

Trabalho de Conclusão de Curso

Uso de células-tronco dentais com fins terapêuticos

Kethulin de Bona Luciano



**Universidade Federal de Santa Catarina
Curso de Graduação em Odontologia**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA**

Kethulin de Bona Luciano

Uso de células-tronco dentais com fins terapêuticos

Trabalho apresentado à Universidade
Federal de Santa Catarina, como
requisito para a conclusão do Curso de
Graduação em Odontologia
Orientador: Prof. Dr. Felipe Perozzo
Daltoé

Florianópolis
2016

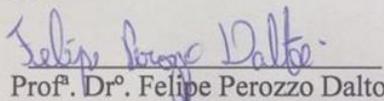
Kethulin de Bona Luciano

USO DE CÉLULAS-TRONCO DENTAIS COM FINS TERAPÊUTICOS

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado, adequado para obtenção do título de cirurgião-dentista e aprovado em sua forma final pelo Departamento de Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina.

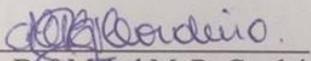
Florianópolis, 16 de maio de 2016.

Banca Examinadora:

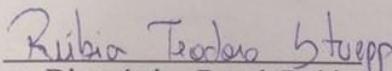


Prof.^a Dr.^o Felipe Perozzo Daltoé
Orientador

Universidade Federal de Santa Catarina



Prof.^a Dr.^a Mabel M. R. Cordeiro
Universidade Federal de Santa Catarina



CD, Mestranda em Diagnóstico Bucal, Rubia Teodoro Stuepp
Universidade Federal de Santa Catarina

Este trabalho é dedicado aos meus pais
Albertina e Roque e minhas tias, Maria das
Dores, Rosa e Terezinha pelo carinho,
amor e por todo o esforço e dedicação para
que eu conseguisse realizar este sonho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a **Deus**, pela vida, saúde e pela força que meu deu nos momentos difíceis e nunca ter me deixado desistir.

Aos meus pais, **Roque Rocha Luciano e Albertina de Bona**, por todo esforço que fizeram por mim, pelo amor incondicional e por serem os grandes responsáveis pela formação do meu caráter.

Aos meus irmãos, **Robson de Bona Luciano e Alison de Bona Luciano**, pela confiança e cumplicidade, pelo amor, carinho e apoio, por compreenderem a minha ausência, por estarem presentes em minha vida apesar da distância.

Às minhas tias, **Maria das Dores Luciano, Rosa Rocha Luciano e Terezinha Rocha Luciano**, que considero como mães, as quais espelho-me, agradeço pelo amor incondicional, dedicação, esforço, carinho e apoio em todos os momentos de minha vida.

Ao meu professor e orientador, **Dr. Felipe Perozzo Daltoé**, que acreditou em mim. Agradeço pelo seu esforço, pela ajuda, dedicação, paciência, conhecimento e pelo exemplo de um grande professor, pesquisador, orientador e principalmente de ser humano, e por você ajudar a fazer esse trabalho se tornar realidade.

Aos participantes da banca, que se disponibilizaram e que contribuíram para o aprimoramento deste trabalho.

Aos meus avós, pelo exemplo de vida e de seres humanos.

Ao meu namorado **Jeferson Nogueira dos Santos**, por estar sempre ao meu lado, me apoiar, me escutar, me dar força e carinho, e por toda a sua ajuda.

Ao meu amigo e dupla da clínica, **Edson Rodrigo Gomes**, agradeço pela companhia nessa longa jornada, pelas risadas, pela organização, pelos ensinamentos e aflições que passamos juntos. Você significou muito para o meu crescimento.

Às amigas, **Bruna Carolina Souza e Silva e Rayani Ruiz** por constituírem a minha família em Florianópolis, obrigada por estarem sempre disponíveis e por todos os momentos que passamos juntas.

Aos meus amigos, **Ana Eloiza Costa, Camila Springmann, Daiane Guesser, Glória F. Levi, Guilherme Biezus, Jeniffer R. Martins, Luana Shlosser, Maira Tonelli, Sarah S. Flausino**, pelos ótimos momentos que me proporcionaram, por fazerem desta a melhor fase da minha vida, pelas risadas, pelo apoio e carinho.

Aos meus colegas de turma, pelo companheirismo que fizeram esta jornada, muitas vezes árdua, mais gostosa de viver.

Aos professores da faculdade, que me ajudaram a construir conhecimento com sabedoria e me ensinaram a Odontologia com paciência e amor.

Aos pacientes que acreditaram e confiaram em mim e na minha dupla durante as consultas. Sem vocês nada disso seria possível.

Aos meus familiares, amigos e a todos que contribuíram, e que de alguma forma, me incentivaram para que eu conseguisse alcançar os meus objetivos, parte desta vitória eu dedico a vocês, meu muito obrigada!

"A mente que se abre a uma nova ideia jamais
voltará ao seu tamanho original."

(Albert Einstein)

RESUMO

Células-tronco são células indiferenciadas que possuem tanto a capacidade de diferenciação em tipos celulares especializados quanto de auto-renovação, ou seja, de se replicarem dando origem a outras células-tronco idênticas a si. Por esses e outros motivos, as células-tronco têm sido objeto de estudo de muitos pesquisadores, os quais visionam, principalmente, a sua aplicabilidade terapêutica futura. Nesse sentido, enquanto pesquisas com células-tronco embrionárias ainda encontram limitações técnicas e éticas para realização de ensaios clínicos, as células-tronco pós-natais de diversos tecidos humanos já vêm sendo estudadas há mais tempo e empregadas com sucesso para o tratamento de diversas doenças. Nesse ínterim, nas últimas décadas, também foram descobertas células-tronco pós-natais em tecidos dentais, dentre eles, a polpa de dentes permanentes e decíduos, o ligamento periodontal, o folículo dentário e a papila apical. Estudos mostram que essas células dentais possuem uma versatilidade singular e capacidade de dar origem não apenas a tecidos dentários, como o complexo dentino-pulpar e o ligamento periodontal, mas também a outros tecidos não odontogênicos, como o muscular, o ósseo, o adiposo e o nervoso. É considerando, portanto, a importância das potenciais aplicabilidades terapêuticas dos diversos tipos de células-tronco dentais que este trabalho se propõe a realizar uma revisão da literatura acerca do assunto, abordando tanto o conhecimento atual sobre o uso terapêutico de células-tronco dentais bem como as perspectivas de aplicabilidade clínica futura.

Palavras-chave: células-tronco, engenharia tecidual, terapia celular.

ABSTRACT

Stem cells are undifferentiated cells that have the ability of either to differentiate in specialized cells or self-renew themselves, which means to give rise to new stem cells. For these reasons, they have been extensively studied by researchers, which are looking forward to future therapeutic applicability of these cells. While embryonic stem cells still have ethical and technical limitations for clinical trial use, adult stem cells from many different human tissues have been studied for longer and successfully applied to treat many diseases. As an example of that, different adult stem cells populations have been discovered in dental tissue such as dental pulp stem cells, stem cells from human exfoliated deciduous teeth, periodontal ligament stem cells, dental follicle and the dental apical papilla stem cells. Researchers have proved that these dental stem cells have great versatility and give rise not only to dental tissues, such as dentin-pulp complex or periodontal ligament, but also to non-odontogenic tissues such as muscle, bone, fat and nerve. This work will carry out a review of the literature regarding the current knowledge and prospect future clinical applications of dental stem cells.

Keywords: stem cells, tissue engineering, cellular therapy.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1-** Desenho esquemático que ilustra as fontes e os principais tipos de células-tronco derivadas do tecido dental humano. CTDD, células-tronco da polpa de dentes decíduos; CTDP, células-tronco da polpa de dentes permanentes; CTFD, células-tronco do folículo dental; CTLP, células-tronco do ligamento periodontal; CTPA, células-tronco da papila apical. p. 28
- Figura 2-** Desenho esquemático que ilustra as principais fontes de células-tronco dentais assim como algumas das principais aplicabilidades clínicas futuras visionadas. p. 37

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1-** Tipos de células-tronco derivadas do tecido dental e suas características, tais como: a facilidade e eficiência de isolamento; a quantidade de populações obtidas (duplicadas); caracterização celular (fenótipo), capacidade de diferenciação *in vitro* e a capacidade de formação de tecidos *in vivo*. p. 31

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|---------|---|
| CT | Células-tronco |
| CTA | Células-tronco pós-natais (adultas) |
| CTE | Células-tronco embrionárias |
| CTD | Células-tronco dentais |
| CTDP | Células-tronco de polpa de dentes permanentes |
| CTM | Células-tronco mesenquimais |
| CTLP | Células-tronco do ligamento periodontal |
| CTPA | Células-tronco da papila apical |
| CTDD | Células-tronco da polpa de dentes decíduos |
| CTFD | Células-tronco do folículo dental |
| CTGD | Células-tronco do germe dental |
| CTMO | Células-tronco da medula óssea |
| DAergic | Neurônios dopaminérgicos |
| AGD | Ácido glutâmico descarboxilase |
| NeuN | Antígeno nuclear neuronal |
| MFN | Neurofilamento M |
| NSE | Enolase específica de neurônios |
| CNPas | 2', 3'-nucleótido cíclico fosfodiesterase-3' |
| PLGA | Polímeros poli (ácido láctico-co-glicólico) |
| PLLA | Polímeros poli (ácido láctico) |
| HA | Hidroxiapatita |
| ALS | Antígeno Leucocitário de suínos |
| STZ | Estreptozotocina |

SUMÁRIO

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 23 |
| 1.1 | OBJETIVOS | 25 |
| 1.1.1 | Objetivo geral..... | 25 |
| 1.1.2 | Objetivos específicos..... | 25 |
| 2 | METODOLOGIA | 26 |
| 3 | REVISÃO DE LITERATURA | 27 |
| 3.1 | PRINCIPAIS FONTES DE CÉLULAS-TRONCO DENTAIS . | 29 |
| 3.1.1 | Células-tronco da polpa de dentes permanentes..... | 29 |
| 3.1.2 | Células-tronco da polpa de dentes decíduos..... | 32 |
| 3.1.3 | Células-tronco do ligamento periodontal | 33 |
| 3.1.4 | Células-tronco do folículo dental | 33 |
| 3.1.5 | Células-tronco da papila apical | 34 |
| 3.2 | PERSPECTIVAS DE APLICABILIDADE TERAPÊUTICA DAS CÉLULAS-TRONCO DENTAIS NAS DIFERENTES ÁREAS DA ODONTOLOGIA..... | 35 |
| 3.2.1 | Cirurgia | 35 |
| 3.2.2 | Implantodontia | 37 |
| 3.2.3 | Dentística..... | 38 |
| 3.2.4 | Endodontia | 39 |
| 3.2.5 | Periodontia | 40 |
| 3.2.6 | Confecção de biodentes..... | 41 |
| 3.2.7 | Tratamento de hipofunção das glândulas salivares | 43 |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 3.3 | APLICABILIDADES TERAPÊUTICAS FUTURAS DAS CÉLULAS-TRONCO DENTAIS EM ÁREAS DA CIÊNCIA NÃO RELACIONADAS À ODONTOLOGIA. | 43 |
| 3.3.1 | Tratamento de lesões neurais e de doenças neurodegenerativas | 43 |
| 3.3.2 | Tratamento de tecidos isquêmicos..... | 45 |
| 3.3.3 | Tratamento da doença hepática | 45 |
| 3.3.4 | Tratamento de cegueira causada por lesão na córnea..... | 46 |
| 3.3.5 | Tratamento de diabetes mellitus | 47 |
| 3.3.6 | Efeito imunomodulador das células-tronco dentais..... | 48 |
| 3.3.7 | Regeneração Muscular | 50 |
| 4 | DISCUSSÃO | 51 |
| 5 | CONCLUSÃO | 59 |
| | REFERÊNCIAS | 61 |

1 INTRODUÇÃO

A maioria dos tecidos do corpo humano possui uma capacidade natural de regeneração em decorrência da morte celular provocada pelo seu metabolismo ou função. A exemplo disso, é possível citar as células da pele, as quais se multiplicam constantemente para repor as células esfoliadas, e as células hematopoiéticas, que possuem um metabolismo acelerado e um ciclo de vida curto. Independentemente da capacidade de diferenciação celular conhecida, entende-se que todas as células especializadas do organismo humano originaram-se de células progenitoras indiferenciadas, as quais recebem o nome de células-tronco (KRESBACH; ROBEY, 2002).

Células-tronco (CT) são, portanto, células indiferenciadas, mas que, de maneira única, possuem tanto a capacidade de gerar células especializadas quanto de se auto-renovarem (DA SILVA MEIRELLES; CAPLAN; NARDI, 2008; THOMSON *et al.*, 1998)

Essas células podem estar presentes, em teoria, tanto dos tecidos celularizados pós-natais (adultos) (DA SILVA MEIRELLES; CAPLAN; NARDI, 2008) quanto de embrionários (THOMSON *et al.*, 1998) e, de acordo com as suas origens, possuem diferentes fenótipos e capacidades de diferenciação (DA SILVA MEIRELLES; CAPLAN; NARDI, 2008; THOMSON *et al.*, 1998).

As células-tronco pós-natais vêm sendo estudadas desde 1968 (WU *et al.*, 1968) e, desde então, têm se tornado alvo de pesquisas destinadas a investigar métodos de identificação, isolamento, controle da diferenciação e uso terapêutico nos mais variados campos da ciência (GOODELL *et al.*, 1996; DA SILVA MEIRELLES; CAPLAN; NARDI, 2008; LEE *et al.*, 2004; BALAÑÁ; CHARREAU; LEIRÓS, 2015; MARYNKA-KALMANI *et al.*, 2010). Já as células-tronco embrionárias vêm sendo estudadas há menos tempo (THOMSON *et al.*, 1998), e apresentam algumas dificuldades, no que se refere tanto a questões éticas, pois são obtidas de embriões, quanto no que se refere ao seu controle de diferenciação (LO; PARHAM, 2009).

No âmbito da Odontologia, as primeiras evidências científicas concretas da existência de células-tronco em tecidos dentais surgiram no ano de 2000 quando isoladas na polpa de dentes permanentes (GRONTHOS *et al.*, 2000). Subsequentemente a esse estudo, foram descobertas a existência de outras populações de células-tronco em outros tecidos dentais, a exemplo das células-tronco da polpa de dentes decíduos (MIURA *et al.*, 2003); as da papila apical (HANKS *et al.*, 1998; SONOYAMA *et al.*, 2006; SONOYAMA *et al.*, 2008); as do

ligamento periodontal (SEO *et al.*, 2004) e as do capuz pericoronário (HANDA *et al.*, 2002; YOKOI *et al.*, 2007). Com elas, já foi possível formar dentina (ABOUT *et al.*, 2000); tecido ósseo (HONDA *et al.*, 2010); regenerar o complexo dentino-pulpar (CORDEIRO *et al.*, 2008); regenerar tecidos periodontais (HASEGAWA *et al.*, 2005; LIN; GRONTHOS; BARTOLD, 2008; TSUMANUMA *et al.*, 2011; SEO *et al.*, 2004; DING *et al.*, 2010); regenerar tecido neural (DE ALMEIDA *et al.*, 2011); confeccionar biodentes (OHAZAMA *et al.*, 2004), dentre outros.

Uma vantagem do uso das células-tronco dentais é que são acessíveis tanto pelo fato de localizarem-se em uma cavidade de fácil acesso (a boca) quanto pelo fato de vários tecidos dentais serem naturalmente dispensados ou dispensáveis ao longo da vida, como o caso dos dentes decíduos, que são naturalmente esfoliados nas primeiras décadas de vida, e dos terceiros molares, que muitas vezes são removidos cirurgicamente por não desempenharem uma função apropriada.

Neste trabalho, serão descritos os diferentes tipos de células-tronco dentais conhecidos até o momento, assim como as formas de identificação, isolamento e aplicabilidade clínica terapêutica das mesmas.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Realizar uma revisão de literatura sobre o uso de células-tronco dentais e suas aplicabilidades terapêuticas.

1.1.2 Objetivos específicos

- A. Descrever quais são os tipos de células-tronco dentais.
- B. Falar sobre os métodos de identificação e obtenção das células-tronco dentais.
- C. Discorrer sobre quais são as principais aplicabilidades terapêuticas já conhecidas e quais são as perspectivas do seu uso futuro nas diferentes áreas da ciência.
- D. Descrever as principais limitações do uso terapêutico das principais populações de células-tronco dentais estudadas.

2 METODOLOGIA

Este trabalho foi realizado por meio de um levantamento bibliográfico de artigos científicos relacionados à temática células-tronco dentais e o seu uso terapêutico.

Os artigos foram obtidos das bases de dados PubMed, LILACS e SciELO, através da busca pelos seguintes identificadores: *dental pulp stem cells, apical pulp cells, stem cells from human exfoliated deciduous teeth, periodontal ligament stem cells, dental follicle stem cells, adult stem cells, embryonic stem cells, tissue engineering, tooth, dentin regeneration, stem cell transplantation, bone regeneration, dental regeneration*, células-tronco polpa dente permanente, células-tronco papila apical, células-tronco polpa dente decíduo, células-tronco ligamento periodontal, células-tronco folículo dental, células-tronco pós-natais, células-tronco embrionárias, engenharia tecidual, regeneração dentinária, reparo, transplante de células-tronco, regeneração óssea, regeneração dental.

Foram incluídos somente artigos publicados nas línguas portuguesa, inglesa ou espanhola a partir do ano 1968 uma vez que foi a partir deste momento que foram publicadas as evidências científicas mais concretas da existência de populações de células-tronco (LEWIS *et al.*, 1968; WU *et al.*, 1968).

A revisão de literatura incluiu tanto pesquisas científicas quanto revisões de literatura, revisões sistemáticas e relatos de casos clínicos que fizeram o uso de células-tronco dentais.

Os artigos selecionados foram agrupados de acordo com o seu tema (exemplo, células-tronco da polpa de dentes permanentes, células-tronco da polpa de dentes decíduos, etc), dando ênfase na sua aplicabilidade clínica. Em um segundo momento os mesmos foram lidos e traduzidos, conforme necessidade.

3 REVISÃO DE LITERATURA

Células-tronco são células indiferenciadas que possuem capacidade clonogênica, ou seja, que têm tanto a capacidade de se autorenovar quanto de se diferenciarem (WEISSMAN, 2000). Em outras palavras, pode-se dizer que as células-tronco podem se dividir simetricamente, permitindo o aumento ou a manutenção do número de células-tronco no tecido ou órgão; ou assimetricamente, dando origem às células de linhagens distintas (BLUTEAU *et al.*, 2008).

As células-tronco podem ser classificadas em dois tipos principais quanto à sua origem: células-tronco embrionárias (CTE) e células-tronco pós-natais (CTA). Como o próprio nome sugere, as CTE são derivadas de tecido embrionário, mais precisamente, da massa celular interna de embriões na fase de blastocisto. Essas células são pluripotentes, ou seja, em teoria, têm a capacidade de formar todos os tecidos do ser ao qual dariam origem (EVANS; KAUFMAN, 1981; THOMSON *et al.*, 1998). Enquanto isso, em teoria, as CTA podem ser encontradas em todos os tecidos celularizados de organismos multicelulares e são consideradas multipotentes, ou seja, têm a capacidade de se diferenciar em mais de uma linhagem celular, mas não de formar os tecidos de todos os três folhetos embrionários tal qual as CTE (CLAYTON *et al.*, 2007).

Desde a sua descoberta, tanto as células-tronco embrionárias (THOMSON *et al.*, 1998) quanto as células-tronco pós-natais (WU *et al.*, 1968) vêm sendo extensivamente estudadas e mostraram que é possível reparar e regenerar diversos órgãos e tecidos do corpo humano (BIANCO *et al.*, 2001; BLUTEAU *et al.*, 2008).

Apesar da plasticidade das células-tronco embrionárias ser maior do que a das células-tronco pós-natais - o que é muito atrativo do ponto de vista terapêutico - a falta de controle sobre a sua diferenciação e questões éticas referentes ao uso de células de um embrião para uso em um organismo adulto, limita os ensaios clínicos em humanos (LO; PARHAM, 2009).

Em contrapartida, as células-tronco pós-natais já mostraram resultados promissores quando usadas clinicamente com fins terapêuticos. Dentre eles, podemos citar, como exemplos, os transplantes de medula óssea (HÁJEK *et al.*, 2003), a regeneração de músculo estriado esquelético (CAMARGO *et al.*, 2003) e a regeneração óssea (MULLER; GLOWACKI, 2001).

Dentre as células-tronco pós-natais mais bem estudadas, destacam-se as células-tronco hematopoiéticas (GOODELL *et al.*, 1996;

DA SILVA MEIRELLES; CAPLAN; NARDI, 2008); as células-tronco mesenquimais (DA SILVA MEIRELLES; CAPLAN; NARDI, 2008; PITTENGER *et al.*, 1999); as células-tronco do sangue do cordão umbilical (LEE *et al.*, 2004); as células-tronco epiteliais da pele (BALAÑÁ; CHARREAU; LEIRÓS, 2015) e da mucosa oral (MARYNKA-KALMANI *et al.*, 2010).

Concomitante aos avanços nas pesquisas no campo das células-tronco descritas acima, descobriu-se no ano 2000 que a polpa de dentes permanentes (CTDP) também eram uma importante fonte de células-tronco pós-natais (GRONTHOS *et al.*, 2000, 2002). A partir daí, foi uma questão de tempo para descobrirem que outros tecidos dentais também abrigavam diferentes populações de células-tronco, dentre eles, a polpa de dentes decíduos (CTDD) (MIURA *et al.*, 2003); papila apical (CTPA) (HANKS *et al.*, 1998; SONOYAMA *et al.*, 2006; SONOYAMA *et al.*, 2008); ligamento periodontal (CTLP) (SEO *et al.*, 2004) e o folículo dental (CTFD) (HANDA *et al.*, 2002; YOKOI *et al.*, 2007), as quais estão ilustradas na Figura 1.

Figura 1 – Desenho esquemático que ilustra as fontes e os principais tipos de células-tronco derivadas do tecido dental humano. CTDD, células-tronco da polpa de dentes decíduos; CTDP, células-tronco da polpa de dentes permanentes; CTFD, células-tronco do folículo dental; CTLP, células-tronco do ligamento periodontal; CTPA, células-tronco da papila apical.



Fonte: Adaptado de Liu, J. *et al.*, 2015, figura 1, p. 628.

Com as descobertas dessas diferentes populações de células-tronco provenientes dos tecidos dentais (CTD), surgiu uma série de grupos de pesquisas que se propuseram a melhorar as estratégias de

identificação e isolamento dessas células assim como a investigar os possíveis usos terapêuticos das mesmas, sejam eles diretamente relacionados à odontologia (OHAZAMA *et al.*, 2004; LAINO *et al.*, 2005; SONOYAMA *et al.*, 2006; GRAZIANO *et al.*, 2008 ; CORDEIRO *et al.*, 2008; MAO, 2008; SEO *et al.*, 2008; HUANG *et al.*, 2010; LIN *et al.*, 2011), ou não (GANDIA *et al.*, 2008; KERKIS *et al.*, 2008; MARCHIONNI *et al.*, 2009; MONTEIRO *et al.*, 2009; GOMES *et al.*, 2010; YAMAZA *et al.*, 2010; WANG, J. *et al.*, 2010; PATIL *et al.*, 2014).

3.1 PRINCIPAIS FONTES DE CÉLULAS-TRONCO DENTAIS

3.1.1 Células-tronco da polpa de dentes permanentes

No ano de 2000, foi obtida a primeira evidência científica da existência de células-tronco mesenquimais derivadas dos tecidos dentais, mais especificamente, na polpa de dentes permanentes (GRONTHOS *et al.*, 2000). Nesse ano, um grupo de pesquisadores obtiveram uma população de células após digestão enzimática do tecido pulpar de terceiros molares extraídos por motivos ortodônticos, a qual foi capaz de formar estruturas similares ao complexo dentino-pulpar após transplante *in vivo* (GRONTHOS *et al.*, 2000). Essas primeiras evidências científicas foram confirmadas em 2002, quando o mesmo grupo de pesquisadores comprovou que essas células possuíam a capacidade de auto-renovação após terem sido re-isoladas pós transplante *in vivo*, re-expandidas *in vitro* e, ainda assim, capazes de formar complexos dentino-pulparem após serem implantadas, pela segunda vez, *in vivo*. Além disso, essas células mostraram capacidade de diferenciação em multilinhagem, formando adipócitos e células neurais, e expressavam os marcadores de superfície CD73, CD90, CD105 e não expressam os marcadores CD14, CD34 e CD45 (GRONTHOS *et al.*, 2002), além dos marcadores que serão citados mais tarde, na Tabela 1.

Nos anos subsequentes, descobriu-se ainda que as células-tronco da polpa de dentes permanentes possuíam ainda a capacidade de se diferenciar em condrócitos, miócitos, cardiomiócitos, neurônios ativos, melanócitos e células semelhantes aos hepatócitos *in vitro* (LAINO *et al.*, 2005; ZHANG *et al.*, 2006; D'AQUINO *et al.*, 2007).

Todos esses achados foram somados aos de outros estudos com células-tronco mesenquimais de medula óssea com o intuito de se criar um critério unânime de identificação de células-tronco mesenquimais humanas (CTM). Dessa forma, em 2006, a comissão de estudos das

células-tronco mesenquimais da Sociedade Internacional de Terapia Celular propôs critérios para definir uma CTM humana baseados nas células-tronco da medula óssea, tais como: capacidade de aderir-se ao plástico quando mantido em condições de cultura; expressar CD105, CD73 e CD90, e ter pouca ou nenhuma expressão de CD45, CD34, CD14 (ou CD11b), CD19 (ou CD79 alpha) e moléculas de superfície de HLA-DRE e; por fim, ter capacidade de se diferenciarem ao menos em osteoblastos, adipócitos e condroblastos *in vitro* (DOMINICI *et al.*, 2006). Os principais marcadores de caracterização das CTDP estão sumarizados na Tabela 1.

As células-tronco da polpa de dentes permanentes podem ser obtidas de elementos dentais extraídos por indicação ortodôntica ou ainda de terceiros molares inclusos ou dentes supranumerários. Uma vez que o tecido é obtido na clínica, o isolamento e a expansão das células é feito em laboratório através da criação de culturas de células (via tratamento enzimático e/ou técnicas de explante) e podem ser criopreservadas para armazenamento e uso futuro (VOLPONI; SHARPE, 2013).

Em relação às possíveis aplicabilidades clínicas, as células-tronco da polpa de dentes permanentes já foram utilizadas para regeneração da polpa dental (HUANG *et al.*, 2010); regeneração de tecido ósseo (LAINO *et al.*, 2005; GRAZIANO *et al.*, 2008); confecção de raízes dentais por completo (WEI *et al.*, 2013; GAO *et al.*, 2016); e, fora do âmbito odontológico, já demonstraram bons resultados no tratamento de revascularização de tecidos isquêmicos (GANDIA *et al.*, 2008; MARCHIONNI *et al.*, 2009), regeneração de tecido neural em lesões na medula espinhal de ratos (DE ALMEIDA *et al.*, 2011); na imunomodulação sistêmica (PIERDOMENICO *et al.*, 2005; ZHAO *et al.*, 2012), regeneração da córnea (SYED-PICARD *et al.*, 2015), tratamento de doenças hepáticas (PATIL *et al.*, 2014), no tratamento de diabetes (CARNEVALE *et al.*, 2013), tratamento de hipofunção salivar (YAMAMURA *et al.*, 2013), dentre outros. Essas e outras possíveis aplicações clínicas serão apresentadas com maiores detalhes no decorrer do presente trabalho.

Tabela 1- Tipos de células-tronco derivadas do tecido dental e suas características, tais como: a facilidade e eficiência de isolamento; a quantidade de populações obtidas (duplicadas); caracterização celular (fenótipo), capacidade de diferenciação *in vitro* e a capacidade de formação de tecidos *in vivo*.

| Tipo de célula | Isolamento | PD | Caracterização Celular | | Capacidade e de diferenciação <i>in vitro</i> | A capacidade de formação do tecido <i>in vivo</i> |
|----------------|------------|----------|--|--|---|--|
| | | | Positivo | Negativo | | |
| CTDP | ++++ | >12 0 | CD9, CD10, CD13, CD29, CD44, CD59, CD73, CD90, CD105, CD106, CD146, CD166, CD271 | CD14, CD19, CD24, CD31, CD34, CD45, CD117, CD133 | Adipo, condro, mio, osteo, neuro, odonto, Cardio, CH, melano, pancre(13) | Adiposo, músculo, dentina-polpa, osso, neovasos (8), hepato(11), pancre(16). |
| CTDD | +++ | >14 0 | CD13, CD29, CD44, CD56, CD73, CD90, CD105, CD146, CD166,βIII-tubulina(1), GAD(1),NeuN(1),nestin(1),Oct4(2), Nanog(2) | CD11b, CD14, CD19, CD34, CD43, CD45 | Adipo, condro, mio, osteo, neuro, odonto, célula endotelial, pancre (12). | Osso dentina-polpa, microvasos, neuro(9); hepato (10), pancre(15). |
| CTLP | ++++ | ND | CD9, CD10, CD13, CD29, CD44, CD59, CD73, CD90, CD105, CD106, CD146, CD166, STRO-1(3), CD146(3), scleraxis(3) | CD14, CD31, CD34, CD45 | Adipo, condro, osteo, neuro, cimento, pancre(14). | Cimento, LP. |
| CTFD | ++ | ND | CD9, CD10, CD13, CD29, CD44, CD53, CD59, CD73, CD90, CD105, CD106, CD166, CD271 Notch-1(4), Nestin(4) | CD31, CD34, CD45, CD133 | Adipo, condro, osteo, neuro, cimento, CH. | Ossos aveolares, LP, cimento. |
| CTPA | +++ | >70 | CD13, CD24, CD29, CD44, CD51, CD56, CD61, CD73, CD90, CD105, CD106, CD146, CD166, AGD(6); NeuN(6), MFN(6), NSE(6), CNPas(6), STRO-1(5) | CD14, CD18, CD34, CD45, CD117, CD150 | Adipo, neuro, osteo, odonto, CH. | Dentina-polpa Osso(7) |

Legenda: CTDP, células-tronco da polpa de dentes permanentes; CTDD, células-tronco da polpa de dentes decíduos; CTLP, células-tronco do ligamento periodontal; CTFD, células-tronco do folículo dental; CTPA, células-tronco da papila apical; adipo, adipócitos; cardiomo, cardiomiócitos; cimento, cementoblastos; condro, condrócitos; hepato, hepatócito; CH, células semelhantes aos hepatócitos; mio, mioblastos; ND, não determinado; neuro, células neuronais; PD, duplicação da população (> maior que); LP, ligamento periodontal; odonto, odontoblasto; osteo, osteoblastos; pancre, células pancreáticas; Isolamento, ++++ (muito fácil), +++ (moderadamente fácil), ++ (fácil).

Fonte: LIU, J. *et al.* 2015 com complementação de dados de MIURA *et al.*, 2013(1); KERKIS *et al.*, 2006(2); SEO *et al.*, 2004(3); MORSCZECK *et al.*, 2005(4); SONOYAMA *et al.*, 2006, 2008; DING *et al.*, 2010 (5); SONOYAMA *et al.*, 2008(6); ABE *et al.*, 2008 (7); GANDIA *et al.*, 2008; YAMAMURA *et al.*, 2013 (8); WANG, J. *et al.*, 2010 (9); ISHKITIEV *et al.*, 2015 (10); CHO *et al.*, 2015 (11); GOVINDASAMY *et al.*, 2011(12); CARNEVALLE *et al.*, 2013(13); LEE *et al.*, 2014 (14); KANAFI *et al.*, 2013(15); GUIMARÃES *et al.*, 2013 (16).

3.1.2 Células-tronco da polpa de dentes decíduos

As células-tronco da polpa de dentes decíduos (CTDD) foram descobertas em 2003 por Miura *et al.* (2003), quando da cultura de células da polpa de dentes decíduos naturalmente esfoliados descobriu-se uma população de células com alta capacidade proliferativa, clonogênica e com capacidade de diferenciação em adipócitos, odontoblastos, osteoblasto e expressão de marcadores neurais como a β III-tubulina, GAD, NeuN e nestin.

Mais tarde, provou-se que as CTDD expressaram antígenos característicos de células-tronco mesenquimais, incluindo CD73, CD90, CD105, CD146 e não expressam marcadores hematopoiéticos CD14, CD34, CD45 (HUANG; GRONTHOS; SHI, 2009, PIVORIUUNNAS *et al.*, 2010). Além disso, de maneira curiosa, elas também expressam os marcadores de células-tronco embrionárias Oct4 e Nanog (KERKIS *et al.*, 2006). Esses e outros marcadores estão descritos na Tabela 1.

Dentre as principais aplicações conhecidas para as células-tronco da polpa de dentes decíduos destacam-se a capacidade de regeneração do complexo dentino-pulpar (CORDEIRO *et al.*, 2008); de regeneração do tecido ósseo (SEO *et al.*, 2008); de tratamento de doenças neurodegenerativas (KERKIS *et al.*, 2008; WANG, J. *et al.*, 2010); de reconstrução da córnea (MONTEIRO *et al.*, 2009; GOMES *et al.*, 2010); tratamento de enfermidades auto imunes como o Lúpus Eritematoso Sistêmico (YAMAZA *et al.*, 2010) e distrofia muscular (KERKIS *et al.*, 2008; YANG *et al.*, 2010), tratamento do diabetes mellitus (KANAFI *et al.*, 2013; GOVINDASAMY *et al.*, 2011) e de doenças hepáticas (CHO *et al.*, 2015).

3.1.3 Células-tronco do ligamento periodontal

O ligamento periodontal não só desempenha um papel importante no apoio físico aos dentes, como também contribui para a nutrição, homeostase e regeneração dos tecidos adjacentes (BARTOLD *et al.*, 2000). Foi descoberto em 2004, que o ligamento periodontal também é um nicho de células-tronco e que, pela sua especificidade, as células desse tecido são denominadas de células-tronco do ligamento periodontal (CTLP) (SEO *et al.*, 2004). Esta população de célula-tronco pode ser obtida através da raspagem da raiz dental e expandidas *in vitro* para aplicação clínica futura (SEO *et al.*, 2004).

Inicialmente, essas células mostraram capacidade de regenerar ligamento periodontal e cimento rudimentares (SEO *et al.*, 2004) mas estudos subsequentes revelaram que essas células também exibem propriedades osteogênicas, adipogênicas, condrogênicos (GAY; CHEN; MACDOUGALL, 2007; XU *et al.*, 2009) e imunorreguladora /imunossupressora (WADA *et al.*, 2009; DING *et al.*, 2010).

Nesse contexto, as células-tronco do ligamento periodontal já mostraram ser capazes de regenerar os tecidos periodontais por completo, ou seja, tanto o seu componente ligamentar (conjuntivo) quanto o osso e o cémentario (LIN; GRONTHOS; BARTOLD, 2008; HASEGAWA *et al.*, 2005, TSUMANUMA *et al.*, 2011) inclusive sobre implantes de titânio (LIN *et al.*, 2011); e tratamento de diabetes (LEE *et al.*, 2014). Ademais, quando combinadas com outras populações celulares e aplicadas em moldes biodegradáveis, vão além, sendo capazes de formar raízes dentais completas em modelos animais (SONOYAMA *et al.*, 2006);

Quanto à caracterização celular, as células-tronco do ligamento periodontal expressam STRO-1, CD146 e Scleraxis, um fator de transcrição específico de tendão (SEO *et al.*, 2004). Esses e outros marcadores de caracterização das CTLP estão descritos na Tabela 1.

3.1.4 Células-tronco do folículo dental

Morsczeck *et al.* (2005) mostrou que as células-tronco do folículo dental (CTFD) são obtidas do tecido conjuntivo que circunda a coroa dos dentes durante o seu desenvolvimento, porém antes da sua erupção.

As CTFD têm uma extensa capacidade proliferativa e expressam os antígenos da superfície Notch-1 e Nestin, (MORSCZECK

et al., 2005). Estes e outros marcadores conhecidos estão sumarizados na Tabela 1.

Do ponto de vista do seu potencial de diferenciação, as CTFD mostraram-se capazes de formar o cimento (HANDA *et al.*, 2002); ligamento periodontal (YOKOI *et al.*, 2007; D'AQUINO *et al.*, 2009; YANG *et al.*, 2012), tecido ósseo (HONDA *et al.*, 2010) além de terem um papel importante no tratamento de doenças hepáticas (PATIL *et al.*, 2014).

3.1.5 Células-tronco da papila apical

A célula-tronco da papila apical (CTPA) foi descoberta por Sonoyama *et al.* (2006), quando os autores estudaram o tecido da papila apical, que consiste de um agregado celular de origem mesenquimal, localizado no ápice de raízes dentais em desenvolvimento (SONOYAMA *et al.*, 2006, 2008).

As células-tronco da papila apical possuem alta taxa de proliferação e uma capacidade de formar tecido mineralizado mais elevada do que a das células-tronco da polpa de dentes permanentes. Além disso, demonstram ser capazes de induzir a regeneração do complexo dentino-pulpar, formar raízes dentais (SONOYAMA *et al.*, 2006; HUANG *et al.*, 2010); formar cimento e tecido ósseo (YAGYUU *et al.*, 2010, ABE *et al.*, 2008); possuírem capacidade imunossupressora (DING *et al.*, 2010) e de diferenciação em hepatócitos (PATIL *et al.*, 2014).

As CTPA expressam marcadores de células-tronco mesenquimais típicos, incluindo STRO-1, CD73, CD90, CD105 (SONOYAMA *et al.*, 2006, 2008; DING *et al.*, 2010) e marcadores neurais como o ácido glutâmico descarboxilase (AGD), o antígeno nuclear neuronal (NeuN), neurofilamento M (MFN), enolase específica de neurónios (NSE), e 2', 3'-nucleótido cíclico fosfodiesterase-3 (CNPas) (SONOYAMA *et al.*, 2008). Além disso, esta população celular expressa CD24, o qual não é detectado em células-tronco da polpa de dentes permanentes ou pelas células-tronco da medula óssea. O significado biológico desse achado ainda não foi bem elucidado (SONOYAMA *et al.*, 2008). Este e os demais marcadores utilizados para caracterizar essa população celular estão descritos na Tabela 1.

3.2 PERSPECTIVAS DE APLICABILIDADE TERAPÊUTICA DAS CÉLULAS-TRONCO DENTAIS NAS DIFERENTES ÁREAS DA ODONTOLOGIA.

Vários estudos estão sendo realizados para verificar se as células-tronco dentais poderiam se tornar uma boa fonte de células para terapia celular e engenharia tecidual e, para isso, avaliam se são capazes de sofrer indução para diferenciação e formação dos diferentes tecidos. Na odontologia, várias áreas poderiam ser beneficiadas com a utilização das células-tronco dentais retiradas do próprio paciente e é sobre cada uma delas que será discutido mais, a seguir:

3.2.1 Cirurgia

Recentemente, tem-se investigado o papel das células-tronco derivadas dos tecidos dentais para a formação de diversos tipos de tecidos, dentre eles, tecidos duros como o ósseo e o dentário (Figura 2), muitas vezes necessários de serem substituídos ou reparados quando observadas deficiências de desenvolvimento, patologias ou traumas (GRONTHOS *et al.*, 2000).

Laino *et al.* (2005) realizaram um estudo em que utilizaram as células-tronco da polpa de dentes permanentes de humanos para formar osteoblastos e produzir tecido ósseo *in vivo*. Essas células expressavam proteínas importantes para caracterização de tecido ósseo, incluindo a osteonectina, sialoproteína óssea, osteocalcina, fibronectina, colágeno III e fosfatase alcalina.

Além das células-tronco da polpa de dentes permanentes, em 2008, as células-tronco de dentes decíduos (CTDD) também demonstraram que são eficientes na formação de tecido ósseo *in vivo*, inclusive com resultados mais promissores dos que as células-tronco mesenquimais da medula óssea, classicamente utilizadas pela comunidade científica para tal finalidade até então. Ademais, as CTDD demonstraram que não só são capazes de contribuir ativamente para a formação óssea como também de induzir as células do leito receptor a se diferenciarem em células osteogênicas (SEO *et al.*, 2008).

Apesar das células-tronco poderem ser aplicadas diretamente sobre a área ou tecido no qual deseja-se que elas se desenvolvam, a maioria dos estudos usa elas associadas a carreadores ou a estruturas que, além de lhes dar suporte, auxiliam na indução da diferenciação celular e formação dos tecidos desejados (SEO *et al.*, 2008; ZHENG *et al.*, 2009; GIORDANO; GALDERISI; MARINO 2007). Essas

estruturas normalmente são compostas por materiais sólidos e recebem então o nome de arcabouços celulares ou moldes. Eles são capazes de suportar a regeneração de tecidos após o transplante *in vivo*, tanto do ponto de vista físico quanto biológico (SAITOH *et al.*, 1994).

O estudo da forma, composição química e da textura dos carreadores celulares e dos moldes são hoje consideradas aspectos básicos da engenharia de tecidos, particularmente os relacionados à regeneração óssea (SAITOH *et al.*, 1994; GRAZIANO *et al.*, 2008). Como exemplos de material utilizados para confecção dos moldes, pode-se citar os polímeros poli (ácido láctico-co-glicólico) (PLGA) e o poli (ácido láctico) (PLLA) os quais apresentam excelente biocompatibilidade (SAITOH *et al.*, 1994; HUANG *et al.*, 2010). Outro exemplo de material utilizado como carreador é a hidroxiapatita (HA), utilizada para formação de tecidos duros (ABE *et al.*, 2008).

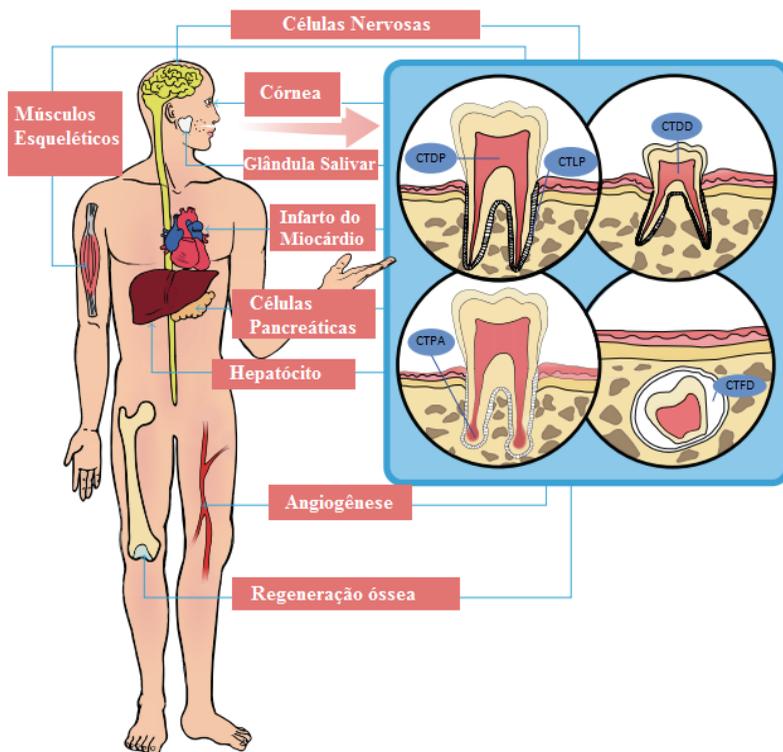
Nesse sentido, células-tronco da papila apical da raiz dental em formação de terceiros molares demonstraram serem eficientes na formação de osso e dentina quando empregadas em conjunto com hidroxiapatita porosa (ABE *et al.*, 2008).

Células-tronco da polpa de dentes decíduos de mini porcos também se mostraram eficazes para regenerar tecido ósseo em defeitos cirúrgicos criados na mandíbula desses animais (ZHENG *et al.*, 2009)

Em 2011, um estudo realizado em cães comparou a capacidade de regeneração óssea de células-tronco da polpa de dentes decíduos (CTDD), de células-tronco da polpa de dentes permanentes (CTDP) e de células-tronco da medula óssea (CTMO) de cães. Os resultados demonstraram que todas as células foram capazes de formar tecido ósseo, no entanto, as CTDD e as CTMO tiveram melhores resultados que as CTDP (YAMADA *et al.*, 2011).

Em 2013, outro grupo de pesquisadores utilizou células-tronco da polpa de dentes decíduos humanos (CTDD) para potencializar a regeneração óssea e diminuir o tempo de consolidação do osso após distração óssea em coelhos. O grupo que recebeu CTDD obteve maior quantidade e qualidade de mineralização óssea nos períodos de tempo analisados. Além disso, as CTDD não sofreram rejeição imunológica mesmo sendo provenientes de um doador de outra espécie e do hospedeiro não fazer uso de nenhum imunossupressor (ALKAISU *et al.*, 2013).

Figura 2 – Desenho esquemático que ilustra as principais fontes de células-tronco dentais assim como algumas das principais aplicabilidades clínicas futuras visionadas.



Legenda: CTDP, células-tronco da polpa de dentes permanentes; CTDD, células-tronco da polpa de dentes decíduos; CTLP, células-tronco ligamento periodontal; CTPA, células-tronco da papila apical; CTFD, células-tronco do folículo dental.

Fonte: PARK; CHA.; PARK, 2016, figura 1, p. 3.

3.2.2 Implantodontia

No âmbito da implantodontia, existem estudos que buscam tanto auxiliar na recuperação de defeitos ósseos dos maxilares para posterior realização de implantes no local, assim como para

potencializar a ósseo-integração de implantes dentários, regeneração de tecidos peri-implantares (inclusive ligamento periodontal) ou ainda substituição dos implantes de titânio por biorraízes (SEO *et al.*, 2004, SONOYAMA *et al.*, 2006; LIN *et al.*, 2009; LIN *et al.*, 2011; WEI *et al.*, 2013; GAO *et al.*, 2016).

Até o momento, os autores que buscaram criar os tecidos periodontais como cimento e ligamento periodontal ao redor do implante não foram muito bem sucedidos. Ao utilizarem células-tronco do ligamento periodontal para esse fim, obteve-se uma taxa de sucesso de apenas 10% (LIN *et al.*, 2011).

Outros pesquisadores utilizaram células-tronco da papila apical e do ligamento periodontal sob arcabouços de tricálcio fosfato /hidroxiapatita para formar, com sucesso, raízes dentais por completo em mini-porcós. Essas biorraízes foram inclusive capazes de suportar a instalação de pinos e coroas de porcelana assim como de se manterem em oclusão (SONOYAMA *et al.*, 2006).

Em 2013 e em 2016, outros grupos de pesquisadores também conseguiram criar uma raiz por completo capaz de suportar a instalação de coroas de porcelana. Entretanto, nesses estudos, utilizou-se também as células-tronco da polpa de dentes permanentes além das de ligamento periodontal, sobre arcabouços de tricálcio fosfato /hidroxiapatita em forma de raiz (WEI *et al.*, 2013; GAO *et al.*, 2016). Além disso, em um dos trabalhos, os pesquisadores compararam as propriedades biomecânicas da biorraiz e chegaram à conclusão que ela apresenta propriedades biomecânicas semelhantes à raiz natural (GAO *et al.*, 2016).

3.2.3 Dentística

No âmbito da dentística, uma das maiores aplicabilidades das células-tronco seria a regeneração ou reparo do esmalte e/ou da dentina, ambas estruturas com alta prevalência de perda, principalmente em virtude da doença cárie (DIVARIS, 2016).

No que se refere à dentina, como citado anteriormente, já foi descrito que a mesma pode ser formada tanto *in vitro* quanto *in vivo* por diversas populações de células-tronco dentais, a exemplo das células-tronco da polpa de dentes decíduos; da polpa de dentes permanentes e da papila apical (CORDEIRO *et al.*, 2008; IOHARA *et al.*, 2011; ABE *et al.*, 2008). Ao mesmo tempo, o esmalte dentário pode ser formado por uma gama menor de tipos celulares a exemplo do órgão do esmalte

retirado de germes dentais e do tecido epitelial retirado da gengiva (HONDA; SHINMURA; SHINOHARA, 2009; VOLPONI *et al.*, 2013).

Ainda que apenas em caráter experimental, células da papila apical foram capazes de formar dentina *in vivo* quando implantadas subcutaneamente sobre suportes de hidroxiapatita em ratos nude (ABE *et al.*, 2008). Já as células-tronco da polpa de dentes decíduos foram capazes de formar um complexo dentino-pulpar quando implantadas no espaço da polpa dental em fatias de dentina radicular (CORDEIRO *et al.*, 2008). Além disso, as células-tronco da polpa de dentes permanentes e da papila apical também demonstraram serem capazes de formar uma polpa dental vascularizada e nova dentina nas paredes dentinárias já existentes de fatias radiculares (previamente esvaziados) transplantados em camundongos (HUANG *et al.*, 2010).

A respeito da bioengenharia do esmalte dental, células-tronco da medula óssea mostraram-se capazes de se diferenciar em ameloblastos quando recombinadas concomitantemente com mesênquima e epitélio odontogênico digeridos (HU *et al.*, 2006).

Em 2008, pesquisadores utilizaram células-tronco do ligamento periodontal (restos epiteliais de Malassez) com células-tronco da polpa de dentes permanentes retiradas do germe dental de porco oito semanas após o implante destas células, obtiveram o desenvolvimento de células semelhantes a ameloblastos e odontoblastos, sugerindo que as células-tronco do ligamento periodontal, especificamente dos restos epiteliais de Malassez podem diferenciar-se em células semelhantes a ameloblastos e produzir esmalte (SHINMURA *et al.*, 2008).

Em 2009, um grupo de pesquisadores utilizou células do órgão do esmalte a partir de germes de terceiros molares de suínos combinadas com células da polpa dentária de germes dentais e observaram que, após quatro semanas, formou-se estruturas complexas de esmalte (HONDA; SHINMURA; SHINOHARA, 2009).

Volponi *et al.* (2013) utilizou células epiteliais retiradas da gengiva de humanos associadas com células-tronco mesenquimais retiradas de germes dentais de camundongos, as quais foram transplantadas após sete dias de cultura sobre a cápsula real desses modelos animais. Após seis semanas obteve-se dentes por completo inclusive com a formação de esmalte, essa versatilidade das células de produzir tanto esmalte como dentina é o que importa pra dentística.

3.2.4 Endodontia

Muitos dentes, em vez de receberem o tratamento endodôntico reparador, são simplesmente extraídos e substituídos por uma prótese. E, mesmo quando recebem o tratamento endodôntico adequado, se tornam estruturas não vitais e mais frágeis que os dentes vivos. Nesse sentido, métodos regenerativos em endodontia prometem criar um novo complexo dentino-pulpar e, portanto, oferecer uma alternativa à esses tipos de tratamentos (MURRAY; GARCIA-GODOY; HARGREAVES, 2007).

Com este anseio, Cordeiro *et al.* (2008) mostraram ser possível criar um complexo dentino-pulpar dentro do canal radicular de fatias de raízes dentais. Esse grupo de pesquisas utilizou células-tronco da polpa de dentes decíduos plaqueadas em fatias de terceiros molares aproximadamente 1 mm de espessura implantadas no tecido subcutâneo do dorso de camundongos. Isso resultou na formação de um tecido vascularizado e capaz de secretar dentina.

Em 2010, outro grupo de pesquisadores foi pioneiro em conseguir o êxito de revascularizar um canal radicular por completo fazendo o uso tanto de células-tronco da papila apical quanto de polpa de dentes permanente (HUANG *et al.*, 2010).

De maneira similar, em 2011, se obteve a regeneração completa do tecido pulpar após pulpectomia e preparo do forame apical de incisivos com risogênese completa (alargados em 0,7mm) obtendo-se neovascularização, formação de nova dentina ao longo das paredes do canal e neurogênese (IOHARA *et al.*, 2011).

Em 2013, outro grupo de pesquisadores comprovou que, mesmo quando o canal radicular for totalmente esvaziado e o forame apical estiver formado e não for alargado, o tecido pulpar pode ser regenerado no espaço do canal a partir do zero desde que o canal seja preenchido por células-tronco da papila apical ou células-tronco da polpa dentária (HUANG; AL-HABIB; GAUTHIER, 2013).

3.2.5 Periodontia

A doença periodontal crônica é caracterizada pela presença de bactérias patogênicas e pela perda progressiva de inserção clínica do dente, que inclui tanto a perda do ligamento periodontal, como do tecido ósseo adjacente (KUMAR *et al.*, 2003). Neste contexto, os avanços nas pesquisas com células-tronco dentais não deixaram de lado a periodontia.

Em 2002, pesquisadores isolaram células-tronco do tecido do folículo dental dissecado de germe dentário bovino e demonstraram que elas eram capazes de formar tecido semelhante a cimento *in vivo* (HANDA *et al.*, 2002).

Em 2004, células-tronco do ligamento periodontal da raiz de terceiros molares humanos transplantadas em defeitos periodontais que haviam sido criados cirurgicamente em molares inferiores de ratos, revelaram a capacidade de regenerar os tecidos periodontais, formando tanto cimento quanto ligamento periodontal (SEO *et al.*, 2004). Tal feito foi corroborado no ano seguinte, por um outro grupo de pesquisa, mas com metodologia similar (HASEGAWA *et al.*, 2005). Em 2006, ao fazerem o uso de células-tronco da papila apical junto com as células-tronco do ligamento periodontal, foi possível formar não só o periodonto assim como raiz por completo, contendo uma polpa dental vital e capaz de suportar uma coroa de porcelana em função (SONOYAMA *et al.*, 2006).

No ano de 2011, as células-tronco do ligamento periodontal (CTLP) foram utilizadas para regenerar defeito ósseo periodontal em cães Beagle e comparadas com as células-tronco mesenquimais da medula óssea. A regeneração periodontal foi obtida com ambos tipos de células, porém a quantidade de fibras, assim como a quantidade de cimento e a organização dos tecidos era maior quando utilizados as CTLP em comparação com as da medula óssea. Além disso, foram observados filamentos nervosos apenas no grupo de CTLP (TSUMANUMA *et al.*, 2011).

E, por fim, conforme já abordado anteriormente, quando investigada a capacidade das células-tronco derivadas do ligamento periodontal em auxiliarem na ósseo-integração e possível formação de ligamento periodontal peri-implantar, observou-se que as taxas de ósseo-integração não foram melhores com o uso desse tipo de terapia celular e que somente em 10% dos casos foi possível observar a formação de ligamento periodontal ao redor do implante (LIN *et al.*, 2011).

3.2.6 Confeção de biodentes

Sabe-se que a interação entre as células-tronco epiteliais e as células-tronco mesenquimais são responsáveis pelo controle da morfogênese e diferenciação das células no dente em desenvolvimento (THESLEFF; PARTANEN; VAINIO, 1991). Atualmente, o que se faz em laboratório é recriar essas interações entre células epiteliais e

mesenquimais *in vitro*, com o intuito de desenvolver um dente (OHAZAMA *et al.*, 2004).

As células-tronco do tecido mesenquimal reagem aos sinais emitidos pelas células epiteliais dentais, diferenciando-se em cementoblastos, células do ligamento periodontal, odontoblastos e outras células de polpa dentária, incluindo neurônios, células endoteliais e fibroblastos (DASSULE *et al.*, 2000). Depois que o dente é formado completamente, as células epiteliais dentais desaparecem, ao passo que as células mesenquimais permanecem na polpa dental e nos tecidos periodontais (NAKAO *et al.*, 2007).

Em 2004, Ohazama *et al.* (2004) realizaram combinações entre o epitélio oral embrionário e o mesênquima derivado de células não-dentais (células-tronco da medula espinhal de embriões e células da medula óssea) de camundongos para o desenvolvimento dental. As recombinações implantadas sob as cápsulas renais de camundongos adultos resultaram no desenvolvimento de coroas dentais circundadas por osso alveolar.

Em 2009, Ikeda *et al.* (2009), utilizaram as células-tronco do germe dental de molares de camundongos dissociadas (células mesenquimais *vs* epiteliais) e, então, fizeram a recombinação das mesmas *in vitro*. Após transplante *in vivo*, obteve-se a formação de um dente por completo, o qual culminou com a erupção na cavidade oral. O dente inclusive entrou em oclusão e foi capaz de responder adequadamente ao estímulo de forças ortodônticas. Mais tarde, em 2011, Oshima *et al.* (2011), realizaram um estudo similar, com êxito semelhante no que se refere à formação dental.

Em 2013, Volponi *et al.* (2013), utilizou células-tronco epiteliais retirados do tecido gengival de humanos e as células-tronco mesenquimais de germes dentais de molares de camundongos. Após sete dias, as recombinações celulares foram implantadas sob a cápsula renal de camundongos imunocomprometidos e, após seis semanas resultaram na formação de um dente com dentina, esmalte e polpa vascularizada.

Recentemente, em 2015, um grupo de pesquisadores utilizou células-tronco da polpa de dentes permanentes de diferentes dentes (incisivo, canino e molares de porcos) e células-tronco epiteliais removidas do epitélio gengival de mini porcos, após a recombinação sobre um molde biodegradável e transplantado para o alvéolo de porcos (região de molares), houve a formação de um dente molar por completo. Esses autores ainda sugeriram que a região em que os germes dentais

são transplantados pode estar relacionada com a morfologia dental (YANG *et al.*, 2015).

3.2.7 Tratamento de hipofunção das glândulas salivares

O uso de células-tronco dentais também tem sido investigado na regeneração de glândulas salivares (Figura 2) visando melhorar a qualidade de vida de pacientes que sofreram diminuição ou perda total da função das glândulas salivares o que ocorre, principalmente, após serem submetidos à radioterapia (VISSINK *et al.*, 2003).

Ainda em caráter experimental, um estudo de 2013, utilizou células-tronco da polpa de dentes permanentes de camundongos diferenciadas em células endoteliais imersas em matrigel para injetá-las nas glândulas submandibulares de animais imunocomprometidos previamente irradiados. Neste caso, as células mostraram-se capazes de participar na neovascularização dos tecidos e reverter parcialmente a hipofunção salivar induzida por radiação (YAMAMURA *et al.*, 2013).

3.3 APLICABILIDADES TERAPÊUTICAS FUTURAS DAS CÉLULAS-TRONCO DENTAIS EM ÁREAS DA CIÊNCIA NÃO RELACIONADAS À ODONTOLOGIA.

3.3.1 Tratamento de lesões neurais e de doenças neurodegenerativas

As células-tronco derivadas do tecido dental vêm sendo estudadas no tratamento de lesões neurais bem como doenças neurodegenerativas pela sua capacidade de regenerar o tecido neural (Figura 2). Em 2008, um grupo de pesquisadores utilizou células-tronco da polpa de dentes decíduos humanas injetadas localmente, nos músculos de filhotes de cães com distrofia muscular (DM). Observou-se uma melhora clínica significativa dos cães sugerindo que esse tipo de terapia celular poderia retardar a progressão do processo distrófico por expressarem fatores parácrinos imunorreguladores (KERKIS *et al.*, 2008).

No caso da doença de Parkinson, uma das doenças neurodegenerativas mais comuns e que é causada pela perda de neurônios dopaminérgicos (DAergic), células-tronco da polpa de dentes decíduos previamente induzidas à diferenciação neurogênica *in vitro* reduziram os déficits comportamentais após transplantes em ratos parkinsonianos (WANG, J. *et al.*, 2010).

A doença de Alzheimer é outra doença de interesse nessa área de pesquisa. O Alzheimer é uma doença neurodegenerativa progressiva

caracterizada por um declínio na capacidade cognitiva e formação de placas amilóides no cérebro (BERTRAM; LILL; TANZI, 2010). Células-tronco da polpa de dentes decíduos (CTDD) injetadas via intranasal *in vivo*, foram capazes de melhorar substancialmente a função cognitiva em camundongos com Alzheimer. Além disso, o desempenho das CTDD foi superior ao das células-tronco da medula óssea nesses modelos animais (MITA *et al.*, 2015).

No caso de regeneração de medula espinhal, também foi observado melhora na recuperação locomotora de camundongos que sofreram lesão espinhal e receberam como tratamento injeções locais (no centro da lesão) de células-tronco da polpa de dentes permanentes. Os resultados sugeriram que as células-tronco contribuíram para a preservação da mielina e indução do processo regenerativo local (DE ALMEIDA *et al.*, 2011);

Em 2012, pesquisadores compararam a capacidade de regeneração neural das células-tronco da polpa de dentes decíduos e das células-tronco da polpa de dentes permanentes com outros tipos de células-tronco pós-natais. Eles observaram que, após o transplante dessas células em ratos adultos com a medula espinhal completamente seccionada, as células resultaram na recuperação acentuada de funções locomotoras dos membros posteriores. As células-tronco de polpa dentária humana exibiram três principais atividades neuroregenerativas - em primeiro lugar, elas inibiram a apoptose induzida pela secção da medula espinhal, de neurônios, astrócitos e oligodendrócitos, o que melhorou a preservação de filamentos neuronais e bainhas de mielina; em segundo lugar, elas promoveram a regeneração de axônios transeccionados, inibindo diretamente vários inibidores de crescimento de axônio, incluindo proteoglicanos sulfato de condroitina e glicoproteína associada à mielina, através de mecanismos parácrinos; e por último, elas substituíram as células perdidas por se diferenciarem em oligodendrócitos maduros nas condições de lesão da medula espinhal. Esses dois últimos tópicos são exclusivos para as células-tronco derivadas da polpa dental e não são exibidas por qualquer outro tipo de célula descrita no estudo, como a células-tronco da medula óssea e fibroblastos da pele humana, por exemplo (SAKAI *et al.*, 2012).

Por fim, células-tronco da polpa de dentes permanentes (CTDP) demonstraram que secretam múltiplas neurotrofinas e que, ao menos em parte, foram responsáveis pela promoção da neuroproteção, neurogênese e axoniogênese, tanto *in vitro* como *in vivo* para tratar lesão em nervo óptico. O desempenho das CTDP foi inclusive superior ao das células-

tronco da medula óssea para restaurar a função neural após transplante intravítreo (MEAD *et al.*, 2013).

3.3.2 Tratamento de tecidos isquêmicos

Apesar dos avanços recentes na prevenção e tratamento, o infarto agudo do miocárdio continua sendo uma das causas principais da mortalidade em todo o mundo. Tem-se investigado a possibilidade de utilizar células-tronco da polpa de dentes permanentes (CTDP) para o tratamento de infarto agudo do miocárdio (Figura 2) (PARK; CHA; PARK, 2016). Acredita-se que isso seria possível pelas propriedades angiogênicas dessas células (Figura 2) (MARCHIONNI *et al.*, 2009; BRONCKAERS *et al.*, 2013; PARK; CHA; PARK, 2016). Em um trabalho pioneiro nessa área, os pesquisadores injetaram CTDP após sete dias da indução de infarto (ligadura de artérias coronarianas) em cinco pontos periféricos à zona infartada. Estudos histológicos mostraram aumento no número de vasos sanguíneos e redução da dimensão da área de infarto nos grupos experimentais (GANDIA *et al.*, 2008).

Outros trabalhos mostraram ainda que as células-tronco da polpa de dentes permanentes podem sofrer diferenciação em células endoteliais por meio de indução com o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF). Dessa forma, as células passam a expressar marcadores específicos de endotélio tais como Flt-1 e KDR. Além disso, mostram capacidade de formarem estruturas semelhantes a capilares quando cultivadas em uma malha de fibrina 3D (MARCHIONNI *et al.*, 2009).

Bronckaers *et al.*, (2013) sugere ainda que, além da expressão elevada de fatores angiogênicos (fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e proteína quimiotática de monócitos-1 (MCP-1)), as células-tronco de dentes permanentes podem estimular a migração de células endoteliais *in vitro* por estimulação da via PI3K / AKT e MEK / ERK de células endoteliais.

3.3.3 Tratamento da doença hepática

Com muita frequência, condições patológicas agudas ou crônicas do fígado resultam em estágios avançados de cirrose que requerem transplante do fígado. Este último depende, claramente, de um número limitado de doadores e implica em um grande risco de complicações após a cirurgia (GITTO *et al.*, 2016). Uma alternativa para

isto seria o transplante de células-tronco com capacidade de regenerar o tecido hepático (PATIL *et al.*, 2014; ISHKITIEV *et al.*, 2015; CHO *et al.*, 2015).

Em 2014, células-tronco do folículo dental, polpa dental e papila apical de terceiros molares mostraram-se capazes de transdiferenciarem-se em células hepáticas *in vitro*, com capacidade para armazenamento de glicogênio e produção de uréia (PATIL *et al.*, 2014).

Em 2015, células-tronco da polpa de dentes decíduos CD117⁺ mostraram-se capazes de se diferenciar em células semelhantes a hepatócitos *in vitro* e regenerar tecido hepático *in vivo*. Nesse estudo, as células induzidas com fator recombinante de crescimento hepático foram transplantadas em ratos com lesão hepática aguda e cirrose biliar secundária induzida. Os testes revelaram ausência de fibrose hepática e integração funcional das células transplantadas com as células do hospedeiro. Não foram encontradas evidências de malignidade (ISHKITIEV *et al.*, 2015). No mesmo ano, outros autores mostraram que células-tronco da polpa de dentes permanentes também possuíam a capacidade de diferenciação e regeneração hepática (Figura 2). Neste caso, no entanto, o processo de diferenciação celular foi realizado fazendo o uso de melatonina. O transplante dessas células resultou em efeitos positivos na função hepática e diminuição da fibrose (CHO *et al.*, 2015).

3.3.4 Tratamento de cegueira causada por lesão na córnea

O fato das células-tronco da polpa dental possuírem a mesma origem embriológica das células da córnea, a crista neural, estimula os pesquisadores a estudarem essas populações como alternativas para terapia celular autóloga ao invés de transplante de córnea alógeno (SYED-PICARD *et al.*, 2015).

Em 2009, um grupo de pesquisadores utilizou células-tronco da polpa de dentes decíduos humanos (CTDD) para regenerar a córnea de coelhos submetidos a queimaduras químicas nos olhos. Essas células mostraram-se capazes de reconstruir a superfície ocular e produzir um epitélio córneo bem formado (MONTEIRO *et al.*, 2009). De maneira semelhante, outros pesquisadores mostraram que as CTDD podem reconstruir as superfícies de córnea e do limbo, com melhora da transparência do primeiro, em coelhos com deficiência total de células-tronco límbicas (GOMES *et al.*, 2010).

Por fim, células-tronco da polpa de dentes permanentes também têm sido estudadas nesse contexto (Figura 2). Após induzidas à diferenciação *in vitro*, foram injetadas no estroma corneano de camundongos e mostraram-se capazes de produzir matriz extracelular típica do estroma corneal contendo colágeno tipo I e proteoglicanos sulfato de queratana. Além disso, não afetaram a transparência da córnea e tampouco induziram a rejeição imunológica (SYED-PICARD *et al.*, 2015).

3.3.5 Tratamento de diabetes mellitus

A diabetes mellitus se tornou uma das doenças endócrinas crônicas mais comuns e está associada à disfunção de células das ilhotas pancreáticas (SCHMIDT *et al.*, 2015)

O único tratamento definitivo para diabetes mellitus do tipo 1 é o transplante de ilhotas pancreáticas, o qual é dificultado pela escassez de doadores de pâncreas e acarreta na necessidade de imunossupressão ao longo de toda a vida (GOVINDASAMY *et al.*, 2011).

O potencial de diferenciação das células-tronco da polpa de dentes decíduos (CTDD) em células semelhantes às das ilhotas pancreáticas já foi explorado em um estudo de 2011, onde essas células mostraram capacidade de assumir um fenótipo similar ao das células β do pâncreas. Além disso, ao menos *in vitro*, podem liberar insulina e peptídeo C regulados pelas doses de glicose, o que sugere a sua funcionalidade. (GOVINDASAMY *et al.*, 2011).

Em 2013, um estudo feito por italianos mostrou que as células-tronco da polpa de dentes permanentes também eram capazes de se diferenciarem em células β pancreáticas. Essas células-tronco expressam fator de transcrição PDX-1 (marcador que indica diferenciação e manutenção das células β), insulina e Glut-2; todos regulados pela concentração de glicose (CARNEVALE *et al.*, 2013).

No mesmo ano, outro trabalho visou comparar as células-tronco da polpa de dentes decíduos (CTDD) com as células-tronco da polpa de dentes permanentes (CTDP) no que se refere a sua capacidade de tratar diabetes de modelos animais com diabetes induzidos por estreptozotocina (STZ). Os resultados demonstram que as CTDD foram superiores às CTDP e que, pela primeira vez, as ilhotas pancreáticas derivadas de CTDD reverteu a diabetes induzida por STZ em camundongos sem imunossupressão (KANAFI *et al.*, 2013).

Ishkitiev *et al.* (2013) utilizou apenas as células-tronco da polpa de dentes decíduos e de dentes permanentes CD117⁺ e observou que eram

capazes de sofrer diferenciação em células pancreáticas *in vitro*, mesmo em condições de cultivo isentas de soro. Nesses experimentos, verificou-se que essas células expressavam marcadores específicos tanto do pâncreas endócrino como a insulina, glucagon, somatostatina, polipeptídeo pancreático, quanto exócrino, como o marcador amilase-2^a, em ambas as culturas.

Guimarães *et al.* (2013) observaram que células-tronco da polpa de dentes permanentes de camundongos transplantadas em camundongos com diabetes tipo 1 induzida por estreptozotocina (STZ), reduziram o nível de glicose no sangue e urina, comparado com o grupo controle que recebeu injeções de solução salina. Os autores atribuíram esses achados ao aumento das ilhotas pancreáticas assim como da produção de insulina trinta dias após o início da terapia. Além disso, os níveis de uréia e proteinúria também foram normalizados após o transplante, indicando uma melhora da função renal. Em apenas três dias após o recebimento dessas células, os animais diabéticos exibiram os limiares nociceptivos semelhantes aos de camundongos não diabéticos e este efeito foi mantido durante todo o período de avaliação (noventa dias). Segundo os autores, esses resultados demonstram que as células-tronco da polpa de dentes permanentes podem contribuir para a renovação de células β pancreáticas, evitar danos renais em animais diabéticos e produzir um efeito antinociceptivo poderoso e de longa duração sobre a dor neuropática comportamental.

Mais recentemente, surgiram indícios de que não apenas as células-tronco da polpa de dentes permanentes e as células-tronco da polpa de dentes decíduos possuem a capacidade de diferenciação em células pancreáticas, como também as células-tronco do ligamento periodontal (Figura 2). Experimentos *in vitro* mostram que em apenas seis dias, quando cultivadas em meio contendo matrigel com agentes de indução e diferenciação, essas células sofreram alterações morfológicas, se assemelhando a grupos de células de ilhotas pancreáticas e mostram-se capazes de secretar insulina em resposta a concentrações elevadas de glucose (LEE *et al.*, 2014).

3.3.6 Efeito imunomodulador das células-tronco dentais

Um grupo de pesquisadores comparou, em 2005, as células-tronco de medula óssea com células-tronco da polpa de dentes permanentes e constatou que estas últimas possuíam a capacidade de inibir as células T *in vitro* (PIERDOMENICO *et al.*, 2005).

Em 2009, um estudo *in vitro* concluiu que tanto as células-tronco do ligamento periodontal (isoladas a partir da raiz de pré-molares humanos), quanto as células-tronco da medula óssea, células-tronco de dentes permanentes e células de fibras gengivais podem possuir propriedades imunossupressoras, especialmente sob células mononucleares. Essas propriedades seriam inclusive moduladas independentemente de contato, via fatores solúveis (WADA *et al.*, 2009).

Em 2010, outro grupo de pesquisadores investigou as características imunológicas de células-tronco da papila apical (CTPA) de suínos *in vitro*, avaliando a imunomodulação sobre células T e apoptose. Nesse trabalho, descobriram que CTPA expressam um baixo nível de moléculas de classe I antígeno leucocitário de suínos (ALS) e foram negativas para a classe II ALS. Além disso, inibiram a proliferação de células T através de um mecanismo independente de apoptose (DING *et al.*, 2010).

Células-tronco do ligamento periodontal (CTLP) também aparentam possuir um papel imunomodulador importante, principalmente sob células T. Ao induzir periodontite em mini-porcos e os mesmos receberem tratamento com CTLP oriundas da raiz de terceiros molares de humanos, os pesquisadores observaram que essas células não expressam HLA-DR II ou moléculas co-estimulatórias assim como não induzem a proliferação de células T. Experimentos *in vitro* também apontaram essas células como tendo baixa imunogenicidade e capacidade de imunomodulação (DING *et al.*, 2010).

No mesmo ano, um grupo de pesquisadores descobriu comparando as células-tronco da medula óssea com as células-tronco da polpa de dentes decíduos (CTDD), que as últimas possuem um efeito significativo sobre a inibição das células T helper 17 (Th17), *in vitro*. Além disso, descobriu que o transplante de CTDD é capaz de modular eficazmente distúrbios do Lupus Eritematoso sistêmico em camundongos (YAMAZA *et al.*, 2010).

Zhao *et al.* (2012), realizaram um experimento onde utilizaram as células-tronco da polpa de dentes permanentes de camundongos e de humanos para o tratamento de colite aguda induzida em animais. O tratamento com essas células melhorou significativamente a inflamação transmural do cólon, reduziu a ulceração epitelial e contribuiu para restaurar a arquitetura intestinal normal.

3.3.7 Regeneração Muscular

A distrofia muscular de Duchenne é uma enfermidade muscular ligada ao cromossomo X e está associada a mutações no gene distrofina, o que leva à produção de proteínas estruturais defeituosas e perda de integridade da membrana muscular. A distrofia muscular de Duchenne é a forma mais comum de distrofia muscular, afetando 1 em cada 3500 pessoas, inicia na primeira infância e progride para fase final (deficiência cardiorrespiratória e morte) antes dos 20 anos. A doença afeta os músculos estriados dos membros, diafragma e coração, resultando em uma perda progressiva de massa muscular. As miofibras esqueléticas degeneram e sofrem necrose; os músculos acumulam progressivamente cálcio e são substituídos por tecido conjuntivo e gordura. Os tratamentos disponíveis até o momento são apenas paliativos (BLAU, 2008).

Uma alternativa atraente seria uma terapia baseada em células-tronco (Figura 2), apesar de saber que células-tronco derivadas do tecido muscular são boas alternativas para o reparo muscular em indivíduos saudáveis, essas mesmas células não podem ser utilizadas de maneira autóloga em pacientes com distrofia muscular, pois as mesmas podem carregar o gene deficiente (KERKIS *et al.*, 2008).

Em 2008, um estudo utilizou células-tronco da polpa de dentes decíduos humanos para regenerar o tecido muscular distrófico em cães. Essas células foram expandidas e diferenciadas em miócitos e injetadas localmente nos músculos dos animais. Os resultados mostraram que o benefício clínico obtido nos animais não foi devido à expressão de distrofina nos músculos do hospedeiro, mas sim, pela capacidade de imunomodulação destas células. Os autores ainda concluíram que injeções sistêmicas trariam melhores resultados do que injeções locais (KERKIS *et al.*, 2008).

Já, em 2010, outro estudo utilizou células-tronco da polpa de dentes decíduos de humanos (CTDD) para regenerar o tecido muscular de camundongos com distrofia muscular. Essas células foram expandidas e diferenciadas em miócitos e injetadas no músculo dos camundongos. Após quatro semanas, os animais foram sacrificados e a análise imunohistoquímica mostrou que as CTDD foram capazes de se fundir às células do músculo lesado e a produzir distrofina e miosina de cadeia pesada (YANG *et al.*, 2010).

4 DISCUSSÃO

Células-tronco são células indiferenciadas que possuem tanto a capacidade de se diferenciar em células especializadas quanto de se auto-renovarem, ou seja, produzirem células indiferenciadas iguais a si (THOMSON *et al.*, 1998).

Sabe-se que vários tecidos do corpo humano são capazes de se auto-renovar constantemente como, por exemplo, o hematopoietico e a pele, e isso se dá a partir da diferenciação de células progenitoras indiferenciadas, chamadas de células-tronco (KRESBACH; ROBEY, 2002). Esse processo é essencial para a regulação da homeostase celular tecidual e manutenção da função do organismo/órgão (GOODELL *et al.*, 1996; MULLER; GLOWACKI, 2001; CAMARGO *et al.*, 2003; DA SILVA MEIRELLES; CAPLAN; NARDI, 2008; MARYNKA-KALMANI *et al.*, 2010; BALAÑÁ; CHARREAU; LEIRÓS, 2015).

Existem basicamente dois tipos de fontes de células-tronco, as células-tronco embrionárias, que são totipotentes e, em teoria, capazes de formarem todos os tecidos do corpo humano (THOMSON *et al.*, 1998) e as células-tronco pós-natais, as quais são multipotentes e tem, portanto, um potencial de diferenciação mais limitado (WU *et al.*, 1968; DA SILVA MEIRELLES; CAPLAN; NARDI, 2008). Apesar das células-tronco embrionárias terem a capacidade de se diferenciarem em uma gama maior de tecidos, a ausência do seu uso clínico recai nas dificuldades sobre o controle da sua diferenciação além de enfrentar dilemas éticos no que diz respeito à utilização de embriões para a sua obtenção (LO; PARHAM, 2009). No entanto, algumas das células-tronco pós-natais estudadas pela ciência já possuem um controle tal sobre o seu potencial de diferenciação que já são empregadas com segurança em ensaios clínicos com humanos. Como exemplo disso, podemos citar o transplante de células-tronco de medula óssea no tratamento de leucemia (HÁJEK *et al.*, 2003). Ademais, pelo fato das células-tronco pós-natais serem derivadas de tecidos maduros e não de um embrião, o uso das mesmas não esbarra em questões éticas no que se refere à utilização de uma fonte de células em detrimento de uma “vida”.

Dentre as fontes de células-tronco pós-natais conhecidas, destacam-se as células-tronco derivadas dos tecidos dentais como as da polpa de dentes permanentes (CTDP) (GRONTHOS *et al.*, 2000); da polpa de dentes decíduos (CTDD) (MIURA *et al.*, 2003); da papila apical (CTPA) (SONOYAMA *et al.*, 2006); do ligamento periodontal

(CTLP) (SEO *et al.*, 2004) e do folículo dental (CTFD) (HANDA *et al.*, 2002; MORSCZECK *et al.*, 2005; YOKOI *et al.*, 2007).

As células-tronco dos tecidos dentais são células de fácil obtenção e podem garantir uma fonte autóloga de células para terapia celular e engenharia tecidual (GRONTHOS *et al.*, 2000; MIURA *et al.*, 2003; SEO *et al.*, 2004; MORSCZECK *et al.*, 2005; HUANG; GRONTHOS; SHI, 2009).

A caracterização das células-tronco dentais ainda é foco de estudos e discussão. Acredita-se que as linhagens mesenquimais devam se aderir ao plástico e apresentar marcadores de superfícies mínimos como CD105, CD73 e CD90, e não expressar os marcadores CD45, CD34, CD14 ou CD11b, CD19 ou CD79 alpha e moléculas de superfície de HLA-DR. Além disso, devem ter a capacidade de se diferenciarem *in vitro* em pelo menos três tipos celulares mesenquimais: osteoblastos, adipócitos e condroblastos (DOMINICI *et al.*, 2006). Novos estudos apontam, no entanto, que outros marcadores também podem ser utilizados no intuito de selecionar uma população de células-tronco a partir de tecidos dentais, tal como a combinação dos marcadores STRO-1/CD146 para identificação das células-tronco do ligamento periodontal e papila apical (XU *et al.*, 2009; BAKOPOULOU *et al.*, 2013) e CD271, CD51 e CD140a para isolamento de células-tronco da polpa de dentes permanentes (ALVAREZ *et al.*, 2015).

Tradicionalmente, as células-tronco da medula óssea, são utilizadas em ensaios clínicos para regeneração de tecidos hematopoiéticos. Já, em caráter de pesquisa científica, destaca-se a sua capacidade de formação de tecidos duros, principalmente do ósseo (FRIEDENSTEIN; PIATETZKY-SHAPIRO; PETRAKOVA, 1966). No entanto, como alternativa ao seu uso para formação de tecido ósseo, tanto as células-tronco da polpa de dente permanente (LAINO *et al.*, 2005), de dente decíduo (SEO *et al.*, 2008; ZHENG *et al.*, 2009; YAMADA *et al.*, 2011), do folículo dental (HONDA *et al.*, 2010; YAGYUU *et al.*, 2010) e da papila apical (ABE *et al.*, 2008) também possuem capacidade de formar tecidos duros, com o diferencial que as células-tronco da polpa de dentes decíduos (CTDD) parecem ter um desempenho melhor do que as demais, inclusive do que as da medula óssea (SEO *et al.*, 2008). As CTDD apontam ser, portanto, uma fonte celular viável para a regeneração óssea nos casos de perda desses tecidos por sequelas cirúrgicas, traumas, tumores ou outros.

Além disso, tem-se pesquisado que as células-tronco dentais poderiam auxiliar no contexto da implantodontia. Inicialmente, o uso de células-tronco dentais foi empregado sem muito sucesso no intuito de

tentar criar uma interface titânio-cimento-ligamento periodontal-osso ao invés apenas de titânio e osso (LIN *et al.*, 2011). Porém Sonoyama *et al.* (2006); Wei *et al.* (2013) e Gao *et al.* (2016) demonstraram que é possível criar uma raiz dental completa, utilizando combinações de células-tronco dentais, e que estas sim formavam uma interface bioraiz-cimento-ligamento periodontal-osso. Esse fato pode nos levar a pensar que no futuro os implantes de titânio poderiam entrar em desuso e serem substituídos por bioraizes capazes de suportar as coroas dentais confeccionadas pelas técnicas tradicionais de reabilitação protética.

A regeneração do complexo dentina-polpa também pode vir a ser de grande utilidade, pois evitaria a perda da vitalidade do elemento dental através da revitalização dos condutos radiculares, mecânica e quimicamente preparados, evitando a fragilização dos mesmos, tal qual ocorre corriqueiramente em dentes tratados pelos protocolos endodônticos atuais (GUPTA *et al.*, 2016). Neste anseio, já foi possível regenerar o complexo dentina-polpa utilizando células-tronco da polpa de dentes decíduos (CORDEIRO *et al.*, 2008); da polpa de dentes permanentes (IOHARA *et al.*, 2011) e da papila apical (HUANG *et al.*, 2010). Alguns estudos fizeram isso apenas em fatias de dentes (CORDEIRO *et al.*, 2008; HUANG *et al.*, 2010) ao passo que outros já mostraram que foi possível revascularizar o conjunto de canais radiculares por completo (IOHARA *et al.*, 2011). As células-tronco da papila apical, da polpa de dentes decíduos e da polpa de dentes permanentes mostraram-se capazes de regenerar o complexo dentino-pulpar não havendo diferenças significativas entre elas (HUANG; AL-HABIB; GAUTHIER, 2013). Portanto todas as células apresentam potencial para a bioengenharia tecidual tanto na revitalização de canais radiculares como na regeneração de dentina, o que vem a ser de extremo interesse para algumas áreas de conhecimento em odontologia, como a endodontia e a dentística.

No âmbito da Dentística, um dos principais desafios era a regeneração de esmalte dental uma vez que a formação de dentina já havia sido demonstrada desde os primeiros estudos envolvendo a descoberta das células-tronco dentais, nos quais utilizaram células-tronco da polpa de dentes permanentes transplantadas *in vivo* e obtiveram estruturas similares ao complexo dentino pulpar (GRONTHOS *et al.*, 2000). Nesse sentido, já foi demonstrada a possibilidade de formação do esmalte dental através da utilização de células do órgão do esmalte combinadas com as células-tronco da polpa de dentes permanentes (HONDA; SHINMURA; SHINOHARA, 2009); células-tronco do ligamento periodontal combinadas com células-tronco

da polpa de dentes permanentes (SHINMURA *et al.*, 2008) e células epiteliais retiradas da gengiva de humanos combinadas com células-tronco mesenquimais retiradas de germes dentais de camundongos (VOLPONI *et al.*, 2013).

Neste contexto, observa-se que, para a formação de esmalte, utilizou-se uma fonte epitelial combinada com uma fonte mesenquimal odontogênica, entretanto, um estudo de 2006 provou que pode-se obter esmalte utilizando uma fonte mesenquimal não odontogênica, como as células-tronco da medula óssea, combinadas com o mesênquima e epitélio odontogênico digeridos (HU *et al.*, 2006). Esse tipo de avanço traz possibilidades de substituição futura dos materiais dentários como resinas compostas, amálgama, ionômero de vidro, pela regeneração da dentina e do esmalte dental com materiais biológicos.

Já, em relação à perda de suporte dental através de doenças como a periodontite, sabe-se que é possível obter, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, cimento (HANDA *et al.*, 2002), ligamento periodontal (SEO *et al.*, 2004; HASEGAWA *et al.*, 2005) e osso (SONOYAMA *et al.*, 2006). Inclusive, descobriu-se que as células-tronco do ligamento periodontal (CTLP) são melhores do que as células-tronco da medula óssea em relação ao potencial de regeneração do ligamento periodontal. Neste estudo, as CTLP formaram tecidos mais organizados e dotados de filamentos nervosos, o que contribui para a propriocepção (TSUMANUMA *et al.*, 2011).

A capacidade das células-tronco dentais regenerarem tecidos dentais como o ligamento periodontal, por exemplo, pode, no futuro, ter implicações clínicas que vão muito além dos anseios odontológicos. O fato de células-tronco do folículo dental expressarem marcadores para tendão (como Scx e GDF-5) e serem capazes de produzir fibras colágenas densas *in vivo* (YOKOI *et al.*, 2007) e tecido ósseo (HONDA *et al.*, 2010), vislumbra uma possível aplicabilidade clínica dessas células na ortopedia, por exemplo.

Quanto à formação de tecidos duros, as células tronco da polpa de dentes decíduos (SEO *et al.*, 2008; ZHENG *et al.*, 2009); da polpa de dentes permanentes (LAINO *et al.*, 2005); da papila apical (ABE *et al.*, 2008) e do folículo dental (YAGYUU *et al.*, 2010) possuem a capacidade produzir tecido ósseo. Neste aspecto, as células-tronco da polpa de dentes decíduos mostraram ser superiores as células-tronco da medula óssea (SEO *et al.*, 2008) e as células-tronco da polpa de dentes permanentes (YAMADA *et al.*, 2011). Além disso, um estudo realizado em 2010 comparou a capacidade proliferativa e de diferenciação das células-tronco do ligamento periodontal e das células-tronco da papila

apical e mostrou que ambas formaram tecido duro, porém com diferentes capacidades de diferenciação: as células-tronco do folículo dental possuem a capacidade de produzir um tecido semelhante ao cimento e ao tecido ósseo, ao passo que as células-tronco da papila apical têm maior capacidade para a formação de dentina (YAGYUU *et al.*, 2010).

Ainda no âmbito da Odontologia, as células-tronco dentais apontam o seu uso futuro para a confecção de germes dentais em laboratório para posterior transplante em seres humanos. Em modelos de estudo animal, tais germes são capazes, inclusive, de erupcionar, se posicionar em oclusão e responder a estímulos ortodônticos (IKEDA *et al.*, 2009). Esses avanços são promissores e têm o respaldo de vários outros estudos que também obtiveram a formação de um dente por completo, utilizando diferentes técnicas e fontes celulares (OHAZAMA *et al.*, 2004; OSHIMA *et al.*, 2011; VOLPONI *et al.*, 2013; YANG *et al.*, 2015).

Apesar das células-tronco dentais mostrarem aplicabilidades promissoras na odontologia, os possíveis usos clínicos vão muito além. Elas estão, inclusive, sendo utilizadas para a regeneração neural e no tratamento de doenças neurodegenerativas (WANG, J. *et al.*, 2010; MITA *et al.*, 2015) dentre outras enfermidades discutidas a seguir.

As células-tronco da polpa de dentes permanentes mostraram-se eficazes para regenerar tecido neural, como provado por Almeida *et al.* (2011). Esses autores mostraram que após o transplante das células-tronco da polpa dental em camundongos com lesão na medula espinhal, os animais obtiveram uma melhora na recuperação locomotora e preservação/recuperação da bainha de mielina dos neurônios induzida por um processo regenerativo.

Já células-tronco da polpa de dentes decíduos (CTDD), também ganharam destaque na regeneração de tecido neural, porém ao serem empregadas no tratamento de Doença de Parkinson (WANG, J. *et al.*, 2010) e Alzheimer, em animais (BERTRAM; LILL; TANZI, 2010). No primeiro caso, as células diferenciaram-se em neurônios dopaminérgicos e causaram melhoras significativas nos sintomas da doença como os tremores (WANG, J. *et al.*, 2010). Já no segundo caso, as CTDD atenuaram as respostas pró-inflamatórias produzidas pela formação de placas amilóides no cérebro (MITA *et al.*, 2015). Ademais, quando comparadas, as CTDD parecem ter uma capacidade maior de diferenciação e de proteção neural do que as células-tronco da polpa de dentes permanentes, além disso, ambas células-tronco da polpa dental

possuem maior capacidade de restaurar a função neural do que as células-tronco da medula óssea (SAKAI *et al.*, 2012).

Acredita-se que este fato seja decorrente da origem dessas células ser da crista neural e por isso apresentam marcadores neurais, o que as difere de outros tipos de células-tronco já conhecidas como, por exemplo, as da medula óssea (GRONTHOS *et al.*, 2000; SAKAI *et al.*, 2012).

Já em relação a doenças isquêmicas como o infarto agudo do miocárdio, por exemplo, as células-tronco da polpa de dentes permanentes apresentam resultados promissores, visto a sua capacidade de angiogênese (GANDIA *et al.*, 2008), de diferenciação em células endoteliais (MARCHIONNI *et al.*, 2009) e de estimulação da migração de células endoteliais para o local (BRONCKAERS *et al.*, 2013).

Tanto as células-tronco da papila apical (PATIL *et al.*, 2014), quanto as da polpa de dentes permanentes (CHO *et al.*, 2015) e de dentes decíduos (ISHKITIEV *et al.*, 2015) parecem ser uma fonte celular segura e acessível também para a terapia de doenças hepáticas. A indução à diferenciação *in vitro* de células-tronco pós-natais e subsequente transplante pode revelar-se como um método eficiente e alternativo para esse propósito.

As células-tronco da polpa dentária tanto de dentes permanentes (SYED-PICARD *et al.*, 2015) como de decíduos (MONTEIRO *et al.*, 2009; GOMES *et al.*, 2010) também mostram serem relevantes no tratamento de lesões na córnea, possuindo a capacidade de regenerá-la, isso pouparia os pacientes de realizarem um transplante de células-tronco límbicas, visto que esse é o tratamento ainda muito indicado para estes casos (SYED-PICARD *et al.*, 2015; KHAN-FAROOQI; CHODOSH, 2016).

Ainda sobre o papel das células-tronco no tratamento de enfermidades, tem se apontado o uso das células-tronco dentais no tratamento do diabetes mellitus (Figura 2) (GOVINDASAMY *et al.*, 2011; CARNEVALE *et al.*, 2013; KANAFI *et al.*, 2013; ISHKITIEV *et al.*, 2013; GUIMARÃES *et al.*, 2013; LEE *et al.*, 2014). Já se observou que o uso de células-tronco da polpa de dentes decíduos (CTDD) pode criar uma possibilidade de tratamento para diabetes tipo 1 por meio de transplante autólogo de células semelhantes às células β do pâncreas, diferenciadas a partir de dentes do próprio paciente (GOVINDASAMY *et al.*, 2011). Trabalhos subsequentes, *in vitro*, revelaram também que tanto as CTDD quanto as células-tronco da polpa de dentes permanentes (CTDP) são capazes de diferenciação em células pancreáticas exibindo tanto funções endócrinas quanto exócrinas e sendo capazes de se

desenvolverem em meio de cultivo com ausência de soro fetal bovino, o que é essencial para o transplante alógeno seguro (ISHKITIEV *et al.*, 2013). Quando transplantadas para modelos animais, há indícios de que as CTDD são superiores às CTDP, possuindo maior capacidade de reverter a diabetes (KANAFI *et al.*, 2013). Trabalhos mais recentes, mas realizados apenas *in vitro*, ainda abrem a perspectiva do uso de células-tronco do ligamento periodontal (CTLP) com finalidade terapêutica similar (LEE *et al.*, 2014). Ao que parece, portanto, CTDD, CTDP e CTLP têm um grande potencial para a terapia celular futura de distúrbios pancreáticos.

A regeneração muscular também é um aspecto promissor das células-tronco dos dentes decíduos, que já foram capazes de regenerar o músculo lesado de camundongos (YANG *et al.*, 2010) e proporcionar melhora clínica em cães com distrofia muscular (KERKIS *et al.*, 2008).

Outro ponto não correlato a esse, mas não menos importante, diz respeito às propriedades imunogênicas e imunomoduladoras das células-tronco dentais (YAMAZA *et al.*, 2010). Elas têm sido utilizadas inclusive para tratamento de doenças auto-imunes como o Lupus Eritematoso Sistêmico em camundongos, por exemplo (YAMAZA *et al.*, 2010). Além disso, as células-tronco de diferentes fontes de tecidos dentais como a polpa (ALKAISI *et al.*, 2013) e do ligamento periodontal (DING *et al.*, 2010) parecem ter baixa imunogenicidade, uma vez que têm sido empregadas para transplantes alogênicos (DING *et al.*, 2010; YAMADA *et al.*, 2011) e xenogênicos (ALKAISI *et al.*, 2013) sem o uso de imunossupressores pelo animal receptor e, mesmo assim, não tiveram rejeição imunológica. Esses trabalhos foram bem sucedidos na regeneração de defeitos periodontais em miniporcões por células-tronco do ligamento periodontal (DING *et al.*, 2010), defeitos ósseos em cães com células-tronco da polpa de dentes permanentes e células-tronco da polpa de dentes decíduos (YAMADA *et al.*, 2011) e regeneração de defeitos ósseos na mandíbula de coelhos usando células-tronco da polpa de dentes decíduos humanas (ALKAISI *et al.*, 2013).

Apesar das descobertas científicas das últimas décadas visionarem o uso terapêutico das células-tronco dentais (SONOYAMA *et al.*, 2006; ABE *et al.*, 2008; KERKIS *et al.*, 2008; GANDIA *et al.*, 2008; SEO *et al.*, 2008; CORDEIRO *et al.*, 2008; ZHENG *et al.*, 2009; HONDA; SHINMURA; SHINOHARA, 2009; GOMES *et al.*, 2010; YANG *et al.*, 2010; WANG, J. *et al.*, 2010; HUANG *et al.*, 2010; YAMADA *et al.*, 2011; IOHARA *et al.*, 2011; ALKAISI *et al.*, 2013; VOLPONI *et al.*, 2013; ALKAISI *et al.*, 2013; PATIL *et al.*, 2014; LEE *et al.*, 2014; YANG *et al.*, 2015; SYED-PICARD *et al.*, 2015; GAO *et al.*, 2016) a

utilização das mesmas em seres humanos ainda não é possível, pois, em virtude do pouco tempo que são estudadas, ainda não se considera que exista um controle adequado sobre a diferenciação celular e estudos suficientes sobre possíveis consequências a longo prazo. Mesmo assim, há estudos pontuais que transgridem essas questões éticas e que já fizeram ensaios clínicos em humanos. A exemplo disso pode-se citar um grupo de pesquisadores da Universidade de Nápoles, na Itália, que, em 2009, realizou uma pesquisa utilizando as células-tronco obtidas do capuz pericoronário de terceiros molares para reparar um defeito ósseo na distal de segundos molares de humanos (D'AQUINO *et al.*, 2009).

5 CONCLUSÃO

A potencialidade terapêutica das células-tronco dentais tem sido claramente demonstrada por diversos estudos. Além disso, são consideradas fontes celulares de fácil obtenção e, inclusive, muitas vezes, provenientes de tecidos naturalmente perdidos (dentes decíduos, por exemplo) ou descartados, como os terceiros molares, dentes supranumerários e dentes extraídos por razões estético-funcionais.

As células-tronco dentais demonstram possuir alta versatilidade, sendo capazes de se diferenciarem em diversos tecidos, indo muito além de apenas se diferenciarem em tecidos dentais, como se pensava inicialmente.

Nesse sentido, as células-tronco derivadas dos tecidos dentais demonstraram possuir a capacidade de regenerar todos os tecidos dentais tais como o complexo dentina-polpa, esmalte, cimento, ligamento periodontal, osso alveolar, raízes capazes de suportar coroas de porcelana e até mesmo biodentes por completo. Além das aplicações na Odontologia, as células-tronco dentais demonstraram-se capazes de regenerar o tecido ósseo e muscular; tratar hipofunção das glândulas salivares; tratar doenças neurodegenerativas (doença de Parkinson e doença de Alzheimer); regenerar medula espinhal após trauma; revascularizar tecidos isquêmicos (infarto agudo do miocárdio); tratar doenças hepáticas; tratar cegueira causada por lesão na córnea; tratar diabetes mellitus e doenças autoimunes como Lúpus Eritematoso Sistêmico.

Apesar desses estudos serem realizados apenas em animais, eles sugerem que, futuramente, essas técnicas possam ser utilizadas em humanos, o que acarretará uma revolução na odontologia e demais áreas da saúde.

Em suma, as pesquisas relacionadas às células-tronco dentais ocorrem justificadamente em um crescente exponencial, pois se apresentam como fontes promissoras de matéria prima para a bioengenharia tecidual e terapias regenerativas, além de não oferecerem risco à vida do paciente para a sua obtenção.

REFERÊNCIAS

ABE, S. et al. Hard tissue regeneration capacity of apical pulp derived cells (APDCs) from human tooth with immature apex. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 371, n.1, p. 90-93, jun. 2008.

ABOUT, I. et al. Human dentin production in vitro. **Exp Cell Res**, v. 258, n. 1, p. 33-41, jul. 2000.

ALKAISI, A. et al. Transplantation of human dental pulp stem cells: enhance bone consolidation in mandibular distraction osteogenesis. **J Oral Maxillofac Surg**, v. 71, n. 10, p. 1758.e1-13, Oct. 2013.

ALVAREZ, R. et al. Single CD271 marker isolates mesenchymal stem cells from human dental pulp. **Int J Oral Sci**, v. 18, n.7, p. 205-212, dec. 2015.

BALANÁ, M.E.; CHARREAU, H.E.; LEIRÓS, G.J. Epidermal stem cells and skin tissue engineering in hair follicle regeneration. **World Stem Cells**, v.7, n.4, p. 711-727, may. 2015.

BAKOPOULOU A. et al. Comparative characterization of STRO-1(neg)/CD146(pos) and STRO-1(pos)/CD146(pos) apical papilla stem cells enriched with flow cytometry. **Arch Oral Biol**, v. 58, n. 10, p. 1556–1568. 2013.

BARTOLD, P.M. et al. Tissue engineering: a new paradigm for periodontal regeneration based on molecular and cell biology, **Periodontol 2000**, v. 24, p. 253-269, oct. 2000.

BERTRAM, L; LILL, C.M; TANZI, R.E. The genetics of Alzheimer disease: back to the future, **Neuron**, v. 68, n. 2, p. 270–281, oct. 2010.

BIANCO, P. et al. Bone marrow stromal stem cells: nature, biology, and potential applications. **Stem Cells**, v.19, n. 3, p.180-192, 2001.

BLAU H. M. Cell therapies for muscular dystrophy. **N Engl J Med**, v. 359, p. 1403–1405, sep. 2008.

BLUTEAU, G. et al. Stem cells for tooth engineering. **EurCell Mater**, v. 16, p. 1-9, jul. 2008.

BRONCKAERS, A. et al. Angiogenic properties of human dental pulp stem cells. **PLoS ONE**, v. 8, n. 8, Article ID e71104, 2013. Disponível em: <<http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0071104>> Acesso em: 05 fev. 2016.

CAMARGO, F. D. et al. Single hematopoietic stem cells generate skeletal muscle through myeloid intermediates. **Nat Med**, v. 9, n.12, p.1520-1527, dec. 2003.

CARNEVALE, G. et al. In vitro differentiation into insulin-producing β -cells of stem cells isolated from human amniotic fluid and dental pulp. **Dig Liver Dis**, v. 45, n. 8, p. 669-676, aug. 2013.

CHO, Y.A. et al. Melatonin promotes hepatic differentiation of human dental pulp stem cells: clinical implications for the prevention of liver fibrosis. **J Pineal Res**, v. 58, n. 1, p. 127-35, Jan. 2015.

CLAYTON, E. et al. A single type of progenitor cell maintains normal epidermis. **Nature**, v.446, n. 7132, p.185-189, mar. 2007.

CORDEIRO, M. M. et al. Dental pulp tissue engineering with stem cells from exfoliated deciduous teeth. **J Endod**, v. 34, n. 8, p. 962–969, aug. 2008.

D'AQUINO, R. et al. Human postnatal dental pulp cells co-differentiate into osteoblasts and endotheliocytes: a pivotal synergy leading to adult bone tissue formation. **Cell Death Differ**, v.14, n. 6, p. 1162-1171, jun. 2007.

D'AQUINO, R. et al. Human mandible bone defect repair by the grafting of dental pulp stem/progenitor cells and collagen sponge biocomplexes. **EurCellMater**, v. 18, p. 75-83, nov. 2009.

DA SILVA MEIRELLES L.; CAPLAN, A.I.; NARDI, N. B. In search of the in vivo identity of mesenchymal stem cells. **StemCells**, v. 26, n. 9, p. 2287-2299, sep. 2008.

DASSULE, H.R. et al. Sonic hedgehog regulates growth and morphogenesis of the tooth. **Development**, v.127, n. 22, p. 4775–4785, nov. 2000.

DE ALMEIDA, F. M. et al. Human dental pulp cells: A new source of cell therapy in a mouse model of compressive spinal cord injury. **J Neurotrauma**, v. 28, n. 9, p. 1939-1949, sep. 2011.

DING, G. et al. Suppression of T cell proliferation by root apical papilla stem cells in vitro. **Cells Tissues Organs**, v. 191, n. 5, p. 357-364, 2010.

DING, G. et al. Allogeneic periodontal ligament stem cell therapy for periodontitis in swine. **Stem Cells**, v. 28, n. 10, p. 1829-1838, oct. 2010.

DIVARIS, K. Predicting Dental Caries Outcomes in Children: A "Risky" Concept. **J Dent Res**, v. 95, n. 3, p. 248-254, mar. 2016.

DUAILIBI, M. T. et al. Bioengineered teeth from cultured rat tooth bud cells. **J Dent Res**, v. 83, n. 7, p. 523-528, jul. 2004.

DOMINICI, M. et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. **Cytotherapy**, v. 8, n. 4, p. 315-317, 2006.

EVANS, M. J.; KAUFMAN, M. H. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. **Nature**, v. 292, n. 5819, p.154–156, jul.1981.

FRIEDENSTEIN, A. J; PIATETZKY-SHAPIRO, I. I; PETRAKOVA, K. V. Osteogenesis in transplants of bone marrow cells. **J Embryol Exp Morphol**, v.16, n. 3, p. 381-390, dec. 1966.

GANDIA, C. et al. Human dental pulp stem cells improve left ventricular function, induce angiogenesis, and reduce infarct size in rats with acute myocardial infarction. **Stem Cells**, v. 26, n. 3, p. 638-645, mar. 2008.

GAO, Z. H. et al. Bio-Root and Implant-Based Restoration as a Tooth Replacement Alternative. **J Dent Res**, Mar. 2016. Disponível em: <<http://jdr.sagepub.com/content/early/2016/03/14/0022034516639260.long>>. Acesso em: 01 abr. 2016.

GAY, I. C; CHEN, S; MACDOUGALL, M. Isolation and characterization of multipotent human periodontal ligament stem cells. **OrthodCraniofac Res**, v. 10, n. 3, p. 149-160, aug. 2007.

GITTO, S. et al. Non-alcoholic steatohepatitis and liver transplantation. **Dig Liver Dis**, mar. 2016. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1590865815303145>>. Acesso em: 01 abr. 2016.

GIORDANO, A; GALDERISI, U; MARINO, I. R. From the laboratory bench to the patient's bedside: An update on clinical trials with mesenchymal stem cells. **J Cell Physiol**, v. 211, n. 11, p. 27–35, apr. 2007.

GOMES, J. A. et al. Corneal reconstruction with tissue-engineered cell sheets composed of human immature dental pulp stem cells. **Invest Ophthalmol Vis Sci**, v. 51, n. 3, p.1408-1414, mar. 2010.

GOODELL, M.A. et al. Isolation and functional properties of murine hematopoietic stem cells that are replicating in vivo. **JExpMed**, v.183, n.4, p. 1797-1806, apr. 1996.

GOVINDASAMY, V. et al. Differentiation of dental pulp stem cells into islet-like aggregates. **J Dent Res.**, v. 90, n.5, p. 646-652, may. 2011.

GUPTA, A. et al. An in vitro comparative evaluation of different intraorifice barriers on the fracture resistance of endodontically treated roots obturated with gutta-percha. **J Conserv Dent**, v. 19, n. 2, p. 111-115, mar-apr. 2016.

GUIMARÃES, E. T. et al. Transplantation of stem cells obtained from murine dental pulp improves pancreatic damage, renal function, and painful diabetic neuropathy in diabetic type 1 mouse model. **Cell Transplant**, v. 22, n. 12, p. 2345-2354, 2013.

GRAZIANO, A. et al. Scaffold's surface geometry significantly affects human stem cell bone tissue engineering. **J Cell Physiol**, v. 214, n.1, p. 166-172, jan.2008.

GRONTHOS, S. et al. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 97, n. 25, p.13625-13630, dec. 2000.

GRONTHOS, S. et al. Stem cell properties of human dental pulp stem cells. **J Dent Res**, v. 81, n. 8, p. 531-535, aug. 2002.

HÁJEK, K. et al. Treatment of chronic myeloid leukemia with autologous transplantation using peripheral blood stem cells or bone marrow cultured in IL-2 followed by IL-2, GM-CSF, and IFN-alpha administration. **Med Oncol**, v. 20, n. 1, p. 69-76. 2003.

HANDA, K. et al. Progenitor cells from dental follicle are able to form cementum matrix in vivo. **Connect Tissue Res**, v. 43, n. 2-3, p. 406-408, 2002.

HANKS, C.T. et al. Cloned 3T6 cell line from CD-1 mouse fetal molar dental papillae. **Connect Tissue Res**, v. 37, n. 3-4, p. 233-249, 1998.

HASEGAWA, M. et al. Human periodontal ligament cell sheets can regenerate periodontal ligament tissue in an athymic rat model. **Tissue Eng**, v. 11, n. 3-4, p. 469-478, mar/apr. 2005

HONDA, J. M.; SHINMURA, Y.; SHINOHARA, Y. Enamel tissue engineering using subcultured enamel organ epithelial cells in combination with dental pulp cells. **Cells Tissues Organs**, v. 189, n. 1-4, p. 261-267, 2009.

HONDA, M.J. et al. Dental follicle stem cells and tissue engineering. **J Oral Sci**, v. 52, n. 4, p. 541-552, dec. 2010.

HU, B. et al. Bone marrow cells can give rise to ameloblast-like cells. **J Dent Res**, v. 85, n. 5, p. 416-421. 2006

HUANG, G. J.; GRONTHOS, S.; SHI, S. Mesenchymal stem cells derived from dental tissues vs. those from other sources: Their biology and role in regenerative medicine. **J Dent Res**, v. 88, n. 9, p.792-806, sep. 2009.

HUANG, G. T. et al. Stem/progenitor cell-mediated de novo regeneration of dental pulp with newly deposited continuous layer of dentin in an in vivo model. **Tissue Eng Part A**, v. 16, n. 2, p. 605–615, feb. 2010.

HUANG, G. T.; AL-HABIB, M.; GAUTHIER, P. Challenges of stem cell-based pulp and dentin regeneration: a clinical perspective. **Endod Topics**, v. 28, n. 1, p. 51-60, mar. 2013.

IKEDA, E. et al. Multipotent cells from the human third molar: Feasibility of cell-based therapy for liver disease. **Differentiation**, v. 76, n. 5, p. 495-505, may. 2008.

IKEDA, E. et al. Fully functional bioengineered tooth replacement as an organ replacement therapy. **Proc Natl AcadSci U S A**, v. 106, n. 32, p. 13475-80, aug 2009.

IOHARA, K. et al. Complete pulp regeneration after pulpectomy by transplantation of CD105+ stem cells with stromal cell-derived factor-1. **Tissue Eng Part A**, v. 17, n. 15-16, p. 1911–1920, aug. 2011.

ISHKITIEV, N. et al. Pancreatic differentiation of human dental pulp CD117+ stem cells. **Regen Med**, v. 8, n. 5, p. 597-612, sep 2013.

ISHKITIEV, N. et al. Novel management of acute or secondary biliary liver conditions using hepatically differentiated human dental pulp cells. **Tissue Eng Part A**, v. 21, n. 3-4, p. 586-593, feb. 2015.

KANAFI, M. M. et al. Transplantation of islet-like cell clusters derived from human dental pulp stem cells restores normoglycemia in diabetic mice. **Cytherapy**, v. 15, n. 10, p. 1228-1236, oct. 2013.

KERKIS, I. et al. Isolation and characterization of a population of immature dental pulp stem cells expressing OCT-4 and other embryonic stem cell markers. **Cells Tissues Organs**, v. 184, n. 3-4, p. 105-116. 2006.

KERKIS, I. et al. Early transplantation of human immature dental pulp stem cells from baby teeth to golden retriever muscular dystrophy (GRMD) dogs: Local or systemic?. **J Transl Med**, v. 6, p. 35, jul. 2008.

KHAN-FAROOQI, H; CHODOSH, J. Autologous Limbal Stem Cell Transplantation: The Progression of Diagnosis and Treatment. **Semin Ophthalmol**, v. 31, n. 1-2, p. 91-98. 2016.

KREBSBACH, H.P.; ROBEY, G. P. Dental and Skeletal Stem Cells: potential cellular therapeutics for craniofacial regeneration. **J Dent Educ**, v. 66, n. 6, p. 766-773, jun. 2002.

KUMAR, P. S. et al. New bacterial species associated with chronic periodontitis. **J Dent Res**, v. 82, n. 5, p. 338-344, May. 2003.

LAINO, G. et al. A new population of human adult dental pulp stem cells: A useful source of living autologous fibrous bone tissue (LAB). **J Bone Miner Res**, v.20,n.8, p. 1394-1402, aug. 2005.

LEE, O.K. et al. Isolation of multipotentmesenchymal stem cells from umbilical cord blood. **Blood**, v.103, n. 5, p.1669–1675, mar.2004.

LEE, J. S. et al. Transdifferentiation of human periodontal ligament stem cells into pancreatic cell lineage. **Cell Biochem Funct**, v. 32, n. 7, p. 605-611, oct. 2014.

LEWIS, J.P. et al. The repopulating potential and differentiation capacity of hematopoietic stem cells from the blood and bone marrow of normal mice. **J Cell Physiol**, v. 71, n. 2, p. 121-132, apr. 1968.

LIN, C. et al. Dental implants with the periodontium: a new approach for the restoration of missing teeth. **Med Hypotheses**, v. 72, n. 1, p. 58-61, Jan. 2009.

LIN, N. H.; GRONTHOS, S.; BARTOLD, P. M. Stem cells and periodontal regeneration. **Aust Dent J**, v. 53, n. 2, p. 108–121, jun. 2008.

LIN, Y. et al. Bioengineered periodontal tissue formed on titanium dental implants. **J Dent Res**, v. 90, n.2, p. 251–256, feb. 2011.

LIU, J. et al. Concise Reviews: Characteristics and PotentialApplications of Human Dental Tissue-DerivedMesenchymal Stem Cells. **Stem Cells**, v. 33, p. 627-638, 2015.

LO, B; PARHAM, L. Ethical issues in stem cell research. **Endocr Res**, v. 30, n. 3, p. 204-213, may. 2009.

MAO, J. J. Stem cells and the future of dental care. **N Y State Dent J**, v.74, n.2, p. 20-24, mar. 2008.

MARCHIONNI, C. et al. Angiogenic potential of human dental pulp stromal (stem) cells. **Int J ImmunopatholPharmacol**, v. 22, n. 3, p. 699-706, jul/sep.2009.

MARYNKA-KALMANI, K. et al. The lamina propria of adult human oral mucosa harbors a novel stem cell population. **Stem Cells**, v.28, n. 5, p. 984-995, may. 2010.

MEAD, B. et al. Intravitreally transplanted dental pulp stem cells promote neuroprotection and axon regeneration of retinal ganglion cells after optic nerve injury. **Invest Ophthalmol Vis Sci**,v. 54, n. 12, p. 7544-7556, nov. 2013.

MITA, T. et al. Conditioned medium from the stem cells of human dental pulp improves cognitive function in a mouse model of Alzheimer's disease. **Behav Brain Res**, v. 293, p. 189-197, oct. 2015.

MIURA, M. et al. SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. **ProcNatlAcadSci USA**,v.100, n. 10, p. 5807-5812, may. 2003.

MONTEIRO, B. et al. Human immature dental pulp stem cells share key characteristic features with limbal stem cells. **Cell Prolif**,v. 42, n. 5, p. 587-594, oct. 2009.

MORSCZECK, C. et al. Isolation of precursor cells (PCs) from human dental follicle of wisdom teeth. **Matrix Biol**, v.24, n. 2, p. 155-165, apr. 2005.

MULLER, S. M; GLOWACKI, J. Age-related decline in the osteogenic potential of human bone marrow cells cultured in three-dimensional collagen sponges. **J Cell Biochem**, v.82, n. 4, p.583-590, 2001.

MURRAY, P. E.; GARCIA-GODOY, F.; HARGREAVES, K.M. Regenerative endodontics: a review of current status and a call for action. **J Endod**, v. 33, n. 4, p. 377-390, feb. 2007.

NAKAO, K. et al. The development of a bioengineered organ germ method. **Nat Methods**, v.4, n. 3, p. 227–230, mar. 2007.

OHAZAMA, A. et al. Stem-cell-based tissue engineering of murine teeth. **J Dent Res**, v. 83, n. 7, p. 518-522, jul. 2004.

OSHIMA, M. et al. Functional tooth regeneration using a bioengineered tooth unit as a mature organ replacement regenerative therapy. **PLoS ONE**, v. 6, n. 7; e21531, jul. 2011.

PARK, Y.J.; CHA, S.; PARK, Y.S. Regenerative Applications Using Tooth Derived Stem Cells in Other Than Tooth Regeneration: A Literature Review. **Stem Cells Int**, 2016. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4699044/> >. Acesso em: 05 fev. 2016.

PATIL, R. et al. Multilineage potential and proteomic profiling of human dental stem cells derived from a single donor. **Exp Cell Res**, v. 320, n. 1, p. 92-107, jan. 2014.

PIERDOMENICO, L. et al. Multipotentmesenchymal stem cells with immunosuppressive activity can be easily isolated from dental pulp. **Transplantation**, v. 80, n. 6, p. 836-842, sep. 2005.

PITTENGER, M.F. et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells, **Science**, v. 284, n. 5411, p.143–147, apr. 1999.

PIVORIUNNAS, A. et al. Proteomic analysis of stromal cells derived from the dental pulp of human exfoliated deciduous teeth. **Stem Cells Dev**, v.19, n. 7, p.1081-1093, jul. 2010.

PLIKUS, M.V. et al. Epithelial stem cells and implications for wound repair. **Semin Cell Dev Biol**, v. 23, n. 9, p. 946–953., dec 2012.

SAITOH, H. et al. Effect of polylactic acid on osteoinduction of demineralized bone: Preliminary study of the usefulness of polylactic

acid as a carrier of bone morphogenetic protein. **J Oral Rehabil**, v. 21, n.4, p. 431–438, jul. 1994.

SAKAI, V. T. et al. SHED differentiate into functional odontoblasts and endothelium. **J Dent Res**, v. 89, n. 8, p. 791–796, 2010.

SAKAI, K. et al. Human dental pulp-derived stem cells promote locomotor recovery after complete transection of the rat spinal cord by multiple neuro-regenerative mechanisms. **J Clin Invest**, v. 122, n. 1, p. 80-90, jan. 2012.

SCHMIDT, M. I. et al. Trends in mortality due to diabetes in Brazil, 1996-2011. **Diabetol Metab Syndr**, v. 7, p. 109, nov. 2015.

SEO, B. M. et al. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. **Lancet**, v. 364, n. 9429, p. 149-155, jul. 2004.

SEO, B. M. et al. SHED repair critical-size calvarial defects in mice. **Oral Dis**, v.14, n. 5, p. 428–434, jul. 2008.

SHINMURA, Y. et al. Quiescent epithelial cell rests of Malassez can differentiate into ameloblast-like cells. **J Cell Physiol**, v. 217, n. 3, p. 728-738, Dec 2008.

SONOYAMA, W. et al. Mesenchymal stem cell-mediated functional tooth regeneration in swine. **PLoS One**, v. 1, p.79, dec. 2006.

SONOYAMA, W. et al. Characterization of the apical papilla and its residing stem cells from human immature permanent teeth: a pilot study. **J Endod**, v. 34, n. 2, p. 166-171, feb. 2008.

SYED-PICARD, F.N. et al. Dental pulp stem cells: a new cellular resource for corneal stromal regeneration. **Stem Cells Transl Med**, v. 4, n. 3, p. 276-285, mar. 2015.

THESLEFF, I.; PARTANEN, A.M.; VAINIO, S. Epithelial-mesenchymal interactions in tooth morphogenesis: the roles of extracellular matrix, growth factors, and cell surface receptors. **J Craniofac Genet Dev Biol**, v. 11, n. 4, p. 229–237, oct-dec. 1991.

THOMSON, J.A. et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. **Science**, v. 282, n. 5391, p. 1145–1147, nov.1998.

TSUMANUMA, Y. et al. Comparison of different tissue-derived stem cell sheets for periodontal regeneration in a canine 1-wall defect model. **Biomaterials**, v. 32, n. 25, p. 5819–5825, sep.2011.

VISSINK, A. et al. Oral sequelae of head and neck radiotherapy. **Crit Rev Oral Biol Med**, v. 14, n. 3, p. 199-212. 2003.

VOLPONI, A.A; SHARPE, P.T.The tooth –a treasure chest of stem cells.**Br Dent J**, v. 215, n. 7, p. 353-358, oct. 2013.

XU, J. et al. Multiple differentiation capacity of STRO-1+/CD146+ PDL mesenchymal progenitor cells. **Stem Cells Dev**,v. 18, n. 3, p. 487-496, apr. 2009.

WADA, N.etal.Immunomodulatory properties of human periodontal ligament stem cells. **J Cell Physiol**, v. 219, n. 3, p. 667–676, jun. 2009.

WANG, J. et al. Stem cells from human-exfoliated deciduous teeth can differentiate into dopaminergic neuron-like cells. **Stem Cells Dev**, v.19, p. 1375-1383, sep. 2010.

WANG, B. et al. Induction of human keratinocytes into enamel-secreting ameloblasts. **Dev Biol**, v. 344, n. 2, p. 795-9, aug 2010.

WEI, F. et al. Functional tooth restoration by allogeneic mesenchymal stem cell-based bio-root regeneration in swine. **Stem Cells Dev**, v. 22, n.12, p.1752-1762, Jun. 2013.

WEISSMAN, I. L. Stem cells: units of development, units of regeneration, and units in evolution. **Cell**,v. 100, n. 1, p.157-168, jan. 2000.

WU, A.M. et al. Evidence for a relationship between mouse hemopoietic stem cells and cells forming colonies in culture. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 59,n. 4, p. 1209-1215, apr. 1968.

YANG, K. C. et al. Tooth Germ-Like Construct Transplantation for Whole-Tooth Regeneration: An In Vivo Study in the Miniature Pig. **Artif Organs**, v. 40, n. 4, p. 39-50 nov. 2015. Disponível em: < <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/aor.12630/abstract;jsessionid=5CCF6977824981D64583E21F4FB53684.f04t04> >. Acesso em: 07 abr. 2016.

YAGYUU, T. et al. Hard tissue-forming potential of stem/progenitor cells in human dental follicle and dental papilla. **Arch Oral Biol**, v. 55, n. 1, p.68-76, jan. 2010.

YAMADA, Y. et al. Promising cell-based therapy for bone regeneration using stem cells from deciduous teeth, dental pulp, and bone marrow. **Cell Transplant**, v. 20, n. 7, p. 1003-1013, 2011.

YAMAZA, T. et al. Immunomodulatory properties of stem cells from human exfoliated deciduous teeth. **Stem Cell Res Ther**, v. 1, n. 1, p. 5, mar. 2010.

YAMAMURA, Y. et al. Treatment of salivary gland hypofunction by transplantation with dental pulp cells. **Arch Oral Biol**, v.58, n.8, p. 935-942, aug. 2013.

YANG, B. et al. Tooth root regeneration using dental follicle cell sheets in combination with a dentin matrix-based scaffold. **Biomaterials**, v. 33, n. 8, p. 2449-2461, mar. 2012.

YANG, R. et al. Clones of Ectopic Stem Cells in the Regeneration of Muscle Defects In Vivo. **PLoS One**, v. 5, n. 10, p. e13547, oct. 2010.

YOKOI, T. et al. Establishment of immortalized dental follicle cells for generating periodontal ligament in vivo. **Cell Tissue Res**, v. 327, n. 2, p.301-311, feb. 2007.

ZHANG, W. et al. Multilineage differentiation potential of stem cells derived from human dental pulp after cryopreservation. **Tissue Eng**, v.12, n.10, p. 2813-2823, oct. 2006.

ZHAO, Y. et al. Fas ligand regulates the immunomodulatory properties of dental pulp stem cells. **J Dent Res**, v. 91, n. 10, p. 948-954, oct. 2012.

ZHENG, Y. et al. Stem cells from deciduous tooth repair mandibular defect in swine. **J Dent Res**, v. 88, n. 3, p. 249-54, mar. 2009.