

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 17/01/2027.



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Igor Paulino Mendes Soares

**Bioatividade de flavonoides sobre células pulpaes humanas sensibilizadas
por lipopolissacarídeos e associação com *scaffolds* fibrilares para modulação
da dentinogênese em ambiente inflamatório degenerativo**

Araraquara

2026



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Igor Paulino Mendes Soares

Bioatividade de flavonoides sobre células pulpares humanas sensibilizadas por lipopolissacarídeos e associação com *scaffolds* fibrilares para modulação da dentinogênese em ambiente inflamatório degenerativo

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara, para obtenção do título de Doutor em Odontologia, na Área de Reabilitação Oral.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Josimeri Hebling

Araraquara

2026

S676b	Soares, Igor Paulino Mendes Bioatividade de flavonoides sobre células pulpaes humanas sensibilizadas por lipopolissacarídeos e associação com scaffolds fibrilares para modulação da dentinogênese em ambiente inflamatório degenerativo / Igor Paulino Mendes Soares. -- Araraquara, 2026 116 p. : il., tabs. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia, Araraquara Orientadora: Josimeri Hebling 1. Flavonoides. 2. Lipopolissacarídeos. 3. Pulpite. 4. Regeneração tecidual guiada. 5. Nanofibras. I. Título.
-------	--

Igor Paulino Mendes Soares

Bioatividade de flavonoides sobre células pulpaes humanas sensibilizadas por lipopolissacarídeos e associação com *scaffolds* fibrilares para modulação da dentinogênese em ambiente inflamatório degenerativo

Comissão julgadora

Tese para obtenção do grau de Doutor em Odontologia

Presidente e orientadora: Profa. Dra. Josimeri Hebling

1º Examinador: Prof. Dr. Márcio Mateus Beloti

2º Examinador: Prof. Dr. Valentim Adelino Ricardo Barão

3º Examinador: Profa. Dra. Morgana Rodrigues Guimarães Stabili

Araraquara, 16 de janeiro de 2026.

DADOS CURRICULARES

Igor Paulino Mendes Soares

NASCIMENTO: 01/10/1996 – Bebedouro – SP

FILIAÇÃO: Necinei Paulino Soares e Davi Mendes Soares

2014/2018	Graduação em Odontologia pela Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – (UNESP).
2019/2021	Mestrado Acadêmico em Odontologia, área de Reabilitação Oral, pela Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – (UNESP).
2021/2026	Doutorado em Odontologia, área de Reabilitação Oral, pela Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – (UNESP).
2023/2024	Doutorado Sanduíche na Universidade de Michigan, EUA.

Aos meus amados pais Davi e Necinei e irmã Laís,
dedico este trabalho com gratidão profunda
por serem minha eterna fonte de amor, fé e sabedoria.

Sob a luz Divina que sempre guiou nossos passos,
agradeço por cada gesto de entrega
conselho, carinho e conforto
e pela força que me inspira a trilhar meu caminho

com amor e ternura.

AGRADECIMENTOS

À minha querida orientadora, Professora Jô (Josimeri Hebling), com quem tenho a honra de compartilhar experiências há mais de 10 anos. Desde a iniciação científica, a senhora me acolheu, acreditou no meu potencial e me concedeu autonomia técnica e científica, fatores determinantes para o meu amadurecimento acadêmico e para tudo o que alcancei ao longo dessa jornada. Nossa convivência próxima no laboratório durante o período sanduíche fortaleceu ainda mais essa relação, sempre marcada por naturalidade, confiança e conselhos que, muitas vezes, vão além do profissional. A leveza com que conduz a orientação nunca me fez sentir sobrecarregado, mesmo a trajetória acadêmica não sendo de fácil manejo em vários aspectos; ao contrário, foi justamente esse ambiente que permitiu que eu crescesse, produzisse e conquistasse diversos reconhecimentos. Dentre inúmeras características, sua empatia, serenidade, honestidade, humildade, pensamento crítico e dedicação em tudo que faz são motivos de grande inspiração e que resultaram neste trabalho e em muitos outros. Reafirmo aqui o que sempre a senhora significou: um exemplo do que é a essência de ser orientadora, professora e pesquisadora.

Ao Professor Bottino (Marco C. Bottino), com quem tive a oportunidade de trabalhar pessoalmente durante o período sanduíche de um ano na Universidade de Michigan, e que se tornou um mentor fundamental na minha trajetória. Agradeço pelo acolhimento profissional e pessoal, pela confiança no meu potencial técnico e científico e pela liberdade para conduzir experimentos e orientar estudantes de forma independente. Isso foi determinante para meu amadurecimento como pesquisador e para desenvolver minha identidade como futuro orientador, além de abrir portas importantes para meu crescimento acadêmico. Nossa relação, que se estendeu muito além do período presencial, permanece ativa e produtiva, rendendo inúmeros frutos científicos. Sou profundamente grato por tudo que construímos juntos.

Ao Professor Beto (Carlos Alberto de Souza Costa), por também me orientar com generosidade e firmeza, em muitos aspectos da vida profissional e pessoal. Agradeço por ter aberto as portas de seus laboratórios, fruto de anos de dedicação e por confiar em meu potencial técnico, acadêmico e de liderança, permitindo-me vivenciar oportunidades que moldaram minha formação. Seus conselhos, sempre

objetivos e valiosos, tiveram papel decisivo em meu desenvolvimento científico e humano, e sigo motivado pela admiração que tenho pelo senhor e pelo prazer de poder contribuir sempre que necessário.

À minha irmã de coração Carol (Caroline Anselmi de Oliveira), que é minha amiga desde o começo da Graduação e que segue fazendo parte da minha vida de um jeito único. Já dividimos laboratório, casa, desafios e vitórias, tanto no Brasil quanto nos EUA, e ter você por perto fez toda a diferença. Tudo que está nesta tese também passou pelas suas mãos, pela sua ajuda e pela parceria que sempre tivemos. Obrigado por cada conversa, acolhimento, orientação pessoal e profissional, e por sempre estar comigo quando mais precisei. Sou muito grato por tudo que já vivemos e pelo tanto que ainda vamos construir.

Aos meus queridos amigos Juliana, Lídia, Malu, Filipe e Victória, que entraram na minha vida pelo laboratório, mas ficaram pela amizade verdadeira que construímos ao longo do meu doutorado. Cada um, à sua maneira, teve um papel enorme na minha trajetória profissional e pessoal. Eu poderia escrever um parágrafo inteiro para cada um especificando como cada um ocupou e ocupa um espaço muito especial no meu dia a dia. Vivemos juntos desafios, conquistas, tropeços, descobertas e muita diversão, que fizeram essa caminhada ser mais leve e muito mais humana. Vocês sabem exatamente o quanto significam para mim e por que estão aqui, juntos e citados individualmente. Levo comigo tudo o que compartilhamos e a certeza de que nossa amizade é para a vida.

Aos meus amigos e colegas de laboratório, tanto do Brasil quanto da Universidade de Michigan, meu sincero agradecimento por tudo o que compartilhamos ao longo desses anos. Sou profundamente grato por todas as relações que construí e que tornaram esta jornada possível e muito mais significativa. Cada um, em sua individualidade, contribuiu para o meu crescimento pessoal e profissional, mesmo eu não os citando individualmente aqui. Vivemos juntos não só rotinas de pesquisa, mas também muitos momentos pessoais que marcaram minha trajetória, e sou grato por cada conversa, ajuda, incentivo e parceria que fizeram parte dessa caminhada. Entre as pessoas que esse caminho me trouxe, deixo um agradecimento especial ao Luccas, que conheci durante o período sanduíche e com quem compartilhei

experiências que ultrapassaram a pesquisa. A amizade que nasceu ali se transformou em parceria de vida, e hoje dividimos conquistas, planos, desafios e sonhos com muito amor.

Aos colaboradores desta tese, muitos já mencionados anteriormente, deixo também meu sincero agradecimento. Destaco aqui os demais coautores dos trabalhos que compõem esta pesquisa: Profa. Dra. Maria Luísa Leite, Profa. Dra. Diana Soares, Dr. Renan Dal-Fabbro, Dr. Gabriel Pinto, Dr. Rodolfo Piazza, Dr. Rafael Ribeiro e Rafaella Mota. A contribuição de vocês foi essencial para que esta tese se concretizasse. Aprendi imensamente com cada um e sou grato por toda a parceria, dedicação e troca de conhecimento ao longo desse processo.

Aos professores da Graduação e da Pós-Graduação, agradeço por tantos ensinamentos sobre Odontologia, docência, pesquisa e sobre a vida. Deixo um agradecimento especial aos docentes do Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese, em especial à Professora Renata Garcia Fonseca, pelo incentivo constante à docência em Materiais Dentários. Sua orientação nos estágios docente por dois anos, as oportunidades oferecidas e o apoio semanal foram fundamentais para moldar meu interesse e meu desejo de seguir carreira como professor da área. Sou muito grato por cada aprendizado que recebi ao longo dessa formação.

Ao Laboratório de Patologia Experimental e Biomateriais, sob os cuidados do Professor Beto, agradeço por oferecer a estrutura necessária para que este e tantos outros estudos pudessem ser realizados. À UNESP, especialmente à Faculdade de Odontologia de Araraquara, deixo meu reconhecimento por ser, há tantos anos, uma casa que acolhe e impulsiona meu crescimento pessoal e profissional. Agradeço também aos funcionários técnico-administrativos, à equipe da limpeza e a todos que trabalham diariamente para que a faculdade funcione e para que a pesquisa aconteça. Estendo ainda meu agradecimento à Universidade de Michigan e à sua Faculdade de Odontologia, que ampliaram minha formação científica e pessoal durante o período sanduíche.

Às professoras Gisele Faria e Karina Fittipaldi Bombonato-Prado, membros da banca do meu exame de qualificação, pelas contribuições cuidadosas e pertinentes oferecidas naquele momento. As observações e sugestões feitas por ambas foram fundamentais para aprimorar o projeto e estão incorporadas à versão final desta tese. Antecipo aqui os agradecimentos à comissão julgadora da defesa de tese.

Aos pacientes atendidos nas clínicas da faculdade, aos voluntários que doaram seus dentes para esta e outras pesquisas, e à população que financia indiretamente a ciência por meio de impostos, deixo meu sincero agradecimento. O avanço do conhecimento científico e o desenvolvimento deste trabalho e de muitos outros não seriam possíveis sem esses.

À CAPES: O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001.

À FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processos nº 2021/13096-2 e nº 2023/04465-0) pelo apoio financeiro essencial para realização dessa pesquisa.

Soares IPM. Bioatividade de flavonoides sobre células pulpares humanas sensibilizadas por lipopolissacarídeos e associação com scaffolds fibrilares para modulação da dentinogênese em ambiente inflamatório degenerativo [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2026.

RESUMO

A reversão de um microambiente pró-inflamatório para um ambiente regenerativo permanece um desafio nos procedimentos de Terapia Pulpar Vital (TPV) em dentes com exposição pulpar por cárie. Esta tese investigou a modulação inflamatória e o metabolismo de células pulpares humanas (hDPCs) sensibilizadas por lipopolissacarídeos (LPS), e o efeito de flavonoides nesse cenário. Também avaliou a incorporação de flavonoide em *scaffold* fibrilar de policaprolactona/nano-hidroxiapatita (PCL/nHA) visando a liberação da molécula para modulação inflamatória e indução da dentinogênese em ambiente degenerativo. No Estudo 1, hDPCs (N=4 doadores) foram expostas continuamente a LPS de *E. coli* (0,1, 1 e 10 µg/mL) por 7 dias, simulando inflamação crônica. Observou-se queda sustentada de viabilidade, ativação da via NF-κB, aumento de espécies reativas de oxigênio (EROS), elevação de *IL8*, *IL6*, *TNF* e *IL1B*, redução de *COL1A1*, *ALPL*, *DSPP* e *DMP1*, com menor deposição mineral, caracterizando comprometimento regenerativo. No Estudo 2, os flavonoides quercetina (QU), hesperetina (HT) e taxifolina (TX) (1–100 µM) foram avaliados em hDPCs sensibilizadas ou não por LPS (10 µg/mL). As concentrações de 5 µM QU, 10 µM HT e 100 µM TX mostraram-se citocompatíveis e, em hDPCs saudáveis, estimularam biomineralização. Sob desafio com LPS, aumentaram viabilidade e diferenciação dentinogênica, reduziram EROS e mediadores inflamatórios, promoveram migração celular, inibiram NF-κB e intensificaram a biomineralização em comparação ao LPS isolado. A HT apresentou o perfil mais promissor, combinando modulação inflamatória e estímulo regenerativo. No Estudo 3, *scaffolds* PCL/nHA foram produzidos por eletrofiação, submetidos ou não à hidrólise alcalina (H-), e funcionalizados ou não com HT, formando quatro grupos: PCL/nHA, PCL/nHA+HT, H-PCL/nHA e H-PCL/nHA+HT. A hidrólise aumentou a hidrofília, a adsorção de HT e a liberação modulada (~18 µM em 7 dias), além de potencializar a liberação de cálcio sem comprometer a estrutura do *scaffold* por 120 dias. O H-PCL/nHA+HT promoveu maior migração de hDPCs, deposição de fibronectina, proliferação, expressão de marcadores dentinogênicos e mineralização da matriz. Em macrófagos RAW 264.7, reduziu TNF-α, IL-1β e nitrito. No modelo 3D de capeamento pulpar sob inflamação crônica, reduziu marcadores pró-inflamatórios e aumentou marcadores pró-resolutivos e dentinogênicos, indicando favorecer o perfil regenerativo das hDPCs. *In vivo*, os *scaffolds* com liberação de HT apresentaram boa integração tecidual, redução do infiltrado inflamatório, polarização precoce de macrófagos para o fenótipo M2 e deposição organizada de matriz extracelular. De forma integrada, esta tese demonstra que o modelo *in vitro* de exposição crônica a LPS reproduz, em parte, o ambiente inflamatório degenerativo, no qual há comprometimento do metabolismo de hDPCs. A liberação modulada de curto prazo de HT em *scaffolds* fibrilares mostrou-se viável, proporcionando uma plataforma multifuncional capaz de coordenar a resposta imune e a diferenciação odontoblástica, oferecendo uma estratégia promissora para a regeneração do complexo dentina-polpa em condições inflamatórias prolongadas.

Palavras – chave: Flavonoides; Lipopolissacarídeos; Pulpite; Regeneração tecidual guiada; Nanofibras.

Soares IPM. Bioactivity of flavonoids on LPS-challenged human pulp cells and association with fibrous scaffolds for modulating dentinogenesis in a degenerative inflammatory environment [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2026.

ABSTRACT

Reversing a pro-inflammatory microenvironment into a regenerative one remains a challenge in Vital Pulp Therapy (VPT) for teeth with carious pulp exposure. This thesis investigates the inflammatory modulation and metabolism of human dental pulp cells (hDPCs) sensitized by lipopolysaccharides (LPS), along with the effect of flavonoids in this context. It also evaluates the incorporation of flavonoids into a polycaprolactone/nano-hydroxyapatite (PCL/nHA) fibrous scaffold, aiming at the release of the molecule for inflammatory modulation and induction of dentinogenesis in a degenerative environment. In Study 1, hDPCs (N = 4 donors) were continuously exposed to *E. coli* LPS (0.1, 1, and 10 µg/mL) for 7 days to simulate chronic inflammation. Sustained decreases in viability, NF-κB pathway activation, increased reactive oxygen species (ROS), upregulation of *IL8*, *IL6*, *TNF*, and *IL1B*, along with downregulation of *COL1A1*, *ALPL*, *DSPP*, and *DMP1*, were observed, resulting in reduced mineral deposition and impaired regenerative potential. In Study 2, the flavonoids quercetin (QU), hesperetin (HT), and taxifolin (TX) (1–100 µM) were tested in healthy and LPS-sensitized hDPCs (10 µg/mL). Concentrations of 5 µM QU, 10 µM HT, and 100 µM TX were cytocompatible and, in healthy hDPCs, stimulated biomineralization. Under LPS challenge, they enhanced viability and dentinogenic differentiation, reduced ROS and inflammatory mediators, promoted cell migration, inhibited NF-κB, and intensified biomineralization compared with LPS alone. Among them, HT displayed the most promising profile, combining inflammatory modulation with regenerative stimulation. In Study 3, PCL/nHA scaffolds were produced by electrospinning, either subjected or not to alkaline hydrolysis (H-), and functionalized or not with HT, yielding four groups: PCL/nHA, PCL/nHA+HT, H-PCL/nHA, and H-PCL/nHA+HT. Hydrolysis increased hydrophilicity, HT adsorption, and short-term release (~18 µM within 7 days), while enhancing calcium release without compromising scaffold structure for up to 120 days. H-PCL/nHA+HT promoted higher hDPC migration, fibronectin deposition, proliferation, dentinogenic marker expression, and matrix mineralization. In RAW 264.7 macrophages, it reduced TNF-α, IL-1β, and nitrite production. In a 3D pulp capping model under chronic inflammation, it downregulated pro-inflammatory markers and upregulated pro-resolutive and dentinogenic markers, favoring the regenerative profile of hDPCs. *In vivo*, HT-releasing scaffolds showed good tissue integration, reduced inflammatory infiltration, early M2-skewed macrophage polarization, and well-organized extracellular matrix deposition. Taken together, this thesis demonstrates that the *in vitro* model of chronic LPS exposure partially reproduces the degenerative inflammatory environment, in which the metabolism of hDPCs is impaired. The release of HT from fibrous scaffolds proved feasible, providing a multifunctional platform capable of coordinating immune response and odontogenic differentiation, offering a promising strategy for dentin-pulp complex regeneration under prolonged inflammatory conditions.

Keywords: Flavonoids; Lipopolysaccharides; Pulpitis; Guided tissue regeneration; Nanofibers.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	10
2 PROPOSIÇÃO.....	14
3 PUBLICAÇÕES.....	15
3.1 Publicação 1.....	16
3.2 Publicação 2.....	28
3.3 Publicação 3.....	39
4 DISCUSSÃO GERAL.....	81
5 CONCLUSÃO	85
REFERÊNCIAS	86
APÊNDICE A.....	91
ANEXOS	108

1 INTRODUÇÃO

Diversas causas podem resultar na perda dos tecidos mineralizados dentários, como lesões de cárie, traumas ou preparos cavitários/protéticos, podendo expor o tecido pulpar. Quando exposto, idealmente deve-se estimular a homeostase, preservando ao máximo as estruturas dentais por meio de uma Terapia Pulpar Vital (TPV)¹. Essa modalidade terapêutica consiste na utilização de um material biocompatível que, preferencialmente, favoreça a formação de uma barreira mineralizada protetora, ativando o mecanismo regenerativo intrínseco do complexo dentina-polpa. Esse mecanismo baseia-se no recrutamento de células progenitoras residentes no tecido pulpar para o local de injúria, na sua diferenciação em fenótipo odontoblástico e na subsequente deposição de matriz dentinária, a qual será mineralizada, formando a dentina terciária reparadora^{2,3}. Dentre as causas de exposição pulpar, uma das mais desafiadoras é o tratamento de lesões de cárie profundas. Embora a remoção seletiva do tecido cariado seja uma abordagem relevante e recomendada, a exposição da polpa é, em alguns casos, inevitável⁴.

Os procedimentos de TPV indicados em casos de exposição pulpar são o capeamento pulpar direto e a pulpotomia. O capeamento consiste na aplicação de um material sobre a polpa exposta que viabilize a formação de uma barreira mineralizada protetora por células odontoblastoides. A pulpotomia, por sua vez, difere por envolver a remoção total ou parcial da polpa coronária antes da aplicação do material⁵. Esses procedimentos apresentam vantagens em relação ao tratamento endodôntico convencional, pois mantêm as funções pulpares e são especialmente benéficos em dentes jovens com rizogênese incompleta, permitindo a continuidade do desenvolvimento radicular e favorecendo uma proporção volumétrica coroa/raiz mais adequada⁵.

Diversos materiais são propostos para a terapia pulpar vital (TPV), com destaque para formulações à base de hidróxido de cálcio e silicatos de cálcio⁶. Embora resultem na formação de barreiras mineralizadas, em parte pela modulação promovida pela liberação de íons cálcio, essas formulações também liberam íons hidroxila em concentrações elevadas, induzindo estresse oxidativo e necrose superficial devido ao efeito cáustico, o que favorece a inflamação secundária e cria zonas suscetíveis à recontaminação microbiana⁶⁻¹¹. Como consequência, a manutenção da vitalidade pulpar após exposição direta apresenta resultados clínicos

variáveis, com taxas de sucesso entre 50% em cinco anos e 89% em 35 anos, refletindo tanto a heterogeneidade metodológica quanto a complexidade biológica do tecido e das condições clínicas^{5,12-14}. Desde que o diagnóstico da condição pulpar tenha sido correto, o prognóstico depende principalmente do estado inflamatório tecidual e do material aplicado, considerando uma técnica bem executada e a idade do paciente^{15,16}. Apesar de cimentos à base de silicato de cálcio apresentarem maior probabilidade de sucesso clínico e radiográfico que o hidróxido de cálcio, embora com evidência moderada, o impacto da escolha do material sobre a dor pós-operatória permanece incerto¹⁵. Nesse contexto, o desenvolvimento de novos materiais para TPV deve priorizar abordagens capazes de explorar o potencial regenerativo intrínseco da polpa, estimular a dentinogênese e controlar a inflamação, minimizando a necrose tecidual e maximizando a previsibilidade clínica^{17,18}.

A regeneração do tecido pulpar depende de uma resposta inflamatória equilibrada. Infecções endodônticas primárias, como casos de pulpíte por lesão de cárie profunda, são caracterizadas por microbiomas ricos em bactérias anaeróbias Gram-negativas, incluindo *Dialister invisus*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* e *Treponema denticola*¹⁹. Em comum, esses microrganismos são capazes de estimular células do tecido pulpar por meio de lipopolissacarídeos (LPS) presentes na parede bacteriana²⁰. Isso leva à modulação da expressão de citocinas pró-inflamatórias, fatores de necrose tumoral, metaloproteinases de matriz e espécies reativas de oxigênio e nitrogênio²⁰. Níveis fisiológicos de mediadores inflamatórios são essenciais para ativar eventos regenerativos, estimulando a dentinogênese reacional por odontoblastos primários e a dentinogênese reparadora por células progenitoras diferenciadas^{2,3}. No entanto, a presença contínua de infecção bacteriana rompe o equilíbrio fisiológico, mantendo a inflamação ativa e favorecendo processos degenerativos²⁰⁻²³. Assim, um material ideal para TPV deveria não apenas induzir mineralização, mas também modular a inflamação local.

Nesse cenário, biomateriais que mimetizam a matriz extracelular têm despertado grande interesse para a regeneração endodôntica¹⁸. *Scaffolds* fibrilares funcionam como membranas com arranjo estrutural interconectado que atuam tanto como barreira física para materiais restauradores subjacentes quanto como arcabouço para adesão, proliferação e diferenciação de células progenitoras²⁴⁻²⁶. *Scaffolds* fibrilares podem ser obtidos em larga escala e de forma reprodutível por meio da técnica de eletrofiação, usando como matéria-prima polímeros naturais ou

sintéticos²⁷. Dentre os polímeros aplicados, a policaprolactona (PCL) combina citocompatibilidade, baixa biodegradabilidade, baixo custo e alta capacidade de incorporação de moléculas bioativas para liberação modulada^{26,28-33}. No contexto de aplicação para TPV, a incorporação de nano-hidroxiapatita (nHA) a *scaffolds* de PCL, visando mimetizar a matriz dentinária em fase de mineralização, apresentou resultados promissores, favorecendo proliferação, expressão de genes dentinogênicos e deposição de matriz mineralizada por células pulpares humanas, devido ao microambiente favorável e à liberação de íons cálcio e fosfato em concentrações bioativas^{26,33,34}. Assim, a formulação PCL/nHA representa uma plataforma promissora para a incorporação de agentes imunomoduladores e dentinogênicos capazes de atuar mesmo sob inflamação crônica.

Dentre moléculas promissoras para modular eventos regenerativos em ambiente inflamatório degenerativo, os polifenóis têm recebido atenção por seus efeitos benéficos à saúde³⁵. Até o momento, existem mais de 8000 polifenóis conhecidos, dos quais pelo menos 500 apresentam alguma bioatividade. Os polifenóis são moléculas bioativas naturais encontradas em plantas classificadas em quatro classes distintas: flavonoides, estilbenos, lignanas e ácidos fenólicos; todos apresentam uma característica estrutural comum que consiste na presença de um ou mais grupos hidroxila ligados a um anel benzênico³⁶. Flavonoides constituem a classe com maior representatividade dentre os polifenóis, e podem ser encontrados naturalmente em diversas frutas, vegetais, cascas, raízes, caules, flores e grãos³⁷. Dentre os inúmeros flavonoides existentes, três compostos com estruturas químicas distintas e potencial terapêutico promissor para regeneração tecidual foram selecionados para investigação: quercetina (QU), hesperetina (HT) e taxifolina (TX). A QU destaca-se por sua capacidade de modular a resposta imune e inflamatória, além de promover a diferenciação osteoblástica em células-tronco mesenquimais ósseas^{38,39}. Em células pulpares humanas, a QU eleva a atividade de fosfatase alcalina (ALP), a expressão de sialofosfoproteína dentinária (DSPP) e a deposição mineral, indicando potencial dentinogênico^{40,41}. A HT tem ganhado interesse devido ao seu baixo custo e eficácia na modulação de mediadores inflamatórios, atenuação da perda óssea e estímulo à diferenciação osteo/odontoblástica⁴²⁻⁴⁷. Já a TX é apontada como promissora na odontologia por proteger células pulpares contra apoptose em condições de hipóxia e inflamação, além de apresentar efeitos anti-inflamatórios e osteo/odontogênicos⁴⁸⁻⁵².

As propriedades destacadas tornam esses flavonoides candidatos promissores para a terapia pulpar vital (TPV). Contudo, faltam comparações diretas entre eles em modelos de inflamação pulpar, e a biodisponibilidade limitada pela via sistêmica associada a instabilidade dessas moléculas na forma livre reforçam a necessidade de sistemas de liberação local para viabilizar seus efeitos^{53,54}. Para avaliar essas estratégias, modelos experimentais *in vitro* que reproduzam condições inflamatórias crônicas são essenciais, pois permitem mensurar simultaneamente efeitos imunomoduladores e regenerativos. A exposição de células pulpares humanas a LPS é um método amplamente utilizado para esse fim⁵⁵; entretanto, a heterogeneidade dos protocolos descritos na literatura, associada à ausência de modelos de exposição prolongada que simulem um ambiente inflamatório clinicamente relevante, compromete a reprodutibilidade e a transacionalidade dos resultados^{20,55}.

Assim, a presente tese considera a hipótese de que um modelo com exposição crônica a LPS *in vitro* pode representar de forma mais realista o ambiente pulpar persistentemente inflamado, no qual a diferenciação de células pulpares em células com fenótipo odontoblástico se encontra comprometida. Além disso, hipotetiza-se que flavonoides possam apresentar efeitos positivos sobre o metabolismo de células pulpares comprometidas pela exposição crônica a LPS, e que sua liberação de flavonoides a partir de *scaffolds* funcionalizados seja capaz de restaurar o potencial regenerativo dessas células um microambiente inflamatório crônico. Tal abordagem inovadora poderia favorecer a reversão de processos degenerativos e contribuir para eventos regenerativos em TPV, sem causar efeitos adversos indesejáveis ao tecido pulpar.

5 CONCLUSÃO

Esta tese desenvolveu um modelo celular de resposta inflamatória persistente em células da polpa dental humana, representativo das alterações observadas em cenários de pulpite. A comparação entre os flavonoides quercetina, hesperetina e taxifolina demonstrou que todos apresentaram efeito sobre a modulação de eventos regenerativos em ambiente inflamatório degenerativo. Quando incorporada a *scaffolds* fibrilares de PCL/nHA, particularmente após modificação superficial por hidrólise alcalina, o flavonoide hesperetina exibiu liberação modulada de curto prazo, reduzindo marcadores de ativação inflamatória e estimulando vias associadas à diferenciação odontoblástica em células sensibilizadas por lipopolissacarídeos. No modelo *in vivo*, observou-se redução do infiltrado inflamatório, organização da matriz extracelular e polarização imune precoce para um fenótipo pró-resolutivo.

Em conclusão, o delineamento dos três estudos estabeleceu um fluxo que partiu da construção de um modelo celular de resposta inflamatória crônica, passou pela triagem de agentes terapêuticos e resultou no desenvolvimento de um biomaterial funcionalizado com potencial de aplicação clínica. Os resultados indicam que estratégias regenerativas que contemplem, simultaneamente, a modulação da inflamação e a estimulação do fenótipo odontoblástico podem ser alternativas viáveis e que *scaffolds* biomiméticos funcionalizados com moléculas bioativas representam uma plataforma promissora para ampliar a previsibilidade e o sucesso clínico em Terapia Pulpar Vital.

REFERÊNCIAS*

1. Asgary S, Shamszadeh S, Shirvani A. Management strategies for pulpitis in vital permanent teeth in children and adolescents: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Eur Arch Paediatr Dent*. 2025; 26(3): 451–63.
2. Rosa WLO, Cocco AR, Silva TM, Mesquita LC, Galarça AD, Silva AF et al. Current trends and future perspectives of dental pulp capping materials: a systematic review. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2018; 106(3): 1358–68.
3. Souza Costa CA, Hebling J, Scheffel DLS, Soares DGS, Basso FG, Ribeiro APD. Methods to evaluate and strategies to improve the biocompatibility of dental materials and operative techniques. *Dental Materials*. 2014; 30(7): 769–84.
4. Hatipoğlu Ö, Hatipoğlu FP, Javed MQ, Nijakowski K, Taha N, El-Saaidi C et al. Factors affecting the decision-making of direct pulp capping procedures among dental practitioners: a multinational survey from 16 countries with meta-analysis. *J Endod*. 2023; 49(6): 675–85.
5. Hanna SN, Alfayate RP, Prichard J. Vital pulp therapy an insight over the available literature and future expectations. *Eur Endod J*. 2020; 5(3): 46–53.
6. Li Z, Cao L, Fan M, Xu Q. Direct pulp capping with calcium hydroxide or mineral trioxide aggregate: a meta-analysis. *J Endod*. 2015; 41(9): 1412–7.
7. An S, Gao Y, Ling J. Calcium ions promote osteogenic differentiation and mineralization of human dental pulp cells: implications for pulp capping materials. 2012; 23(13): 789–95.
8. Mizuno M, Banzai Y. Calcium ion release from calcium hydroxide stimulated fibronectin gene expression in dental pulp cells and the differentiation of dental pulp cells to mineralized tissue-forming cells by fibronectin. *Int Endod J*. 2008; 41(11): 933–8.
9. Komabayashi T, Zhu Q, Eberhart R, Imai Y. Current status of direct pulp-capping materials for permanent teeth. *Dent Mater J*. 2016; 35(1): 1–12.
10. Souza Costa CA, Duarte PT, Souza PPC, Giro EMA, Hebling J. Cytotoxic effects and pulpal response caused by a mineral trioxide aggregate formulation and calcium hydroxide. *Am J Dent*. 2008; 21(4): 255–61.
11. Schröder U. Effects of calcium hydroxide-containing pulp-capping agents on pulp cell migration, proliferation, and differentiation. *J Dent Res*. 1985; 64 Spec No: 541–8.

* De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver. Disponível no site da Biblioteca: <http://www.foar.unesp.br/Home/Biblioteca/guia-de-normalizacao-atualizado.pdf>

12. Taha NA, Jaradat HB, DkmaK A, Abidin IZ. Carious pulp exposure in mature teeth with reversible pulpitis: a randomized clinical trial of direct pulp capping and partial pulpotomy. *J Endod*. 2025; 51(10): 1342–50.
13. Ricucci D, Rôças IN, Alves FRF, Cabello PH, Siqueira JFJ. Outcome of direct pulp capping using calcium hydroxide: a long-term retrospective study. *J Endod*. 2023; 49(1): 45–54.
14. Cushley S, Duncan HF, Lappin MJ, Chua P, Elamin AD, Clarke M et al. Efficacy of direct pulp capping for management of cariously exposed pulps in permanent teeth: a systematic review and meta-analysis. *Int Endod J*. 2021; 54(4): 556–71.
15. Herbst SR, Pitchika V, Herbst CS, Kosan E, Schwendicke F. Effectiveness of calcium hydroxide compared to hydraulic calcium silicate cements for direct pulp capping in managing deep caries in vital permanent teeth: A systematic review and meta-analysis. *Int Endod J*. 2025; 58(8): 1110–25.
16. Wadhwa H, Duhan J, Sangwan P, Tewari S, Kumar V, Mittal S, et al. Effect of age on the success of direct pulp capping using 2 bioceramic materials in cariously exposed teeth with reversible pulpitis: a prospective clinical study. *J Endod*. 2025; 51(7): 836–44.
17. Dal-Fabbro R, Swanson WB, Capalbo LC, Sasaki H, Bottino MC. Next-generation biomaterials for dental pulp tissue immunomodulation. *Dent Mater*. 2023; 39(4): 333–49.
18. Soares DG, Bordini EAF, Swanson WB, Souza Costa CA, Bottino MC. Platform technologies for regenerative endodontics from multifunctional biomaterials to tooth-on-a-chip strategies. *Clin Oral Investig*. 2021; 25(8): 4749–79.
19. Zargar N, Ashraf H, Marashi SMA, Sabeti M, Aziz A. Identification of microorganisms in irreversible pulpitis and primary endodontic infections with respect to clinical and radiographic findings. *Clin Oral Investig*. 2020; 24(6): 2099–108.
20. Brodzikowska A, Ciechanowska M, Kopka M, Stachura A, Włodarski PK. Role of lipopolysaccharide, derived from various bacterial species, in pulpitis-a systematic review. *Biomolecules*. 2022; 12(1): 138.
21. Khorasani MMY, Hassanshahi G, Brodzikowska A, Khorramdelazad H. Role(s) of cytokines in pulpitis: latest evidence and therapeutic approaches. *Cytokine*. 2020; 126:154896.
22. Cooper PR, Holder MJ, Smith AJ. Inflammation and regeneration in the dentin-pulp complex: a double-edged sword. *J Endod*. 2014; 40(4 Suppl): S46-51.
23. Duncan HF, Cooper PR, Smith AJ. Dissecting dentine-pulp injury and wound healing responses: consequences for regenerative endodontics. *Int Endod J*. 2019; 52: 261–6.
24. Gupte MJ, Ma PX. Nanofibrous scaffolds for dental and craniofacial applications. *J Dent Res*. 2012; 91(3): 227–34.

25. Diana R, Ardhani R, Kristanti Y, Santosa P. Dental pulp stem cells response on the nanotopography of scaffold to regenerate dentin-pulp complex tissue. *Regen Ther.* 2020; 15: 243–50.
26. Mendes Soares IP, Anselmi C, Kitagawa FA, Ribeiro RAO, Leite ML, Souza Costa CA et al. Nano-hydroxyapatite-incorporated polycaprolactone nanofibrous scaffold as a dentin tissue engineering-based strategy for vital pulp therapy. *Dent Mater.* 2022; 38(6): 960–77.
27. Castaño O, Eltohamy M, Kim HW. Electrospinning technology in tissue regeneration. *Methods Mol Biol.* 2012; 811: 127–40.
28. Woodruff MA, Hutmacher DW. The return of a forgotten polymer - Polycaprolactone in the 21st century. *Progress in Polymer Science (Oxford).* 2010; 35(10): 1217–56.
29. Dwivedi R, Kumar S, Pandey R, Mahajan A, Nandana D, Katti DS et al. Polycaprolactone as biomaterial for bone scaffolds: Review of literature. Vol. 10, *J Oral Biol Craniofac Res.* 2020; 10(1): 381–8.
30. Mondal D, Griffith M, Venkatraman SS. Polycaprolactone-based biomaterials for tissue engineering and drug delivery: Current scenario and challenges. *GPOM.* 2016; 65(5): 255–65.
31. Leite ML, Soares DG, Anovazzi G, Mendes Soares IP, Hebling J, Souza Costa CA. Development of fibronectin-loaded nanofiber scaffolds for guided pulp tissue regeneration. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2020; e34785.
32. Anselmi C, Mendes Soares IP, Leite ML, Kitagawa FA, Souza Costa CA, Hebling J. Cytocompatibility and bioactivity of calcium hydroxide-containing nanofiber scaffolds loaded with fibronectin for dentin tissue engineering. *Clin Oral Investig.* 2022; 26(5): 4031–47.
33. Anselmi C, Mendes Soares IP, Mota RLM, Leite ML, Ribeiro RAO, Fernandes LO et al. Functionalization of PCL-based fiber scaffolds with different sources of calcium and phosphate and odontogenic potential on human dental pulp cells. *J Funct Biomater.* 2024; 15(4): 97.
34. Yang X, Yang F, Walboomers XF, Bian Z, Fan M, Jansen JA. The performance of dental pulp stem cells on nanofibrous PCL/gelatin/nHA scaffolds. *J Biomed Mater Res A.* 2010; 93(1): 247–57.
35. Đudarić L, Fužinac-Smojver A, Muhvić D, Giacometti J. The role of polyphenols on bone metabolism in osteoporosis. *Food Res Internet.* 2015; 77:290–8.
36. Biesalski HK. Polyphenols and inflammation: basic interactions. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2007; 10(6): 724–8.
37. Preethi Soundarya S, Sanjay V, Haritha Menon A, Dhivya S, Selvamurugan N. Effects of flavonoids incorporated biological macromolecules based scaffolds in bone tissue engineering. *Int J Biol Macromol.* 2018; 110: 74–87.

38. Wang N, Wang L, Yang J, Wang Z, Cheng L. Quercetin promotes osteogenic differentiation and antioxidant responses of mouse bone mesenchymal stem cells through activation of the AMPK/SIRT1 signaling pathway. *Phytother Res.* 2021; 35(5): 2639–50.
39. Pang XG, Cong Y, Bao NR, Li YG, Zhao JN. Quercetin stimulates bone marrow mesenchymal stem cell differentiation through an estrogen receptor-mediated pathway. *Biomed Res Int.* 2018; 2018: 4178021.
40. Kim JG, Son KM, Park HC, Zhu T, Kwon JH, Yang HC. Stimulating effects of quercetin and phenamil on differentiation of human dental pulp cells. *Eur J Oral Sci.* 2013; 121(6): 559–65.
41. Anselmi C, Mendes Soares IP, Chang S, Cardoso LM, de Carvalho ABG, Dal-Fabbro R et al. Quercetin-calcium hydroxide scaffolds modulate dental pulp stem cell response in vitro under a simulated inflammatory environment. *Int Endod J.* 2025; 58(7): 1073–90.
42. Liu L, Zheng J, Yang Y, Ni L, Chen H, Yu D. Hesperetin alleviated glucocorticoid-induced inhibition of osteogenic differentiation of BMSCs through regulating the ERK signaling pathway. *Med Mol Morphol.* 2021; 54(1): 1–7.
43. Kim SY, Lee JY, Park YD, Kang KL, Lee JC, Heo JS. Hesperetin alleviates the inhibitory effects of high glucose on the osteoblastic differentiation of periodontal ligament stem cells. *PLoS One.* 2013;8(6):e67504.
44. Mancim-Imbriani MJ, Duarte JL, Di Filippo LD, Durão LPL, Chorilli M, Palomari Spolidorio DM et al. Formulation of a novel hesperetin-loaded nanoemulsion and its promising effect on osteogenesis. *Pharmaceutics.* 2024; 16(6).
45. Alipour M, Sharifi S, Samiei M, Shahi S, Aghazadeh M, Dizaj SM. Synthesis, characterization, and evaluation of Hesperetin nanocrystals for regenerative dentistry. *Sci Rep.* 2023; 13(1): 2076.
46. Xue D, Chen E, Zhang W, Gao X, Wang S, Zheng Q et al. The role of hesperetin on osteogenesis of human mesenchymal stem cells and its function in bone regeneration. *Oncotarget.* 2017; 8(13): 21031–43.
47. Xie Z, Yang C, Xu T. Hesperetin attenuates LPS-induced the inflammatory response and apoptosis of H9c2 by activating the AMPK/P53 signaling pathway. *Immun Inflamm Dis.* 2023; 11(8): e973.
48. Fu X, Feng Y, Shao B, Zhang Y. Taxifolin protects dental pulp stem cells under hypoxia and inflammation conditions. *Cell Transplant.* 2021; 30: 9636897211034452.
49. Wang YJ, Zhang HQ, Han HL, Zou YY, Gao QL, Yang GT. Taxifolin enhances osteogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells partially via NF- κ B pathway. *Biochem Biophys Res Commun.* 2017; 490(1): 36–43.

50. Duque C, Rabelo RL, Braga GP de A, Mendes Soares IP, Souza ME, Chrisostomo DA et al. EGCG and Taxifolin modulate secretory activity and expression of dentinogenesis markers in odontoblast-like cells. *Scientifica (Cairo)*. 2025; 2025: 3233536.
51. Massunari L, Rabelo RL, Leite ML, Soares DG, Anovazzi G, Costa CAS et al. Dose- and time-dependent effects of taxifolin on viability and mineralization markers of osteoblast-like cells. *Braz Oral Res*. 2021; 35: e140.
52. Duque C, Hussein H, Bortolatto J, Prakki A, Kishen A. Effect of taxifolin and epigallocatechin-3-gallate on biomineralization potential of stem cells from dental apical papilla. *Arch Oral Biol*. 2022; 138: 105413.
53. Maini S, Hodgson HL, Krol ES. The UVA and aqueous stability of flavonoids is dependent on B-ring substitution. *J Agric Food Chem*. 2012; 60(28): 6966–76.
54. Friedman M, Jürgens HS. Effect of pH on the stability of plant phenolic compounds. *J Agric Food Chem*. 2000; 48(6): 2101–10.
55. Arora S, Gilroy F, Friedlander LT, Hussaini HM, Duncan HF, Cathro P et al. A critical review of in vitro methodologies for studying inflammatory responses in human dental pulp cell cultures. *Int Endod J*. 2025; 58(11): 1670–80.
56. Mendes Soares IP, Anselmi C, Pires MLBA, Ribeiro RAO, Leite ML, Soares DG et al. Chronic exposure to lipopolysaccharides as an in vitro model to simulate the impaired odontogenic potential of dental pulp cells under pulpitis conditions. *J Appl Oral Sci*. 2023; 31: e20230032.
57. Mendes Soares IP, Anselmi C, Ribeiro RA de O, Mota RLM, Pires MLBA, Fernandes LO et al. Flavonoids modulate regenerative-related cellular events in LPS-challenged dental pulp cells. *J Dent*. 2024; 151: 105424.
58. Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J Nutr Biochem*. 2002; 13(10): 572–84.