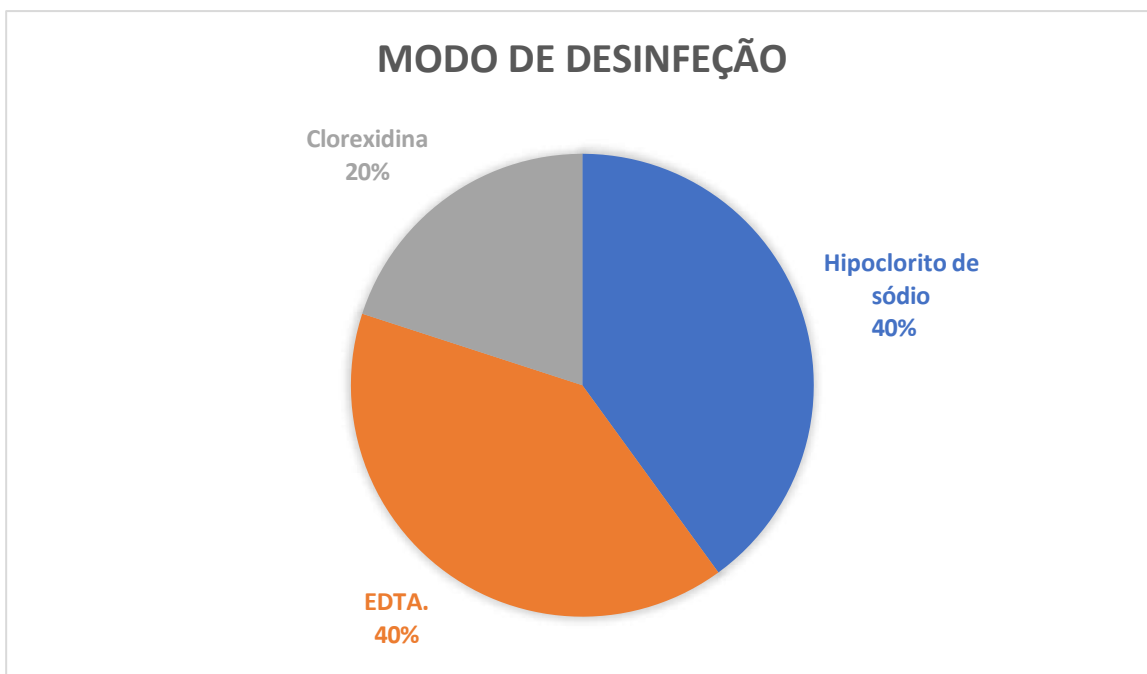


Figura 3: Modos de desinfecção utilizados

Tipos de medicação intracanalar

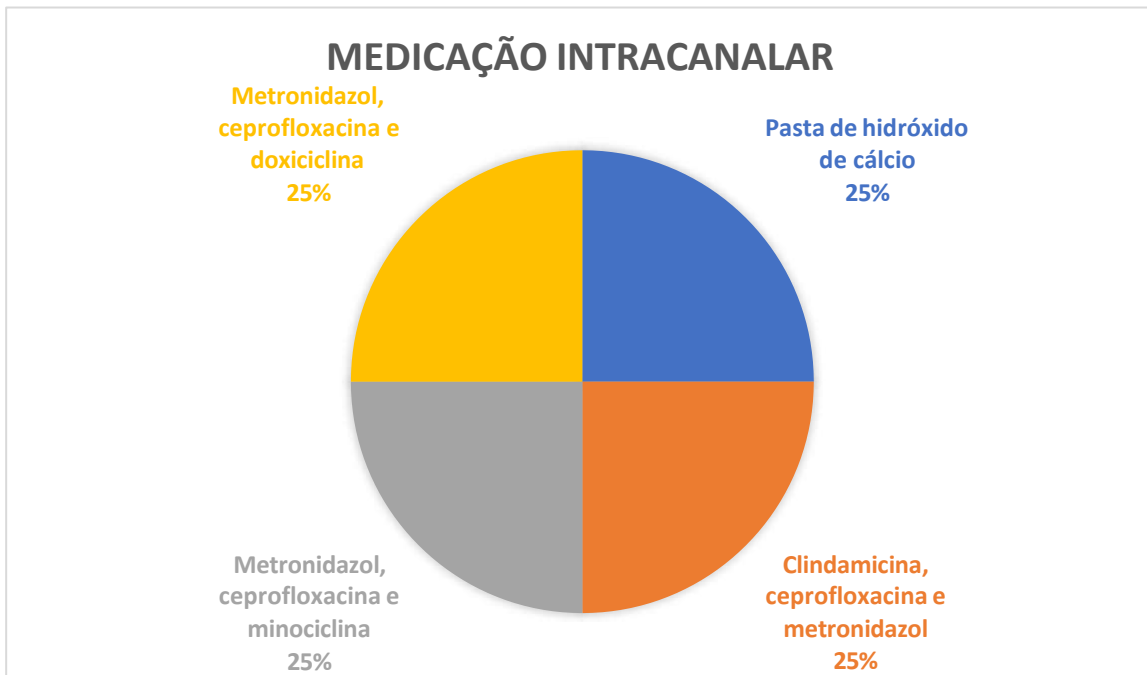


Figura 4: Tipos de medicação intracanalar

Tempo de duração da medicação intracanalar

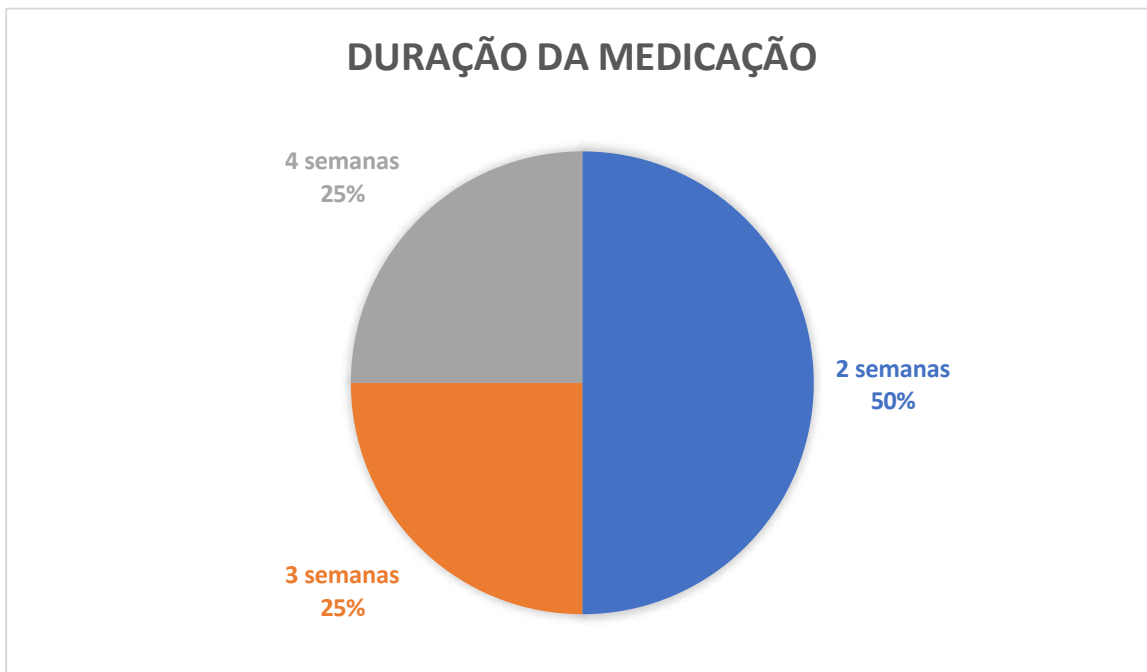


Figura 5: Tempo de duração da medicação intracanalar

Tipos de scaffolds usados nos estudos

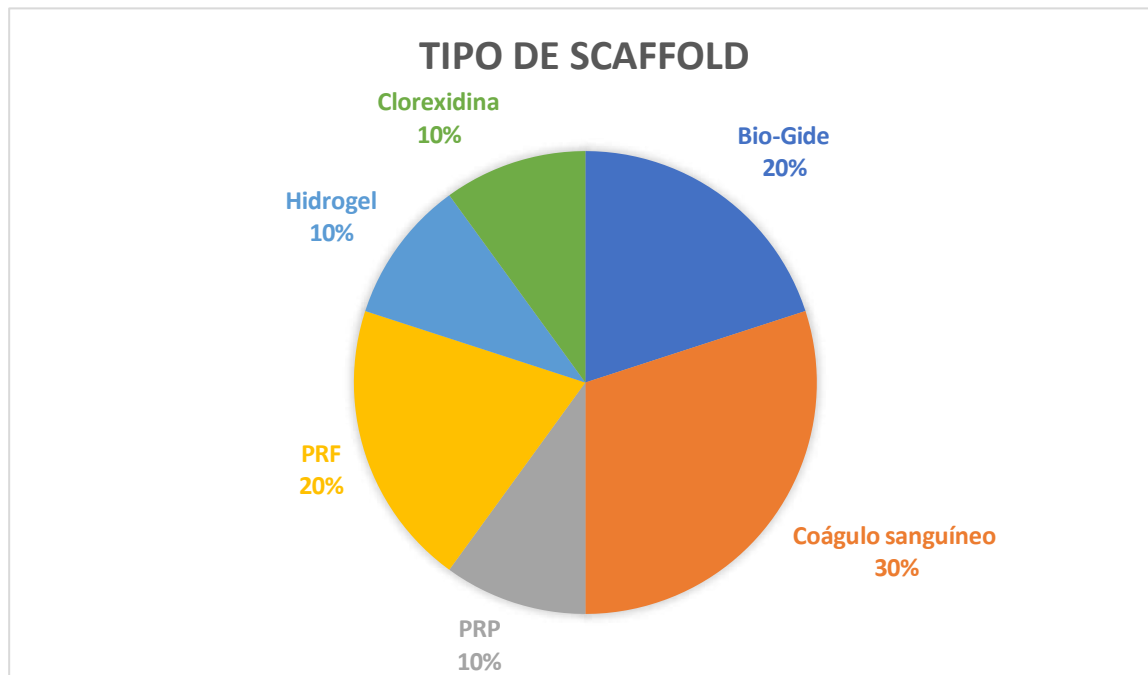


Figura 6: Tipos de *scaffolds* usados nos estudos

Tipo de restauração efetuada

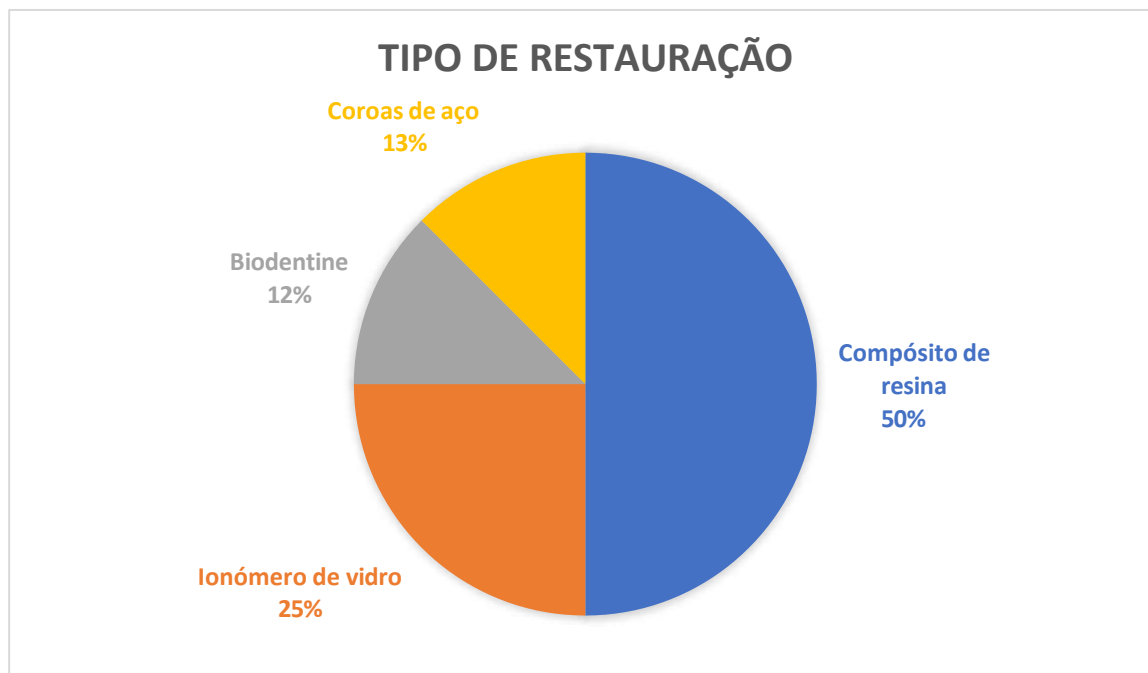


Figura 7: Tipo de restauração efetuada

Tempo de follow-up dos pacientes

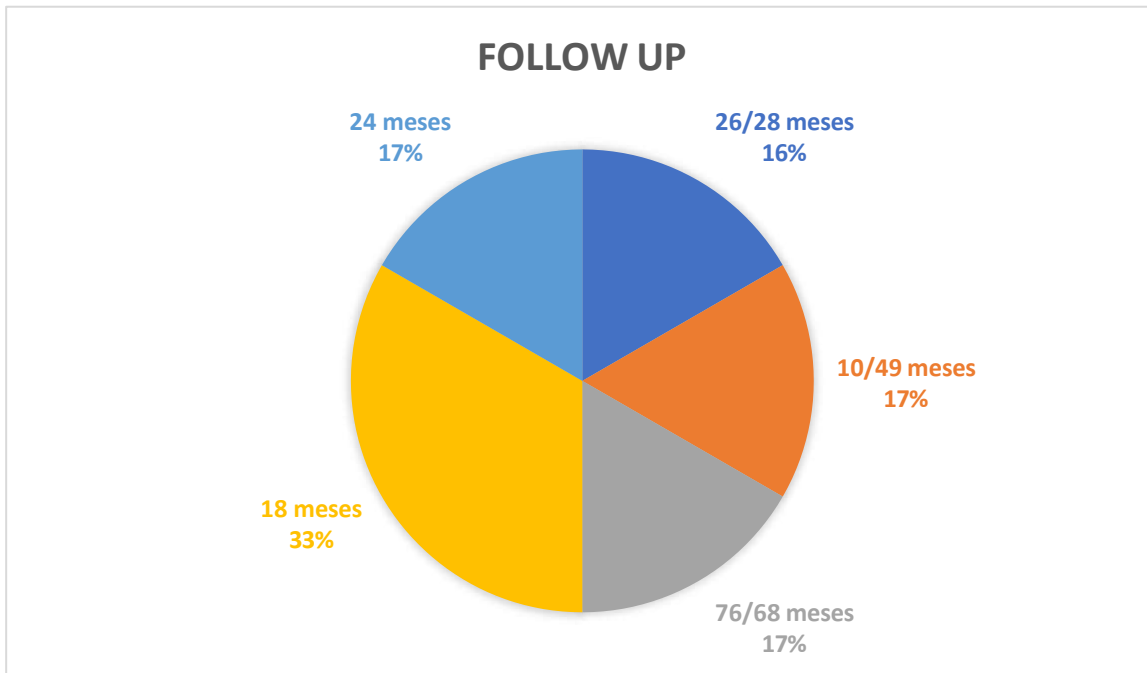


Figura 8: Tempo de *follow-up* dos pacientes

A avaliação da qualidade dos estudos randomizados foi feita através da ferramenta RoB 2 e a avaliação da qualidade dos estudos 'case report' e 'case series' foi feita através da ferramenta JBI (Joanna Briggs Institute). Esta análise está resumida na Tabela 2.

A nível da geração de sequência aleatória, o risco de viés foi baixo, a nível da ocultação de alocação, o risco de viés foi pouco claro, a nível da ocultação, o risco de viés foi alto, a nível dos resultados resultantes incompletos, o risco de viés foi baixo, em relação aos relatórios seletivos, o risco de viés foi alto e a nível de outros viés, o risco foi baixo.

Estes estudos sugerem que diferentes tipos de *scaffolds* podem ser usados na endodontia regenerativa, com diferentes resultados a nível do desenvolvimento de raízes e formação apical. No entanto, o risco da deteção de viés, grandemente associado à escolha dos participantes e staff dos estudos, assim como dos relatórios seletivos limita a evidência científica da maior parte dos estudos. Aumentar as amostras, melhorar a randomização dos protocolos e garantir ocultação, pode, no futuro aumentar a fiabilidade e aplicabilidade destes estudos para a prática clínica.

Tabela 2: Qualidade dos estudos

Título do Artigo	Geração de Sequência Aleatória	Ocultação de Alocação	Ocultação	Resultados Resultantes Incompletos	Relatórios Seletivos	Outros Viés
Avaliação Clínica e Radiográfica da Eficácia de uma Membrana de Colagénio em Endodontia Regenerativa	Baixo	Pouco claro	Pouco claro	Baixo	Baixo	Baixo
Xijun Jiang, He Liu, and Chufang Peng (2017)						
Avaliação de um Coágulo Sanguíneo, PRP e PRF como Scaffold em REPs	Baixo	Pouco claro	Alto	Baixo	Baixo	Pouco claro
Ayca Tuba Ulusoy, Irem Turedi, Muge Cimen, and Zafer C. Cehreli (2019)						
Avaliação Comparativa entre PRF e CGF como Scaffolds em REP	Baixo	Pouco claro	Pouco claro	Baixo	Baixo	Pouco claro

Mahendran Kavitha et al. (2022)						
Avaliação Pré-clínica e Ensaio Clínico de um Scaffold de Polímero de Clorexidina para Terapia Pulpal Vital	Pouco claro	Pouco claro	Alto	Baixo	Baixo	Alto
K S D Ravi Kalyan et al. (2019)						
Desenvolvimento Contínuo de Raízes em Dentes Permanentes Imaturos com ou sem uma Membrana de Colagénio	Baixo	Pouco claro	Pouco claro	Baixo	Baixo	Baixo
Xijun Jiang, He Liu, and Chufang Peng (2021)						
Potencial Regenerativo de Dentes Permanentes Imaturos com Polpas Necrosadas após Diferentes Protocolos Regenerativos	Baixo	Pouco claro	Alto	Baixo	Baixo	Baixo
Nagy, M. M., Tawfik, H. E., Hashem, A. A. R., & Abu-Seida, A. M. (2014). Regenerative potential of immature permanent teeth with necrotic						

pulps after different regenerative protocols. Journal of endodontics, 40(2), 192-198.						
--	--	--	--	--	--	--

DISCUSSÃO

4. DISCUSSÃO

Quando existe a necessidade de realizar um tratamento endodôntico, devido a cáries extensas, seja em dentes imaturos ou maduros, seja por doença periodontal, fatores traumáticos ou iatrogénicos, a solução é realizar a endodontia clássica, com a colocação da guta-percha e cimentos endodôntico nos canais dentários, mantendo o dente em boca, sem necessidade de extração do mesmo, nem aplicação de nenhum implante ou qualquer outro tipo de técnica para substituir uma peça dentária.

No entanto, em alguns estudos com grupos de controlo e grupos de teste, já conseguiram ser obtidos resultados positivos que reforçam que a utilização dos *scaffolds* dentários pode realmente resultar. No artigo realizado por Xijun Jiang et al., datado em 2017(20), foi concluído que no grupo de teste, o *scaffold* de colagénio de membrana Bio-Gide conseguiu permitir que ocorresse o desenvolvimento da parede dentinária no último terço da raiz (terço apical) nos pacientes que foram sujeitos a tratamento endodôntico regenerativo. Neste artigo, os pacientes foram reavaliados clínica e radiograficamente, sendo que toda a sintomatologia que justificou a necessidade de tratamento foi devidamente eliminada e após os tratamentos nenhum paciente apresentava sintomatologia nos dentes tratados.

Foram avaliados 3 parâmetros, tais como o comprimento das raízes dos dentes intervencionados, a grossura da parede dentinária e também a largura do forâmen apical dos dentes, uma vez que os dentes estudados eram dentes imaturos. Em todos os pacientes avaliados, quer seja no grupo experimental, como no grupo de controlo, foram detetadas melhorias e desenvolvimentos, seja a nível do comprimento das raízes, da grossura da parede dentinária e da largura do forâmen apical, o que significa que o *scaffold* de colagénio Bio-Gide não influenciou diretamente o desenvolvimento do terço apical das raízes em estudo, nem a taxa de sucesso dos tratamentos das mesmas.(20)

Noutro artigo realizado por Ayca Tuba Ulusoy et al., datado em 2019(17), foram utilizados *scaffolds* diferentes, todos colocados em teste, *scaffolds* plaquetários ricos em plasma (PRP), *scaffolds* plaquetários ricos em fibrina (PRF) e também *scaffolds* de coágulos sanguíneos (BC). Mais uma vez, foram utilizados dentes imaturos, neste caso, incisivos, e foram também definidos grupos experimentais, consoante os diferentes tipos de *scaffolds* utilizados, e também um grupo controlo associado, sem a utilização de

qualquer tipo de *scaffold*. Neste artigo, os critérios avaliados foram o comprimento das raízes e a largura das raízes, assim como a largura do forâmen apical. A nível de resultados obtidos neste artigo, mais de 80% dos dentes submetidos aos tratamentos demonstraram uma resposta positiva a testes elétricos e a testes térmicos, sendo que os grupos experimentais tratados com PRP e PRF demonstraram uma resposta inicial aos estímulos mais rápida do que o grupo tratado com o coágulo sanguíneo (BC). Isto pode ser justificado devido ao facto dos *scaffolds* PRP e PRF terem quantidades plaquetárias superiores aos *scaffolds* de BC, o que estimula uma regeneração das fibras sensoriais na polpa. A nível do comprimento das raízes, da largura das mesmas e da largura do forame apical, todos os grupos, experimentais e controlos apresentaram resultados positivos, sendo que, mais uma vez as diferenças entre grupo controlo e grupos experimentais não foi significativa.(17)

De acordo com o estudo realizado por Xijun Jiang et al., datado em 2021(21), cujo objetivo era avaliar o desenvolvimento de raízes com ou sem uma membrana de colagénio como *scaffold*, foi verificado que os dentes que foram tratados com as membranas de colagénio apresentaram um aumento da grossura da parede dentinária no terço médio das raízes em comparação com o grupo controlo. No entanto, os restantes parâmetros que estavam em avaliação mantiveram-se comparáveis entre grupo controlo e grupo experimental, tais como: comprimento da raíz, grossura da parede dentinária no terço apical, largura do forâmen apical, descoloração, calcificação, entre outros. Neste artigo foi também apurado que muitas vezes contaminações bacterianas das raízes ou até micro ruturas coronais são os principais fatores que inflacionam o sucesso de um tratamento com endodontia regenerativa, sendo que neste estudo em concreto a taxa de sucesso dos tratamentos foi de 100%, uma vez que todos os pacientes após os tratamentos, se encontravam assintomáticos, além de que a membrana de colagénio não apresentou consequências clínicas, tendo comprovado ser biocompatível.

No estudo elaborado por Mahendran Khavita et al., datado em 2022(19) o objetivo do mesmo era estabelecer uma comparação entre um *scaffold* plaquetário rico em fibrina (PRF) e um *scaffold* com um concentrado de fatores de crescimento (CGF), tendo sido então, avaliados dois grupos distintos, cada um tratado com o respetivo *scaffold*, com um total de 16 dentes (8 dentes para o grupo teste de PRF e 8 dentes para o grupo teste do concentrado de fatores de crescimento). Durante o *follow-up*, após os tratamentos, cada grupo perdeu 3 dentes, devido às restrições pandémicas que decorriam naquela altura,

tendo sido o total final de 5 dentes para avaliação e comparação em cada um dos grupos, perfazendo um total de 10 dentes finais. Em nenhum dos pacientes havia sintomatologia após os tratamentos, sintomatologia à percussão ou mobilidade periodontal. Foi verificada um aumento do comprimento da raiz em ambos os grupos, assim como uma redução do forâmen apical e também redução no volume da lesão periapical. Todavia, não existiram diferenças estatísticas significativas entre os dois grupos, podendo ser concluído que tanto o PRF como o CGF providenciaram desenvolvimento das raízes, redução no tamanho do forâmen apical e também providenciaram a recuperação das lesões periapicais.

O estudo efetuado por Mohamed M. Nagy et al.(23), em 2014 tinha como objetivo avaliar o potencial regenerativo de diferentes *scaffolds* em dentes permanentes imaturos com polpas necrosadas. Neste, foram utilizados 36 dentes, subdivididos por 3 grupos distintos perfazendo 12 dentes por grupo, cada um com seu *scaffold* associado. Os 3 grupos eram constituídos por um grupo tratado com MTA, um grupo tratado com um *scaffold* de coágulo sanguíneo (REG) e por fim, um grupo tratado com um *scaffold* de coágulo sanguíneo mas associado a um *scaffold* de hidrogel impregnado com bFGF. O *follow-up* deste estudo foi de 18 meses, sendo que os pacientes eram avaliados aos 3 meses, 6 meses, 12 meses e finalmente, aos 18 meses. Após o final do *follow-up* foi concluído que o grupo sujeito a tratamento com o MTA, na grande maioria dos casos, não demonstrou nenhum aumento do comprimento da raiz ou da grossura da mesma, enquanto que nos grupos tratados com REG e o hidrogel impregnado com bFGF foi verificado um aumento do comprimento da raiz e também um aumento da grossura da mesma. Contudo, apesar desta indicação, conclui-se que todos os tipos de tratamentos são viáveis e que o uso do *scaffold* de hidrogel impregnado com o bFGF não foi essencial para ajudar na reparação dos tecidos lesados.

Para concluir, no estudo realizado por K S D Ravi Kalyan et al.(24), em 2019 foi avaliado e comparado um *scaffold* de polímero de clorexidina em relação ao MTA para terapia pulpar vital. Desta forma, foram selecionados 40 molares decíduos para testes, tendo sido 20 molares para o grupo experimental e 20 molares para o grupo de controle, tratado com MTA. Após um *follow-up* de 24 meses, foi verificado que houve sucesso em ambos os grupos de tratamento, tendo sido obtido um sucesso de 94,7% no grupo de MTA e 90% de sucesso no grupo *scaffold* de clorexidina, como tal, a diferença entre ambos não é estatisticamente significativa.

Comparativamente, com o que já existe na literatura, ainda não existem scaffolds que possam ser considerados perfeitos e substitutos ideais das técnicas e estratégias endodônticas convencionais. Já existem *scaffolds* com resultados aceitáveis, todavia, os resultados não são ainda suficientemente bons para definir que realmente sejam melhores opções de tratamento a nível de endodontia regenerativa. Investir em mais estudos e mais testes, com melhora na qualidade dos mesmos, follow-ups superiores, desenvolver mais *scaffolds* cujas características sejam ideais, como biocompatibilidade, biodisponibilidade, porosidade, tempo de ação, eficácia, entre outros, pode ser uma solução para obter resultados mais positivos, uma vez que os *scaffolds* são matrizes que permitem a manutenção tridimensional e a diferenciação celular, normalmente associados à aplicação de um material derivado de silicato de cálcio.

CONCLUSÃO

5. CONCLUSÃO

Em suma, consoante a análise dos artigos que foram referenciados podemos concluir que os procedimentos endodônticos regenerativos são um tema que tem capacidade para desenvolver ainda mais. É algo que é recente, já tendo dado algumas respostas positivas na revascularização da polpa dentária em dentes imaturos assim como no desenvolvimento dos mesmos, no entanto, os valores e resultados associados aos *scaffolds* apresentados e à endodontia regenerativa, sendo que os *scaffolds* são um passo dos tratamentos da mesma, não são ainda significativos em relação aos materiais que já existem, como tal, não são ainda, uma opção viável e superior à endodontia clássica, uma vez que precisam de técnicas específicas para serem realizados, material específico para serem produzidos e também podem encarecer o custo dos tratamentos endodônticos.

Equacionar a possibilidade de utilizar tratamento endodôntico regenerativo para tratar dentes imaturos, enquanto se mantém a utilização de dentes maduros com endodontia clássica pode ser uma opção viável.

No entanto, estes estudos têm margem para melhorar, se forem realizados em amostras maiores de pacientes, com follow-ups superiores e uma *compliance* superior dos pacientes submetidos aos mesmos. Aumentar o tempo de filtragem de pacientes para realizar estes estudos também pode ser uma opção de melhora dos mesmos, uma vez que irá permitir o aumento do número de dentes em estudo.

BIBLIOGRAFIA

6. BIBLIOGRAFIA

1. Pashley DH. Dynamics of the Pulp-Dentin Complex. Department of Oral Biology, School of Dentistry, Medical College of Georgia, Augusta, Georgia 30912-1129, USA. 1996. Vol 7(2), p.104-133.
2. Bakhtiar H, Mazidi S A, Mohammadi Asl S, Ellini MR, Moshiri A, Nekoofar MH, et al. The role of stem cell therapy in regeneration of dentine-pulp complex: a systematic review. *Progress in Biomaterials*. SpringerOpen; 2018. Vol. 7, p.249–68.
3. Raddall G, Mello I, Leung BM. Biomaterials and Scaffold Design Strategies for Regenerative Endodontic Therapy. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. Frontiers Media S.A.; 2019 Vol. 7, Article 317.
4. Sequeira DB, Diogo P, Gomes BPFA, Peça J, Santos JMM. Scaffolds for Dentin–Pulp Complex Regeneration. *Medicina (Lithuania)*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2024. Vol. 60, (7).
5. Kim SG, Malek M, Sigurdsson A, Lin LM, Kahler B. Regenerative endodontics: a comprehensive review. *International Endodontic Journal*. Blackwell Publishing Ltd; 2018. Vol. 51, p. 1367–1388.
6. Kahler B, Lin LM. A review of regenerative endodontics: current protocols and future directions. *J Istanbul Univ Fac Dent*. 2017 Nov 17;51(0).
7. Pulyodan MK, Mohan SP, Valsan D, Divakar N, Moyin S, Thayyil S. Regenerative endodontics: A paradigm shift in clinical endodontics. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*. Wolters Kluwer Medknow Publications; 2020. Vol. 12, p. S20–S26.
8. Albuquerque MTP, Valera MC, Nakashima M, Nör JE, Bottino MC. Tissue-engineering-based strategies for regenerative endodontics. *Journal of Dental Research*. SAGE Publications Inc.; 2014. Vol. 93, p. 1222–1231.
9. Dissanayaka WL, Zhang C. Scaffold-based and Scaffold-free Strategies in Dental Pulp Regeneration. *J Endod*. 2020 Sep 1;46(9):S81–89.
10. Gathani KM, Raghavendra SS. Scaffolds in regenerative endodontics: A review. *Dent Res J* 2016;13:379-86
11. Noohi P, Abdekhodaie MJ, Nekoofar MH, Galler KM, Dummer PMH. Advances in scaffolds used for pulp–dentine complex tissue engineering: A narrative review.

International Endodontic Journal. John Wiley and Sons Inc; 2022. Vol 55, p. 1277–1316.

12. Galler KM, D'Souza RN, Hartgerink JD, Schmalz G. Scaffolds for dental pulp tissue engineering. *Advances in dental research*. 2011. Vol. 23, p. 333–339.
13. Galler KM. Clinical procedures for revitalization: current knowledge and considerations. *International endodontic journal*. 2016. Vol. 49, p. 926–936.
14. Kumar N, Maher N, Amin F, Ghabbani H, Zafar MS, Rodríguez-Lozano FJ, et al. Biomimetic Approaches in Clinical Endodontics. *Biomimetics*. MDPI; 2022. Vol. 7
15. Garzón I, Martin-Piedra MA, Carriel V, Alaminos M, Liu X, D'Souza RN. Bioactive injectable aggregates with nanofibrous microspheres and human dental pulp stem cells: A translational strategy in dental endodontics. *J Tissue Eng Regen Med*. 2018 Jan 1;12(1):204–16.
16. Kamocki K, Nör JE, Bottino MC, Cicero Bottino M. Dental pulp stem cell responses to novel antibiotic-containing scaffolds for regenerative endodontics. *Int Endod J*. 2014 Dec 24;48(12):1147–1156
17. Ulusoy AT, Turedi I, Cimen M, Cehreli ZC. Evaluation of Blood Clot, Platelet-rich Plasma, Platelet-rich Fibrin, and Platelet Pellet as Scaffolds in Regenerative Endodontic Treatment: A Prospective Randomized Trial. *J Endod*. 2019 May 1;45(5):560–6.
18. ElSheshtawy AS, Nazzal H, El Shahawy OI, El Baz AA, Ismail SM, Kang J, et al. The effect of platelet-rich plasma as a scaffold in regeneration/revitalization endodontics of immature permanent teeth assessed using 2-dimensional radiographs and cone beam computed tomography: a randomized controlled trial. *Int Endod J*. 2020 Jul 1;53(7):905–21.
19. Kavitha M, Shakthipriya S, Arunaraj D, Hemamalini R, Velayudham S, Bakthavatchalam B. Comparative Evaluation of Platelet-rich Fibrin and Concentrated Growth Factor as Scaffolds in Regenerative Endodontic Procedure: A Randomized Controlled Clinical Trial. *Journal of Contemporary Dental Practice*. 2022;23(12):1211–1217.
20. Jiang X, Liu H, Peng C. Clinical and Radiographic Assessment of the Efficacy of a Collagen Membrane in Regenerative Endodontics: A Randomized, Controlled Clinical Trial. *J Endod*. 2017 Sep 1;43(9):1465–1471.

21. Jiang X, Liu H, Peng C. Continued root development of immature permanent teeth after regenerative endodontics with or without a collagen membrane: A randomized, controlled clinical trial. *Int J Paediatr Dent*. 2022 Mar 1;32(2):284–293.
22. Tavasoli H, Tavasoli N, Yunessnia lehi A. Nanonodular porous membranes: Novel scaffolds for development and proliferation of dental pulp-derived mesenchymal stem cells. *Polym Adv Technol*. 2023 Apr 1;34(4):1079–1086.
23. Nagy MM, Tawfik HE, Hashem AAR, Abu-Seida AM. Regenerative potential of immature permanent teeth with necrotic pulps after different regenerative protocols. *J Endod*. 2014 Feb;40(2):192–198.
24. Ravi Kalyan KSD, Vinay C, Arunbhupathi, Uloopi KS, Chandrasekhar R, RojaRamya KS. Preclinical evaluation and clinical trial of chlorhexidine polymer scaffold for vital pulp therapy. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*. 2019;43(2):109–115.