



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS VIII – PROFESSORA MARIA DA PENHA – ARARUNA
CENTRO DE CIÊNCIAS, TECNOLOGIA E SAÚDE
CURSO DE ODONTOLOGIA**

LUCAS ALMEIDA BARBOSA

**ODONTOLOGIA REGENERATIVA: USO DE CÉLULAS TRONCO DA POLPA
DENTÁRIA NA RECONSTRUÇÃO ÓSSEA**

ARARUNA - PB

2019

LUCAS ALMEIDA BARBOSA

**ODONTOLOGIA REGENERATIVA: USO DE CÉLULAS TRONCO DA POLPA
DENTÁRIA NA RECONSTRUÇÃO ÓSSEA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba, Campus VIII, como requisito parcial à obtenção do título de Cirurgião Dentista.

Área de concentração: Endodontia

Orientadora: Prof.^a Eveline Angélica Lira de Souza Sales Rocha Cordão

ARARUNA - PB

2019

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

B238o Barbosa, Lucas Almeida.
Odontologia regenerativa [manuscrito] : uso de células tronco da polpa dentária na reconstrução óssea / Lucas Almeida Barbosa. - 2019.
41 p. : il. colorido.
Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências, Tecnologia e Saúde, 2019.
"Orientação : Profa. Ma. Eveline Angélica Lira de Souza Sales Rocha Cordão, Coordenação do Curso de Odontologia - CCTS."
1. Odontologia. 2. Célula- tronco. 3. Polpa dentária. I.
Título

21. ed. CDD 617.6

LUCAS ALMEIDA BARBOSA

ODONTOLOGIA REGENERATIVA: USO DE CÉLULAS TRONCO DA POLPA
DENTÁRIA NA RECONSTRUÇÃO ÓSSEA

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Coordenação do Curso de
Odontologia da Universidade Estadual da
Paraíba, Campus VIII, como requisito
parcial à obtenção do título de Cirurgião
Dentista.

Área de concentração: Endodontia

Aprovada em: 18/06/2019

BANCA EXAMINADORA

Eveline S S Rocha Cordão

Prof^ª. Me. Eveline Angélica Lira de Souza Sales Rocha Cordão (Orientadora)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

Amanda Lira Rufino de Lucena

Prof^ª. Me. Amanda Lira Rufino de Lucena
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

Liege Helena Freitas Fernandes

Prof^ª. Me. Liege Helena Freitas Fernandes
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

A minha família, a minha noiva, aos
meus amigos, DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Não importa quais tempestades eu enfrentei e ainda vou lutar, você nunca me deixou sozinho, mesmo quando muitos se foram. Todos meus sonhos você apoiou sem igual, mesmo me sentindo tão pequeno diante da imensidão do mundo você me fez ter fé. Deu-me tudo que eu precisava, às vezes coisas que eu nem merecia, mas você fez coisas que até hoje eu não consigo entender como conseguia. Um dia, se Deus quiser, outras vitórias irão chegar, e sim, ela será nossa, pois com você eu nunca andei sozinho. E como eu quero compartilhar cada momento com você, por todo seu amor e carinho, nossa luta aos longos dos anos nos fortaleceu sem sombra de dúvidas, e Deus há de honrar todas nossas orações, pois nós vamos alcançar lugares bem maiores. Você me tornou um ser humano melhor, me mostrou que eu sou mais do que minhas derrotas, do que minhas falhas. Você me fez levantar e ir, me tornei mais destemido, mais forte, mais fiel, portanto tudo que eu faço é para a gente. Juntos somos completos, e com DEUS somos gigantes. Obrigado mãe.

RESUMO

A partir do desenvolvimento de pesquisas na Bioengenharia, a Odontologia vem ganhando destaque desde o momento da descoberta de células tronco extraídas da polpa dentária (CTPD). As CTPD são consideradas hoje uma excelente fonte pelo fato de serem facilmente obtidas e de maneira minimamente invasiva, além da sua capacidade de diferenciação em diversos tecidos. O objetivo do estudo foi realizar uma revisão atualizada sobre os estudos relacionados ao uso das células-tronco originárias da polpa dentária, considerando o uso na regeneração de tecido ósseo e periodontal, assim como, técnicas de coleta, isolamento e armazenamento. Para isso, foi executada uma pesquisa personalizada realizada nos seguintes bancos de dados; PubMed (PublicMedline), Scientific Eletronic Library Online (SCIELO), Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), com enfoque nos estudos que utilizavam células-tronco da polpa dentaria para regeneração dos tecidos ósseos. A estratégia de busca produziu 410 artigos, dos quais 44 foram elegíveis de acordo com os critérios de inclusão e exclusão predeterminados, apenas artigos completos e publicados em inglês foram incluídos. As CTPD têm como características marcantes a capacidade de proliferação, clonogênica, autorrenovação e diferenciação em diversos tipos celulares como osteoblastos, condrócitos, adipócitos, odontoblastos, células neurais; tornando-se uma alternativa promissora no tratamento de diversos distúrbios e doenças. Podem ser criopreservadas por longos períodos, porém, a coleta e armazenamento devem ser feitos seguindo protocolos confiáveis a fim de preservar suas propriedades. Entretanto, mesmo com a utilização de diversos materiais que estão sendo estudados e analisados, ainda não existe um manejo ideal para seu uso. Pode-se concluir que o uso das CTPD usadas para reparo óssea é considerado um procedimento bem sucedido, embora essas células sejam uma fonte promissora para medicina regenerativa, ela ainda não é capaz de garantir manejo clínico adequado, necessitando de maiores estudos, para o desenvolvimento de protocolos terapêuticos clínicos seguros e de eficácia previsível.

Palavras-chave: Células-tronco. Engenharia tecidual. Polpa dentária. Regeneração óssea.

ABSTRACT

Since the development of research in Bioengineering, Dentistry has been gaining prominence since the discovery of stem cells extracted from the dental pulp (TCDD). TCDC is now considered an excellent source because it is easily obtained in a minimally invasive way, besides its capacity of differentiation in several tissues. The objective of this study was to perform an updated review of the studies related to the use of stem cells originating from the dental pulp, considering the use in the regeneration of bone and periodontal tissue, as well as collection, isolation and storage techniques. To do this, a customized search was performed on the following databases; PubMed (PublicMedline), Scientific Electronic Library Online (SCIELO), Latin American and Caribbean Literature in Health Sciences (LILACS), focusing on studies using stem cells from the dental pulp for regeneration of bone tissues. The search strategy produced 410 articles, of which 44 were eligible according to the predetermined inclusion and exclusion criteria, only full articles and published in English were included. The TCDC has as outstanding characteristics the proliferation, clonogenic, self-renewal and differentiation capacity in several cell types such as osteoblasts, chondrocytes, adipocytes, odontoblasts, neural cells; making it a promising alternative in the treatment of various disorders and diseases. They may be cryopreserved for long periods, however, collection and storage should be done following reliable protocols in order to preserve their properties. However, even with the use of several materials that are being studied and analyzed, there is still no ideal management for its use. It can be concluded that the use of TCDS used for bone repair is considered a successful procedure, although these cells are a promising source for regenerative medicine, it is still not able to guarantee adequate clinical management, requiring further studies for the development safe and predictable efficacy clinical protocols.

Keywords: Stem cells. Tissue engineering. Dental pulp. Bone regeneration.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Métodos de isolamento de CTPD.....	15
Figura 2 –	Diagrama de fluxo.....	22

LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS

Tabela 1 – Lista de estudos.....	23
Gráfico 1 – Análise percentual por estudo.....	31
Tabela 2 – Métodos de avaliação.....	33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CT	Células-tronco
CTPD	Células-tronco originárias da polpa dentária
CTPD-DE	Digestão enzimática do tecido pulpar com células-tronco
CTPD-E	Método do explante de células-tronco originárias da polpa dentária
CTPDD	Células-tronco da polpa de dente decíduo
CTPDP	Células-tronco da polpa de dente permanente

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1	Células tronco do dente humano.....	13
2.2	Método de isolamento de CTPD.....	14
2.3	Armazenamento das CTPD.....	15
2.4	Uso das CTPD.....	17
2.5	Uso das CTPD na reconstrução óssea.....	18
3	METODOLOGIA.....	20
3.1	Caracterização do estudo.....	20
3.2	Coleta de dados.....	20
3.3	Universo.....	20
3.4	Amostra.....	20
3.5	Critérios de seleção da amostra.....	20
3.5.1	<i>Critérios de inclusão.....</i>	20
3.5.2	<i>Critérios de exclusão.....</i>	21
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	22
4.1	Fontes de células tronco.....	29
4.2	Métodos de isolamento.....	29
4.3	Andaime.....	30
4.4	Tipo de estudo.....	31
4.5	Tempo de recuperação.....	32
4.6	Defeito ósseo.....	32
4.7	Método de avaliação.....	33
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	34
	REFERÊNCIAS	35

1 INTRODUÇÃO

A terapia com células-tronco (CT) tem sido um dos assuntos mais discutidos nas últimas décadas pela comunidade científica devido à capacidade destas células indiferenciadas se diferenciarem em células de diversos tecidos. A partir da evolução das pesquisas da Bioengenharia, a Odontologia tem contribuído em um papel bastante importante, na medida em que utilizam polpas dentárias, em especial as de dentes decíduos de humanos, como meio de crescimentos de células-tronco mesenquimais (TAUMATURGO et al., 2016).

As células-tronco originárias da polpa dentária (CTPD) podem ser encontradas em dentes permanentes ou decíduos (FERREIRA, 2018; GOTZ, 2018). A identificação e isolamento de células-tronco da polpa dental adulta foi relatada pela primeira vez por Gronthos et al. (2000).

Inúmeros métodos foram relatados para o isolamento, expansão e preservação/armazenamento de CTPDs. No entanto, as técnicas não seguem regras específicas ou parâmetros. Com isso, podem afetar as propriedades das células-tronco, adicionando mais variação aos resultados experimentais (RODAS-JUNCO et al., 2017).

As CTPD podem ser obtidas em quantidades razoáveis devido à sua grande capacidade de proliferação, diferenciação e autorrenovação (FERREIRA et al., 2018; GOTZ, 2018). Elas são capazes de se diferenciar em osteoblastos, condrócitos, adipócitos, odontoblastos, células neurais, entre outras (ANITUA et al., 2018).

Assim, devido à sua natureza indiferenciada, elas podem ser estimuladas ou programadas para desempenhar funções biológicas específicas. Dessa maneira, são importantes indicações no tratamento de muitas doenças ou em processos regenerativos, (FERREIRA et al., 2018; GOTZ, 2018) inclusive também tem sido relatadas na regeneração óssea (KUNIMATSU et al., 2018).

Tendo em vista a relevância do tema, o objetivo do presente estudo foi realizar uma revisão sobre os estudos relacionados ao uso das células-tronco originárias da polpa dentária, considerando assim a sua utilização na

regeneração de tecido ósseo e periodontal, assim como, técnicas de coleta, isolamento e armazenamento.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Células-tronco do dente humano

O estudo de Gronthos et al. (2000) tem bastante relevância sobre o tema, pois foi o primeiro estudo de CTPD no qual definiu as células-tronco (CT) como células progenitoras capazes de se diferenciar em células de tecidos adultos especializados. Já as outras células do organismo, apresentam como características serem indiferenciadas e não-especializadas, podendo multiplicar-se e manter indiferenciadas por longo período (tanto *in vivo* quanto *in vitro*), de forma que poucas são capazes de originar muitas populações semelhantes e, diante de estímulos específicos, possuem a capacidade de se diferenciar em células maduras e funcionais de um tecido particular (ZHANG et al, 2008).

Atualmente, sabe-se que, além da polpa dentária de dentes decíduos e permanentes, as células tronco podem ser extraídas do ligamento dental, papila apical (BAKHTIAR et al., 2018; KANEKO et al., 2018), células progenitoras de folículo dentário (KANEKO et al., 2018) em região oral e derivadas da medula óssea alveolar, tecido adiposo e cordão umbilical (BAKHTIAR et al., 2018) e células-tronco mesenquimais derivadas de gengiva (RODAS-JUNCO et al., 2017). As diferentes populações celulares diferem em aspectos da sua taxa de crescimento em cultura, perfis de expressão de genes e proteínas e capacidades de diferenciação celular, embora o grau em que estas diferenças possam ser atribuídas a tecidos de origem, função ou condições de cultura permaneça incerto (HAN et al., 2014).

O tecido pulpar humano é uma fonte enriquecida de células estaminais que podem ser localizadas tanto em dentes permanentes como decíduos esfoliados humanos (GONMANEE et al., 2018).

Os estudos de SHI et al. (2000), avaliaram se a polpa dental adulta possuía, assim como a medula óssea, uma população de células-tronco. Isolaram células da polpa de dente humano (terceiro molar) que, comparadas com as células-tronco de medula óssea, apresentaram heterogeneidade,

multipotencialidade, capacidade de proliferação e de formação de *colônias in vitro*.

Três anos após a descoberta das CTPD em dentes permanentes, Miura et al. (2003) isolaram uma população de células tronco a partir do tecido pulpar de dentes decíduos humanos esfoliados (dentes incisivos de crianças entre 7 e 8 anos), usando o protocolo proposto por Gronthos et al. (2000). Concluíram que as células tronco de dentes decíduos exfoliados obtiveram um aumento significativo da potencialidade de proliferação e clonogenicidade quando comparadas as células tronco de dentes permanentes e medula óssea. E ainda, um potencial de diferenciação adipogênica, neurogênica e osteogênica.

Foi percebido que as células tronco de dentes decíduos esfoliados além de serem altamente proliferativas, capazes de autorrenovação e diferenciação de linhagem, crescem mais rapidamente em comparação com as da polpa dentária adulta (AGHAJANI et al., 2018).

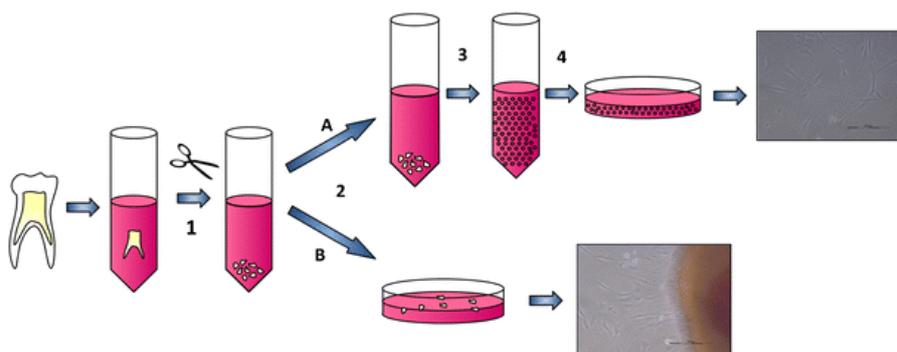
2.2 Métodos de isolamento de CTPD

Para garantir a viabilidade e as características das células-tronco, os processos de coleta e isolamento são críticos e não podem ser realizados de modo simples e rápido em uma clínica odontológica comum (HUYNH et al., 2017), pois é necessário o uso de reagentes e soluções disponíveis (meio de cultura de tecido) para o armazenamento adequado do material (EUBANKS et al., 2014).

As CTPDs podem ser isoladas por digestão enzimática do tecido pulpar (CTPD-DE) ou pelo método do explante (CTPD-E) (figura 1), mantendo o meio de cultura constante em todos os experimentos e em ambos os métodos de isolamento (HILKENS et al., 2013).

A digestão enzimática permite o isolamento de suspensões unicelulares dos tecidos primários por digestão com enzimas como as colagenases tipo I e II, dispase, tripsina e accutase. Por outro lado, o método de explante é mais simples e rápido e consiste em colocar fragmentos de polpa (1-2 mm³ pedaços) diretamente na placa de cultura, para que as células superem os explantes de tecido pulpar (RODAS-JUNCO et al., 2017) .

Figura 1. Métodos de isolamento de CTPDs.



Fonte: Hilkens et al, 2013.

Vários protocolos de digestão podem ser relatados para a dissociação da polpa dentária, mas a combinação de 3 mg / ml de colagenase tipo I e 4 mg / ml de dispase tem sido usada com mais frequência (RODAS-JUNCO et al., 2017).

Hilkens et al. (2013), em seu estudo, compararam CTPD isolados por meio de digestão enzimática e através do método do explante em relação às suas propriedades (taxa de proliferação, formação de colônias e imunofenótipo) e concluíram que ambas se diferenciaram com êxito em tipos de células adipogênicas, condrogênicas e osteogênicas, embora a diferenciação adipogênica de ambas populações de CT tenham sido incompletas.

Um desafio para a terapia celular com CTPD é a degradação potencial do tecido pulpar entre o momento da extração dentária e o isolamento e/ou criopreservação das células, demonstrando que elas podem permanecer viáveis por até 5 dias após a extração. A viabilidade para estoque e expansão dessas células seria melhorada se houvesse uma solução de estocagem prontamente disponível na qual pudessem colocar os dentes até que o isolamento das células-tronco pudesse ocorrer (EUBANKS et al., 2014). Para tanto, de uma forma simples e prática, foi à recomendação do uso de leite pasteurizado fresco para o transporte de dentes devido às suas propriedades antimicrobianas (FERRO et al., 2014).

2.3 Armazenamento das CTPD

A capacidade das CTPD sobreviverem ao armazenamento em longo prazo e manterem seu fenótipo após o descongelamento é essencial para serem utilizadas para futuros fins terapêuticos. A resposta das células-tronco à criopreservação pode incluir uma redução na viabilidade celular devido ao choque frio, sendo assim um protocolo tradicional de congelamento graduado (4 ° C, 1 h; -20 ° C, 2 h; -80°C, durante a noite; -136 ° C, 14 dias) pode ser adotado ao longo dos estudos (DAVIES et al., 2014).

Apesar disso, a cultura dessas células em longo prazo pode resultar em manifestações indesejadas, como instabilidade fenotípica, morte celular, senescência, contaminação. Portanto, há uma necessidade de protocolo de criopreservação adequado para o uso bem-sucedido. O dimetilsulfóxido é um reagente comumente usado para a criopreservação de células, no entanto, deve-se ter controle sobre sua concentração para não ocorrer danos. O resfriamento deve ser lento de um gradiente de temperatura de 0 ° C para nitrogênio líquido e embarcações à base de etanol são outros métodos otimizados para armazenar diferentes tipos de células por vários laboratórios, mas seu custo é bastante elevado (KUMAR et al., 2015).

As CTPDs adultas podem ser isoladas e expandidas em meios sem soro animal ou fatores de crescimento exógenos e, ainda assim, manter potentes propriedades angiogênicas (PIVA et al., 2017; EUBANKS et al., 2014).

As células-tronco primárias isoladas dos tecidos geralmente necessitam de expansão *in vitro* em quantidade suficiente antes de usá-las para regeneração de tecidos ou em outras aplicações clínicas. Sabe-se que estas diminuem seu potencial de diferenciação durante a cultura e proliferação *in vitro*. Com isso, pode-se afirmar que a capacidade de diferenciação das CTPD é reduzida com o tempo quando cultivadas *in vitro* (FLANAGAN et al., 2017).

Dessa forma, é notório que as células-tronco têm condições particulares de cultura que acabam por muitas vezes inviabilizando a facilidade de sua coleta e do seu estudo. Em contrapartida é imensurável a sua capacidade de se diferenciar em células das três camadas germinativas endoderme, mesoderme e ectoderma, que facilitaria os processos de tratamentos em doenças (NÚÑEZ-TOLDRÀ et al., 2017).

2.4 Uso das CTPD

Um dos fatores mais críticos na engenharia de tecidos é a escolha da população de células-tronco ideal a ser empregada para cada uso terapêutico (TAUMATURGO et al., 2016; HAN et al., 2014). Isto depende de diversos fatores como a sua capacidade de proliferação e estabilidade citogenética, suas características fenotípicas e seu potencial de diferenciação (TAUMATURGO et al., 2016).

Sabe-se que, as CTPD são uma fonte promissora na diferenciação de diversos tipos de células, como por exemplo, e osteoblastos, condrócitos, adipócitos, odontoblastos, células neurais, entre outras (KUNIMATSU et al., 2018). Quando utilizadas para regeneração, precisam ser cultivadas para atingir uma quantidade necessária para exercer suas funções (ASATRIAN et al., 2015).

Além da regeneração óssea por meio dos osteoblastos, as CTPD estão sendo base de pesquisas e/ou utilizadas em doenças de imunodeficiência e neurológicas (SEONWOO et al., 2018), transplante em partes do coração (CHONG et al., 2014). Dessa forma, a utilização de CTPD pode auxiliar no tratamento de distúrbios neurodegenerativos, como doença de Parkinson, doença de Alzheimer, acidente vascular cerebral, lesão da medula cervical e lesão no nervo periférico (YOUNG et al., 2013).

Ullah et al. (2017), avaliaram o potencial de regeneração nervosa periférica *in vivo* de CTPDs e células neuronais diferenciadas, de CTPDs e observaram que ambas tem alto potencial para o uso terapêutico desses tipos de lesões.

Martínez-Sarra et al.(2017), afirmaram que as CTPD representam uma ótima estratégia para melhorar o processo de cicatrização de feridas e retardar a degeneração dos músculos distróficos. Observaram que essas células secretaram vários fatores de crescimento envolvidos na angiogênese e deposição de matriz extracelular e melhorou a vascularização em todos os três modelos murinos utilizados, estimulou a reepitelização e melhorou a deposição e organização do colágeno na cicatrização de feridas. Em camundongos distróficos, foi enxertado CTPD no músculo esquelético que resultou na

integração das fibras e vasos musculares. Além disso, o tratamento reduziu a fibrose e o conteúdo de colágeno.

Fernandes et al. (2018) investigaram e obtiveram sucesso com a terapia com CTPD em lesão condral. Esta é uma patologia com alta prevalência, chegando a 63% da população geral e 36% entre os atletas, causando importantes repercussões clínicas e diminuição da qualidade de vida.

A investigação de fontes alternativas para hepatócitos, como por exemplo, através da terapia baseada em células-tronco é de uso promissor em lesões hepáticas crônicas, como hepatite B e C, que ocorre após infecção viral, causada por inflamação e fibrose persistentes e subsequente desenvolvimento de cirrose hepática e hepatoma (CHEN et al., 2018).

As CTPDs têm o potencial de regenerar a dentina e o tecido pulpar dental devido à sua capacidade de diferenciação e propriedades angiogênicas, ou seja, consegue diferenciar em células endoteliais para participarem na formação de uma vasculatura funcional e na sua formação de tecido predeterminado ao longo do tempo. Contudo, acredita-se que outros estudos pré-clínicos devam ser realizados utilizando condições clinicamente aceitáveis para otimizar protocolos na preparação de ensaios clínicos que avaliam a regeneração da polpa mediada por CTPD (PIVA et al., 2017).

Para a endodontia regenerativa tem o objetivo de substituir a polpa necrótica por uma nova polpa e dentina dentro dos sistemas de canais radiculares. Atualmente essa nova alternativa de tratamento já tem sido feita com o uso de CTPD (CAO et al., 2015).

2.5 Uso das CTPD na reconstrução óssea

No contexto das terapias regenerativas, as células-tronco dentárias são uma grande promessa para abordagens de terapia celular em odontologia; estudos já mostraram resultados encorajadores em sua capacidade de regenerar tecidos ósseos e periodontais (EUBANKS et al., 2014).

Ao diferenciar-se em osteoblastos podem promover o reparo e/ou regeneração de defeitos ósseos alveolares, quando injetados, por exemplo, em

regiões defeituosas de mandíbula ou maxila, como também em outras áreas (NGOC TRAN et al., 2017).

Após a perda de dente o próprio organismo desencadeia o processo irreversível de reabsorção óssea, que prossegue mais intensamente nos primeiros seis meses após a extração e continua ao longo dos anos. Ambos déficits horizontais e verticais no osso trazem prejuízo para o paciente, o exemplo da dificuldade aumentada na escolha do tamanho ideal do implante. Esses fatores mostram o potencial regenerativo do uso das CTPD para restaurar os ossos maxilares e mandibulares, que ora serve para preparação laboratorial adicional, incluindo formulação de osso ou outros materiais implantados; ora podem ser usadas na preparação de material fresco no arcabouço, que será aplicado diretamente ao osso (BROZEK et al., 2018)

Além disso, foi avaliado a diferenciação condrogênica das CTPD de dentes decíduos cariados que resultou em uma fonte confiável para reparar defeitos articulares (WERLE et al., 2015) Nuti et al. (2016), afirmaram que a regeneração tecidual da cartilagem através dessas células poderia amplificar o tratamento de osteoartrites graves.

Já há relatos que as CTPD têm sido usadas para regeneração do periodonto, osso alveolar, complexo dentino-pulpar, osso craniofacial, tecido da mucosa, músculo da língua e retorno da função das glândulas salivares (GAO et al., 2016).

Para a regeneração completa e previsível dos tecidos periodontais perdidos devido a trauma ou doença é necessário mais estudos, embora possa haver um grande número de evidências para apoiar o uso de células tronco mesenquimais na regeneração periodontal (HAN et al., 2014).

As CTPD humana apresentam menos preocupações éticas do que células-tronco embrionárias, pois o procedimento de isolamento delas são menos invasivos, (GONMANEE et al., 2018) podendo ser coletadas nos primeiros estágios de vida e armazenadas para uso futuro (TRAN et al., 2015).

Contudo, a viabilidade do transplante de células tronco para os locais de tratamento e o alto custo são algumas limitações para o uso clínico (BAKHHTIAR et al., 2018).

3 METODOLOGIA

3.1 Caracterização do estudo

Esse estudo foi realizado por meio de um levantamento bibliográfico, de caráter descritivo e exploratório nas seguintes bases de dados: PubMed (PublicMedline), Scientific Eletronic Library Online (SCIELO), Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), com enfoque nos estudos que utilizavam células-tronco da polpa dentária para regeneração dos tecidos ósseos.

3.2 Coleta de dados

Para realização desse estudo, foram utilizados a combinação dos seguintes descritores células tronco, engenharia de tecidual, odontologia, polpa dentária, regeneração óssea, sendo feito essas buscas na língua inglesa. O processo de busca dos artigos durou de dezembro de 2018 até março de 2019.

3.3 Universo

No universo desse estudo foi compreendido todos os artigos publicados nas bases de dados PubMed, SciELO, Lilacs, que se enquadre na temática abordada.

3.4 Amostra

Inicialmente os artigos foram pré-selecionados com base no seu título e resumo, e aqueles que não foram considerados apropriados para o enfoque dessa revisão, foram excluídos, e aqueles com potencial de elegibilidade para esse estudo tiveram seus textos lidos por completo.

3.5 Critérios de seleção da amostra

3.5.1 Critério de inclusão

- Os artigos obtidos através da estratégia de busca, que tiveram como temática principal células tronco da polpa dentária na reconstrução óssea;
- Artigos escritos em inglês;
- Texto completo disponível.

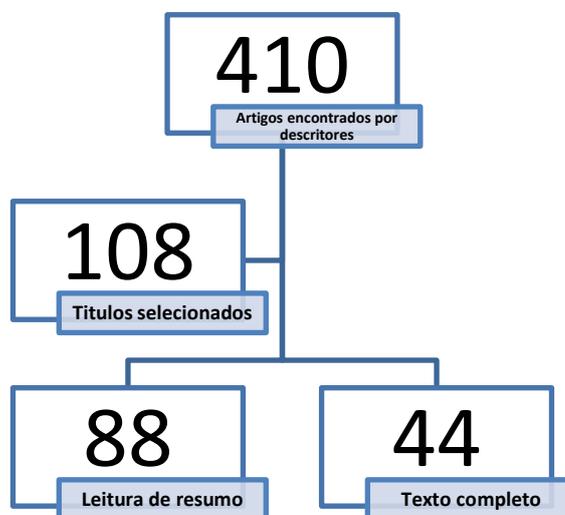
3.5.2 Critérios de exclusão

- Artigos duplicados;
- Artigos que não se enquadravam nos critérios de inclusão.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A estratégia de busca pelos descritores células tronco, engenharia de tecidual, odontologia, polpa dentária, regeneração óssea rendeu 410 citações, das quais 351 foram selecionadas por preencherem os requisitos dos critérios de inclusão. A triagem realizada pela leitura do título e resumos levou à rejeição de 302 artigos. Após a leitura dos resumos completos das publicações restantes foram revisados 88 para possível inclusão. Destes, 44 artigos foram excluídos posteriormente a leitura do texto na íntegra. Obtendo-se, ao final um total de 44 incluídos nesta revisão.

Figura 2: Diagrama de fluxo.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

As informações avaliadas dos estudos selecionados foram: fonte das células-tronco, os métodos de isolamento, andaimes, tipo de estudo, o tempo de recuperação, defeito ósseo e os métodos de avaliação (Tabela 1).

TABELA 1. Lista de estudos

	Autores	Ano	Tipo de estudo	Tipo de andaime	Fonte de célula	Modelo
1	Zhang et al	2018	<i>In vitro</i>		Terceiros molares	
2	Anitua et al	2018	Revisão de literatura			
3	Tatsuihiro et al	2018	<i>In vitro</i>		Terceiro molares	
4	Ferrarotti et al	2018	Ensaio clínico randomizado	Esponja de colágeno	Dentes permanentes	
5	Cristaldi et al	2018	Revisão de literatura			
6	Brozek et al	2018	Revisão de literatura			
7	Aghajani et al	2018	<i>In vitro</i>		Dentes decíduos	
8	Flanagan et al	2018	<i>In vitro</i>		Molares	
9	Junior et al	2018	Revisão sistemática			
10	Fang et al	2017	<i>In vivo</i>	Colágeno tipo I	Dentes decíduos	Ratos
11	Núñez-Toldrà et al	2017	<i>In vitro</i>		Terceiro molares	
12	Wongsupa et al	2017	<i>In vivo</i>	Andaimes 3-D mMSMD PCL-BCP	Terceiro molares	Coelhos
13	Morsczeck et al	2017	Revisão de literatura			
14	Hu et al	2017	Revisão de literatura			
15	Paino et al	2017	<i>In vivo</i>			Ratos
16	Feng et al	2016	<i>In vivo</i>	Solução salina tamponada com fosfato	Terceiros molares	Coelhos
17	Hu et al	2016	<i>In vivo</i>	Folhas CTPD	Terceiro molares	Suínos
18	Jahanbin et al	2016	<i>In vivo</i>	Matriz de colágeno	Molares de dentes decíduos	Ratos
19	Asutay et al	2015	<i>In vivo</i>	Pasta HA / TCP	Terceiros molares	Ratos

20	Petridis et al	2015	<i>In vivo</i>	Andaime de hidrogel à base de HA	Terceiros molares	Ratos
21	Cao et al	2015	<i>In vivo</i>	Andaime HA / TCP	Terceiros molares	Mini porcos
22	Kuo et al	2015	<i>In vivo</i>	β -TCP		Mini porcos
23	Asatrian et al	2015	Revisão de literatura			
24	Kwon et al	2015	<i>In vivo</i>	Arcabouço sem solvente projetado por computador	Terceiros molares	Ratos
25	Niu et al	2014	<i>In vivo</i>	NSC e ISCS	Terceiros molares	Camundongos
26	Xiao et al	2014	Revisão de literatura			
27	Behnia et al	2014	<i>In vivo</i>	Andaime de colágeno	Dentes decíduos	Cães
28	Daltoé et al	2014	Revisão sistemática			
29	Alkaisi et al	2013	<i>In vivo</i>		Dentes decíduos	Coelhos
30	Maraldi et al	2013	<i>In vivo</i>	Andaime de colágeno		Ratos
31	Honda et al	2013	Revisão de literatura			
32	Annibali et al	2013	<i>In vivo</i>	β -TCP, osso bovino	Dentes decíduos e permanentes	Camundongos
33	Riccio et al	2012	<i>In vivo</i>	Andaime de Fibroína		Ratos
34	Kawashima, N	2012	Revisão de literatura			
35	Liu et al	2011	<i>In vivo</i>	rhBMP-2 + nHAC / PL		Coelho
36	Feitosa et al	2010	<i>In vivo</i>			Ovelhas
37	Yamada et al	2010	<i>In vitro</i>		Dentes decíduos e permanentes	
38	Zheng et al	2009	<i>In vivo</i>	HA / TCP	Dentes decíduos	Mini porcos
39	Zhang et al	2008	<i>In vivo</i>	HA / TCP	Terceiros molares	Rato

40	Seo et al	2008	<i>In vivo</i>	HA / TCP	Dentes decíduos	Camundongos
41	De Mendonça Costa et al	2008	<i>In vivo</i>	Membrana de colágeno	Dentes decíduos	Ratos
42	Rosenbaum et al	2008	Revisão de literatura			
43	Laino et al	2005	<i>In vivo</i>	Tecido ósseo	Molares permanentes	Ratos
44	Miura et al	2003	<i>In vivo</i>	Andaime de cerâmica HA / TCP	Incisivos decíduos	Camundongos

	Defeito	Método de isolamento	Método de avaliação	Tempo	Conclusão
1		Digestão enzimática		4 semanas	A capacidade de proliferação das células é importante para aplicação em terapia celular e engenharia de tecidos.
2					
3		Digestão enzimática		7 dias após	CTPD podem ser usadas livres de andaimes.
4	Periodontite crônica	Método do explante	Resultados clínicos e radiográficos	6 e 12 meses	A aplicação de CTPD potencializou os parâmetros de regeneração periodontal.
5					As CTPD apoiados por uma estrutura adequada é uma fonte valiosa para a regeneração óssea.
6					
7		Digestão enzimática		3 semanas	As CTPD tem potencial de diferenciação auxiliando na formação óssea.
8				1 a 2 semanas	Possuem um forte potencial osteogênico.
9					Os estudos relataram resultados positivos quando utilizado CTPD para engenharia de tecido ósseo.

10	Defeitos cranianos	Digestão enzimática	Análise imunocitoquímica	8 semanas	Arcabouço de colágeno e as CTPD promovem regeneração óssea alveolar, e reconstrução crânio facial.
11		Digestão enzimática			A CTPD mostrou alto potencial osteogênico e de adesão, com capacidade de diferenciação.
12	Defeitos de calvária	Método do explante	Histológica e histomorfométrica	2, 4 e 8 semanas	O uso da CTPD melhora a regeneração óssea em defeitos de tamanho crítico.
13					CTPD melhoram o aumento ósseo e a cicatrização da doença periodontal.
14					
15	Defeitos mandibulares	Digestão enzimática	Imunofluorescência e histologia	Após 30 dias de transplante	CTPD exercem capacidade de diferenciação em relação à osteoangiogênese.
16	Defeito ósseo tibial	Digestão enzimática	Histologia e tomografia computadorizada	8 semanas	CTPD modificadas com Runx2 promove a neoformação óssea.
17	Lesões de periodontite criadas	Digestão enzimática	Histológico, clínico e radiográfico	12 semanas	A CTPD pode ser fonte de terapia para regeneração periodontal de ossos.
18	Defeito ósseo alveolar maxilar	Digestão enzimática	Histologia e histomorfometria	1 e 2 meses	CTPD é um recurso para reparar defeitos alveolares constituindo um modelo promissor para a reconstrução em pacientes com fissura de lábio e palato.
19	Defeito na calvaria	Digestão enzimática	Histologia, histomorfometria e tomografia	8 semanas	CTPD pode ser facilmente diferenciada em células ósseas, auxiliando na engenharia óssea.
20	Defeito na calvaria	Método do explante	Histologia e histomorfometria	8 semanas	CTPD promove a consolidação óssea quando transplantada.
21	Defeito ósseo periodontal	Método do explante	Histologia, histomorfometria, avaliação radiológica e clínica	12 semanas	CTPD induz significativa regeneração óssea periodontal.
22	Defeito ósseo mandibular	Células ativadas por fluorescência	Histologia e histomorfometria	8 semanas	CTPD à base de sulfato de cálcio pode melhorar a regeneração óssea.

23					Embora a CTPD seja promissora no potencial de formação óssea, a aplicação clínica exigirá estudos clínicos.
24	Defeitos ósseos cranianos		Tomografia computadorizada (TC) e histologia	4, 8 e 12 semanas	Uso de CTPD mostra evidências de neo-formação óssea no local do defeito.
25	Implantação Subcutânea	Digestão enzimática	Histologia e imuno-histoquímica	8 semanas	Uso de CTPD promove a formação de tecido semelhante ao osso.
26					As CTPD pode ser aplicada em vários campos da medicina regenerativa.
27	Defeito ósseo mandibular		Histologia, avaliação clínica	12 semanas	Com o uso da CTPD, foi observado formação óssea na parte lingual e no assoalho.
28					Uso CTPD é eficaz para aplicações em reparação e regeneração óssea.
29	Defeito ósseo mandibular	Digestão enzimática	Histologia, avaliação radiológica e clínica	2, 4 e 6 semanas	A CTPD pode ser uma escolha para a regeneração óssea craniofacial.
30	Defeito craniano	Células ativadas por fluorescência	Histologia, raios-X, imunohistoquímica e histomorfometria	4 e 8 semanas	CTPD tem capacidade angiogênica, indicando seu potencial regenerativo na reconstrução óssea, proporcionando vascularização do implante.
31					
32	Defeito na calvaria		Histologia e histomorfometria	1, 2, 4 e 8 semanas	Nova formação óssea na área total do defeito.
33	Defeito craniano	Células ativadas por fluorescência	Histologia, Raio-X e imuno-histoquímica	4 semanas	Uso de CTPD é uma abordagem promissora para a reconstrução de grandes defeitos esqueléticos humanos em cirurgia craniofacial.
34					As CTPD transplantadas para áreas de extração foi observada completa regeneração do osso.
35	Defeito ósseo alveolar	Método do explante	Radiografias, histologia e análise histomorfométrica	12 semanas	As CTPD promove a capacidade osteogênica, sendo uma fonte potencial para a regeneração óssea periodontal.

36	Osteonecrose da cabeça femoral		Histologia	4 semanas	CTPD é capaz de proliferar dentro do local da lesão, proporcionando recuperação do tecido ósseo.
37	Defeitos ósseos	Método do explante	Histológica e histomorfométrica	16 semanas	Uso das CTPD para regeneração óssea em implantes dentários é uma alternativa, pois não estimulam a rejeição de enxertos alo gênicos pelo organismo.
38	Defeitos ósseos orofaciais	Digestão enzimática	Imunohistoquímica e tomografia computadorizada	6 meses	CTPDD são capazes de regenerar ossos para reparar defeitos mandibulares de tamanho crítico.
39	Mineralização em implantes subcutâneos		Microscopia eletrônica de varredura e PCR	5 e 10 semanas	Os resultados indicaram que <i>in vitro</i> há crescimento celular e <i>in vivo</i> formação óssea.
40	Defeito ósseo na calvaria	Digestão enzimática	Imunohistoquímica	6 a 8 semanas	CTPDD foram capazes de reparar os defeitos com formação óssea.
41	Defeitos cranianos		Histologia	1, 3, 4 e 8 semanas	CTPD induz nova formação óssea na calvária em defeitos de tamanho crítico.
42					As CTPD podem desempenhar um papel fundamental na regeneração de todos os tecidos.
43	Implantação Subcutânea	Digestão enzimática	Histologia	4 semanas	O tecido recém-formado pelas CTPD constitui uma fonte ideal de osteoblastos.
44	Defeito craniano	Digestão enzimática	Imunohistoquímica histológica, hibridização <i>in situ</i> e RT-PCR	8 semanas	A CTPD induziu a formação de novos ossos ao formar um modelo osteoindutivo para recrutar células.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

4.1 Fontes de células-tronco

Dos artigos selecionados, foram fundamentados em CTDP e CTPDD, as amostras coletadas em estudos de dentes decíduos foram 9 no total sendo esses [7, 10, 18, 27, 29, 38, 40, 41, 44]. Que para a formação de tecido ósseo foi observado entre 3 a 12 semanas após o implante de células tronco de dentes decíduos, independentemente do tipo de andaime. No total de 14 estudos [1, 3, 8, 11, 12, 16, 17, 19, 20, 21, 24, 25, 39, 43] destacaram a eficácia da formação óssea, por meio do uso de células-tronco de dentes permanentes, apresentando aproximadamente entre 7 dias a 12 semanas após cirurgia um desenvolvimento parcial ou completo de tecido ósseo.

Dos estudos utilizando dentes permanentes, em sua grande maioria foram utilizados terceiros molares (n=12) artigos no total. A prevalência do aproveitamento desse dente se dá devido à facilidade do acesso em obtê-lo, pois o número de indicações para extrações é alto, como também na facilidade de aprovação desse dente para estudo por meio do comitê de ética. Dois estudos, [32, 37] constataram as propriedades da competência de diferenciação osteogênica de CTPDD e CTDP. Após análise, destacaram que as células tronco de dentes decíduos apresentam potencial regenerativo, demonstrado que são capazes de desenvolver diferentes tecidos, como osso.

Além disso, obtendo maior desempenho de crescimento celular, como também sua capacidade de osteodiferenciação, é melhor quando comparada com as células tronco de dentes permanentes. A principal vantagem do uso das CTPDDs é que estes podem ser obtidos de forma não invasiva a partir de dentes decíduos que são rotineiramente extraídos em clínicas e geralmente descartados como lixo hospitalar.

Apesar disso, mesmo com as diferenças significativas entre os dois tipos de células, ambas devem ser igualmente consideradas uma boa fonte de regeneração do tecido ósseo.

4.2 Métodos de isolamento

Analisando os métodos de isolamento, na grande maioria dos estudos foram utilizados a digestão enzimática para isolar células-tronco [1, 3, 7, 10, 11,

15, 16, 17, 18, 19, 25, 29, 28, 40, 43, 44]. Três outros estudos aplicaram o isolamento de células ativadas por fluorescência (FACS) [22, 30, 33], seis estudos utilizaram o método de explante [4, 12, 20, 21, 35, 37], nos demais o método não é descrito com precisão. Entre estes métodos de isolamento, a digestão enzimática com colagenase tipo I, é o de maior prevalência.

Embora todos os métodos de isolamento pareçam ter uma eficiência semelhante, o método de digestão enzimática, é o mais usado para coletar CTPD, parece ser a melhor opção, pois permite obter um número maior de colônias de células homogêneas em menor tempo comparado aos outros métodos.

4.3 Andaimos

Diferentes tipos de andaimos foram usados nesses estudos, para gerar a neoformação óssea. De acordo com o tipo de andaime, apenas seis grupos de pesquisa usaram andaimos naturais (membrana de colágeno e esponja) [4, 10, 18, 27, 30, 41], enquanto os outros utilizaram biodegradáveis sintéticos compostos principalmente grânulos de hidroxiapatita / tri-cálcio fosfato (HA / TCP) ou HA / TCP cerâmica [44, 39, 19, 21, 38, 40]. Além disso, um estudo usou o andaime composto apenas por HA [20]. Dois utilizaram andaimos compostos por fosfato de beta-tri-cálcio (β -TCP) [32, 22]. E outros dois estudos utilizaram osso bovino desproteínizado [32, 43]. Os outros tipos de andaimos foram utilizados apenas uma vez.

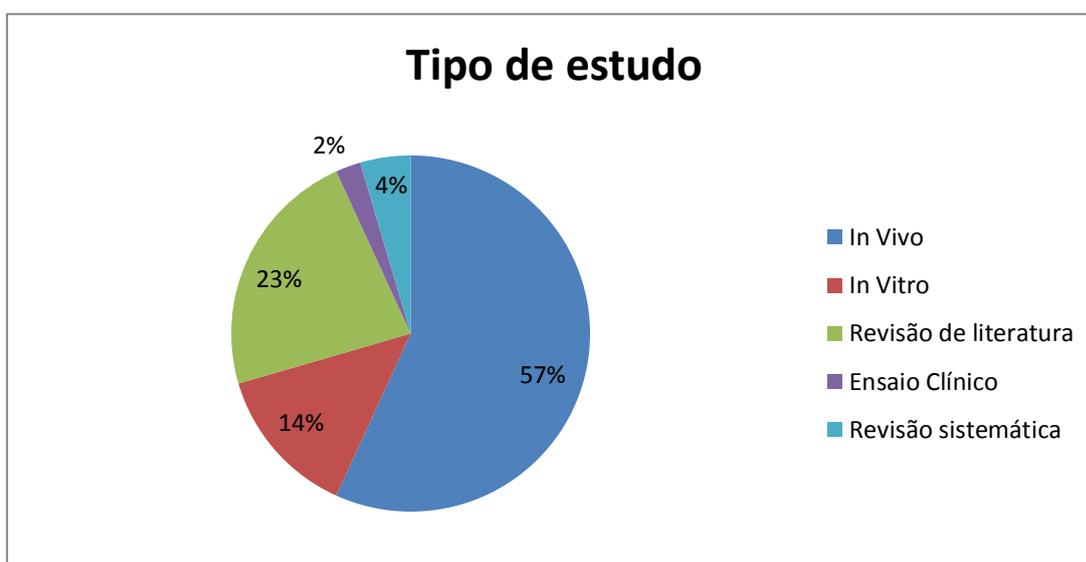
Os biomateriais podem ser sólidos ou líquidos, naturais ou sintéticos. A maioria dos estudos aqui revisados usou sólidos, apenas o [16] usou solução salina tamponada com fosfato (PBS). A vantagem de escolher o andaime sólido ou líquido depende do tipo de defeito e modelo animal usado. Para defeitos ósseos grandes, pode ser mais conveniente usar um suporte sólido para que se consiga a união das extremidades do defeito; dessa forma sendo considerado de maior facilidade a utilização de um andaime líquido em vez de sólido em animais menores. Dessa forma, cada autor utilizou para sua pesquisa o biomaterial de acordo com a necessidade do estudo.

Sendo assim, comparando estratégias experimentais empregando andaimos naturais ou sintéticos, não parece haver qualquer diferença

considerável no resultado, pois ao final do tempo decorrido em cada estudo obteve-se a taxa de osteorregeneração.

4.4 Tipo de estudo

Gráfico 1: Análise percentual por estudo.



Elaborado pelo autor, 2019.

Considerando os modelos usando CTPD e CTPDD para engenharia de tecido ósseo foram realizados *in vivo*, sendo um total de 25. Foram realizados em (camundongos $n = 4$, ratos $n = 11$) [10, 15, 18, 19, 20, 24, 25, 30, 32, 33, 39, 40, 41, 43, 44], quatro em coelhos; [12, 16, 29, 35], quatro em suínos [17, 21, 22, 38], um em cães; [27], um em ovelhas [36]. Em outros seis estudos foram utilizados modelos *in vitro* sendo eles [1, 3, 7, 8, 11, 37]. Dez em revisão de literatura [2, 5, 6, 13, 14, 23, 26, 31, 34, 42], apenas um ensaio clínico randomizado [4], e duas revisões sistemática [9, 28].

É importante notar a alta prevalência de estudos em que o rato e o camundongo foram escolhidos como modelo experimental, podendo ser justificado pelo fator de menor complexidade do pesquisado, por serem de pequeno porte, em contraste com a baixa quantidade de estudos em que um modelo animal com maior similaridade com o osso humano foi escolhido. Vale

ressaltar também, a presença de um único ensaio clínico, permitindo assim a existência de uma lacuna na literatura abordada.

No entanto, o uso de células-tronco ainda é considerado restrito, pois existem limitações em sua utilização para fins clínicos e de pesquisa, e somado a isso, as legislações restritas em atuação sobre o uso de modelos animais, como também em sobre a inscrição de pacientes nesses estudos.

4.5 Tempo de recuperação

Dentre os estudos analisados nesta revisão, na maioria dos casos a neoformação óssea foi avaliada às 4 semanas após implante. No entanto, em outros casos obteve variação de dias até períodos mais tarde como entre 8 a 12 semanas.

O tempo de recuperação a longo prazo também é importante considerar, pois nos estudos foram observado, que alguns autores obtiveram tecido ósseo após 7 dias, outros porém após 8 semanas. A explicação para os diferentes períodos de tempo necessários para concretizar a formação de tecido ósseo está provavelmente no diferente tipo de modelo animal utilizado, como também na sua localização e no tamanho desse defeito. Somado a isso, o processo de cura fisiológica pode mudar de um animal para outro. No entanto, é importante salientar que ao final os estudos mostraram regeneração do tecido ósseo esperada.

4.6 Defeito ósseo

Em um total de 8 estudos, células-tronco dentárias foram transplantadas para reconstrução de defeito ósseo mandibular e maxilar [24, 21, 22, 15, 27, 18, 29, 35]. Outros em defeitos cranianos e de calvaria [10, 12, 19, 20, 24, 30, 32, 33, 40, 41, 44], e defeitos periodontais [4, 17, 21] como também em tibia e fêmur respectivamente [16, 36].

Na grande maioria dos estudos, os autores realizam o transplante das células tronco em defeitos ósseos induzidos [23 , 24 , 29 , 40 , 42 , 45 ,46 , 48 ,56, 58]. Entretanto, independentemente das

estratégias utilizadas, os resultados mostram a diferenciação osteoblástica e a regeneração óssea.

4.7 Método de avaliação

Os métodos mais comuns utilizados para avaliar o potencial de engenharia de tecido ósseo de CTPD foram histologia, imuno-histoquímica e histomorfometria, exames clínicos e de imagens. A histologia foi aplicada para obter resultados em relação à regeneração óssea em 24 dos 44 artigos analisados, [44, 18, 12, 15, 27, 16, 19, 21, 22,24, 25, 27, 29, 30, 32, 33, 35, 36, 37, 41, 40, 17, 42, 43], enquanto a imuno-histoquímica foi utilizada em 7 estudos, [44, 40, 38, 33, 30, 25,10], e histomorfometria foi aplicado em 11 artigos, [32, 30, 35, 37, 29, 18, 19, 22, 21, 20,12]. Outros métodos incluídos imunofluorescência (1 estudo) [15], micro-tomografia computadorizada (5 estudos), [19, 24, 12, 27,16], reação em cadeia da polimerase (1 estudo), [44] e exames radiológicos (11 estudos), [4, 33, 29, 30, 35, 38, 21, 16, 17, 18, 24] e exames clínicos (6 estudos), [4, 29, 21, 12, 27, 17].

Todos os métodos de avaliação trás consigo suas vantagens e desvantagens, e avalia um determinado padrão de estudo, seja o osso propriamente dito através de exames de imagens, ou mesmo a nível celular em histologia. Por esse motivo, grande parte dos autores realizaram diversos métodos para analisar em resultados finais a comprovação da formação óssea, tentando assim a mínima abrangência para um possível viés.

Tabela 2: Métodos de avaliação

Método	Número de artigos
Histologia	24
Imuno-histoquímica	7
Histomorfometria	11
Imunofluorescência	1
Tomografia computadorizada	5
Cadeia da polimerase	1
Exames radiológicos	11
Exames clínicos	6

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A bioengenharia conseguiu alcançar grandes avanços a respeito do cultivo de células-tronco e a Odontologia contribuiu bastante para este fato. As primeiras CT descobertas nos tecidos dentários foram na polpa dentária, pois devido a coleta ser menos invasiva do que as demais e diferenciar-se em vários tipos celulares, tornou-se uma importante fonte. Mesmo assim, a coleta, isolamento e armazenamento requer cuidados importantes para preservar as propriedades das CTPD.

Atualmente já se tem conhecimento do papel promissor da aplicação das CTPD na regeneração óssea de acordo com o resultado dos estudos, porém ainda são necessários ensaios clínicos para verificação dos efeitos terapêuticos em seres humanos.

REFERÊNCIAS

AGHAJANI, F.; KAZEMNEJAD, S.; HOOSHMAND, T.; GHAEMPANAH, Z. ; ZARNANI, A. Evaluation of immuno phenotyping, proliferation and osteogenic differentiation potential of SSEA-4 positive stem cells derived from pulp of deciduous teeth. **Archives of Oral Biology**, v.96, n.1 p.201-207, 2018.

ALKAISI, A.; ISMAIL, A. R.; MUTUM, S. S.; RIFIN, A.Z. A.; MASUDI, S.; RAZAK, N. H. A.. Transplantation of Human Dental Pulp Stem Cells: Enhance Bone Consolidation in Mandibular Distraction Osteogenesis. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v.71, n.10, p.1758 e1–1758.e13, 2013.

ANITUA, E. TROYA, M. ZALDUENDO, M. Progress in the use of dental pulps cells in regenerative medicine. **Cytotherapy**, v.20, n.4, p.479–498, 2018.

ANNIBALI, S. et al. A Comparative Morphometric Analysis of Biodegradable Scaffolds as Carriers for Dental Pulp and Periosteal Stem Cells in a Model of Bone Regeneration. **Journal of Craniofacial Surgery**, v.24, n.3, p.866–871, 2013.

ASATRIAN, G.; PHAM, D.; HARDY, W.R; JAMES, A.W.; PEAULT, B. Stem cell technology for bone regeneration: current status and potential applications Stem Cells. **Stem Cells Cloning**, v.8, p.39–48, 2015.

ASUTAY, F.; POLAT, S.; GÜL, M.; SUBAŞI, C.; KAHRAMAN, S. A.; KARAÖZ, E. The effects of dental pulp stem cells on bone regeneration in rat calvarial defect model: Micro-computed tomography and histomorphometric analysis. **Archives of Oral Biology**, v.60, n.12, p.1729–1735, 2015.

BAKHTIAR, H. et al. The role of stem cell therapy in regeneration of dentine-pulp complex: a systematic review. **Progress in Biomaterials**, p.1-20 , 2018.

BEHNIA, A.; HAGHIGHAT, A.; TALEBI, A.; NOURBAKHSH, N.; HEIDARI, F. Transplantation of stem cells from human exfoliated deciduous teeth for bone regeneration in the dog mandibular defect. **World Journal of Stem Cells**, v.6, n.4, p.505-510, 2014.

BROZEK, R ; KURPISZ, M ; KOCZOROWSKI, R. Application of stem cells in dentistry for bone regeneration. **Journal of physiology and pharmacology**, v.69, n.1, p.23-33, 2018.

CAO, Y. et al. Adenovirus-mediated transfer of hepatocyte growth factor gene to human dental pulp stem cells under good manufacturing practice improves their potential for periodontal regeneration in swine. **Stem Cell Research & Therapy**, v.6, n.1, 2015.

CHEN, G.S. et al. Functional and molecular characterization of transmembrane intracellular pH regulators in human dental pulp stem cells. **Archives of Oral Biology**, v.90, p.19–26, 2018.

CHONG, J. J. H; MURRY, C. E. Cardiac regeneration using pluripotent stem cells—Progression to large animal models. **Stem Cell Research**, v.13, n.3, p.654–665, 2014.

CRISTALDI, M. et al. Dental pulp stem cells for bone tissue engineering: a review of the current literature and a look to the future. **Regenerative Medicine**, v.13, n.2, p.207–218, 2018.

DALTOÉ, F. P.; MENDONÇA, P. P.; MANTESSO, A.; DEBONI, M. C. Z. Can SHED or DPSCs be used to repair/regenerate non-dental tissues? A systematic review of in vivo studies. **Brazilian Oral Research**, v.28, n.1, p.1–7, 2014.

DAVIES, O. G.; SMITH, A. J.; COOPER, P. R.; SHELTON, R. M.; SCHEVEN, B. A. The effects of cryopreservation on cells isolated from adipose, bone marrow and dental pulp tissues. **Cryobiology**, v.69, n.2, p.342–347, 2014.

DE MENDONÇA COSTA, A. et al. Reconstruction of Large Cranial Defects in Nonimmunosuppressed Experimental Design With Human Dental Pulp Stem Cells. **The Journal of Craniofacial Surgery**, v.19, n.1, p.204–210, 2008.

EUBANKS, E. J., TARLE, S. A., KAIGLER, D. Tooth Storage, Dental Pulp Stem Cell Isolation, and Clinical Scale Expansion without Animal Serum. **Journal of Endodontics**, v.40, n.5, p.652–657, 2014.

FANG, T. et al. Osteogenic prospective of deriving human dental stem cells in collagen matrix boost. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v.28, n.12, 2017.

FEITOSA, M. L. T. et al. Successful transplant of mesenchymal stem cells in induced osteonecrosis of the ovine femoral head: preliminary results. **Acta Cirurgica Brasileira**, v.25, n.5, p.416–422, 2010.

FENG, G. et al. Runx2 modified dental pulp stem cells (DPSCs) enhance new bone formation during rapid distraction osteogenesis (DO). **Differentiation**, v.92, n.4, p.195–203, 2016.

FERNANDES, T.L. et al. Development of a Novel Large Animal Model to Evaluate Human Dental Pulp Stem Cells for Articular Cartilage Treatment. **Stem Cell Reviews and Reports**, v.14, n.5, p.734–743, 2018.

FERRAROTTI, F. et al. Human intrabony defect regeneration with micrografts containing dental pulp stem cells: A randomized controlled clinical trial. **Journal of Clinical Periodontology**, v.45, n.7, p.841–850, 2018.

FERREIRA, L. S. et al. Short-term evaluation of photobiomodulation therapy on the proliferation and undifferentiated status of dental pulp stem cells. **Lasers in Medical Science**, v. 33, n. 164, p.1–8, 2018.

FERRO, F.; SPELAT, R.; BAHENEY, C.S. Dental pulp stem cell (DPSC) isolation, characterization, and differentiation. **Methods in Molecular Biology**, p. 91-115, 2014.

FLANAGAN, M.; LI, C.; DIETRICH, M. A. ; RICHARD, M. ; YAO, S. Downregulation of heat shock protein B8 decreases osteogenic differentiation potential of dental pulp stem cells during in vitro proliferation. **Cell Proliferation**, v.51, n.2, 2018.

GAO, Z.H., et al. Bio-root and implant-based restoration as a tooth replacement alternative. **Journal of Dental Research**, v.95, n.6, p. 642-649, 2016.

GONMANEE, T.; THONABULSOMBAT, C.; VONGSAVAN, K.; SRITANAUDOMCHAI, H. Differentiation of stem cells from human deciduous and permanent teeth into spiral ganglion neuron-like cells. **Archives of Oral Biology**, v.88, n.1 p.34-41, 2018.

GÖTZ, M. Revising concepts about adult stem cells. **Science**, v.359, n.6376, p.639–640, 2018.

GRONTHOS, S.; MANKANI, M.; BRAHIM, J.; ROBEY, P.G.; SHI, S. Post natal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.97, n.25, p.13625–13630, 2000.

HAN, J.; MENICANIN, D.; GRONTHOS, S.; BARTOLD, P. Stem cells, tissue engineering and periodontal regeneration. **Australian Dental Journal**, v.59, p.117-130, 2014.

HILKENS, P. et al. Effect of isolation methodology on stem cell properties and multilineage differentiation potential of human dental pulp stem cells. **Cell and Tissue Research**, v.353, n.1, p. 65-78, 2013.

HONDA, M. J. et al. Mesenchymal Dental Stem Cells for Tissue Regeneration. **The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants**, v.28, n.6, p.451–460, 2013.

HU, J. et al. Periodontal regeneration in swine after cell injection and cell sheet transplantation of human dental pulp stem cells following good manufacturing practice. **Stem Cell Research & Therapy**, v.7, n.1, 2016.

HU, L; LIU, Y; WANG, S. Stem cell-based tooth and periodontal regeneration. **Oral Diseases**, v.24, n.5, p.696–705, 2017.

HUYNH, N. C.N.; LE, S. H.; DOAN, V. N., NGO, L. T. Q.; TRAN, H. L. B. Simplified conditions for storing and cryopreservation of dental pulp stem cells. **Archives of Oral Biology**, v.84, p.74-81, 2017.

JAHANBIN, A. et al. Success of Maxillary Alveolar Defect Repair in Rats Using Osteoblast-Differentiated Human Deciduous Dental Pulp Stem Cells. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v.74, n.4, p.829, 2016.

LEYENDECKER J. A.; GOMES P. C. C.; LAZZARETTI F. T.; FRANCO B.D. The use of human dental pulp stem cells for in vivo bone tissue engineering: A systematic review. **Journal of Tissue Engineering**, v.9, p.204173141775276, 2018.

KANEKO, T. et al. Dental Pulp Tissue Engineering Using Mesenchymal Stem Cells: a Review with a Protocol. **Stem Cell Reviews and Reports**, v.14, n.5, p.668-676, 2018.

KAWASHIMA, N. Characterisation of dental pulp stem cells: A new horizon for tissue regeneration? **Archives of Oral Biology**, v.57, n.11, p.1439–1458, 2012.

KUMAR, A., BHATTACHARYYA, S., & RATTAN, V. Effect of uncontrolled freezing on biological characteristics of human dental pulp stem cells. **Cell and Tissue Banking**, v.16, n.4, p.513–522, 2015.

KUNIMATSU, R. et al. Comparative characterization of stem cells from human exfoliated deciduous teeth, dental pulp, and bone marrow derived mesenchymal stem cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.501, n.1, p.193-198, 2018.

KUO, T.F.; LEE, S.Y.; WU, HONG, D.; POMA, M.; WU, Y.W.; YANG, J.C. An in vivo swine study for xeno-grafts of calcium sulfate-based bone grafts with human dental pulp stem cells. **Materials Science & Engineering C**, v.50, p.19-23, 2015.

LAINO, G. et al. A New Population of Human Adult Dental Pulp Stem Cells: A Useful Source of Living Autologous Fibrous Bone Tissue (LAB). **Journal of Bone and Mineral Research**, v.20, n.8, p.1394–1402, 2005.

LIU, H.C. et al. Reconstruction of Alveolar Bone Defects Using Bone Morphogenetic Protein 2 Mediated Rabbit Dental Pulp Stem Cells Seeded on Nano-Hydroxyapatite/Collagen/Poly(L-lactide). **Tissue Engineering Part A**, v.17, n.19-20, p.2417–2433, 2011.

MARALDI, T. et al. Human amniotic fluid-derived and dental pulp-derived stem cells seeded into collagen scaffold repair critical-size bone defects promoting vascularization. **Stem Cell Research & Therapy**, v.4, n.3, p.53, 2013.

MARTÍNEZ-SARRA. E. et al. Human dental pulp pluripotent-like stem cells promote wound healing and muscle regeneration. **Stem Cell Research & Therapy**, v.8, n.1, p.1-20, 2017.

Miura, M. et al. SHED: Stem cells from human exfoliated deciduous teeth. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.100, n.10, p.5807–5812, 2003.

MORSCZECK, C. REICHERT, T. E. Dental stem cells in tooth regeneration and repair in the future. **Expert Opinion on Biological Therapy**, v.18, n.2, p.187–196, 2017.

NGOC TRAN, T. D. et al. Transient receptor potential melastatin 4 channel is required for rat dental pulp stem cell proliferation and survival. **Cell Proliferation**, v.50, n.5, p. 12360, 2017.

NIU, L. et al. Intrafibrillar-silicified collagen scaffolds enhance the osteogenic capacity of human dental pulp stem cells. **Journal of Dentistry**, v.42, n.7, p.839–849, 2014.

NÚÑEZ-TOLDRÀ, R. et al. Dental pulp pluripotent-like stem cells (DPPSC), a new stem cell population with chromosomal stability and osteogenic capacity for biomaterials evaluation. **BMC Cell Biology**, v.18, n.1, p.21, 2017.

NUTI, N.; CORALLO, C.; CHAN, B. M. F.; FERRARI, M.; GERAMI-NAINI, B. Multipotent Differentiation of Human Dental Pulp Stem Cells: a Literature Review. **Stem Cell Reviews and Reports**, v.12, n.5, p.511–523, 2016.

PAINO, F. et al. Human DPSCs fabricate vascularized woven bone tissue: a new tool in bone tissue engineering. **Clinical Science**, v.131, n.8, p.699–713, 2017.

PETRIDIS, X.; DIAMANTI, E.; TRIGAS, G. C.; KALYVAS, D.; KITRAKI, E. Bone regeneration in critical-size calvarial defects using human dental pulp cells in an extracellular matrix-based scaffold. **Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery**, v.43, n.4, p.483–490, 2015.

PIVA, E. et al. Dental Pulp Tissue Regeneration Using Dental Pulp Stem Cells Isolated and Expanded in Human Serum. **Journal of Endodontics**, v.43, n.4, p.568–574, 2017.

RICCIO, M. et al. Fibroin Scaffold Repairs Critical-Size Bone Defects In Vivo Supported by Human Amniotic Fluid and Dental Pulp Stem Cells. **Tissue Engineering Part A**, v.18, n.9-10, p.1006–1013, 2012.

RODAS-JUNCO, B. A., VILLICAÑA, C. Dental pulp stem cells: current advances in isolation, expansion and preservation. **Tissue Engineering and Regenerative Medicine**, v.14, n.4, p.333-347, 2017.

ROSENBAUM, A. J; GRANDE, D. A; DINES, J. S. The use of mesenchymal stem cells in tissue engineering. **Organogenesis**, v.4, n.1, p.23–27, 2008.

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

SEONWOO, H. et al. Neurogenic Differentiation of Human Dental Pulp Stem Cells on Graphene-Polycaprolactone Hybrid Nanofibers. **Nanomaterials**, v.8, n.7, p.554, 2018.

SHI, S.; BARTOLD, P.; MIURA, M.; SEO, B.; ROBEY, P.; GRONTHOS, S. The efficacy of mesenchymal stem cells to regenerate and repair dental structures. **Orthodontics and Craniofacial Research**, v.8,n.3, p.191–199, 2005.

TATSUHIRO, F.; SEIKO, T.; YUSUKE, T.; REIKO, T.T.; KAZUHITO, S. Dental Pulp Stem Cell-Derived, Scaffold-Free Constructs for Bone Regeneratio. **International journal of molecular sciences**, v.19, n.7, 2018.

TAUMATURGO, V.M; VASQUES, E.F.L, FIGUEIREDO, V.M.G. A importância da odontologia nas pesquisas em células-tronco. **Revista Bahiana de Odontologia**, v.7, n.2, p.166-171, 2016.

TRAN, H.L.B; DOAN, V.N.Human dental pulp stem cells cultured onto dentin derived scaffold can regenerate dentin-like tissue in vivo. **Cell and Tissue Banking**, v.16, n.4, p.559-568, 2015.

ULLAH, I., et al. Transplantation of Human Dental Pulp-Derived Stem Cells or Differentiated Neuronal Cells from Human Dental Pulp-Derived Stem Cells Identically Enhances Regeneration of the Injured Peripheral Nerve. **Stem Cells and Development**, v.26, n.17, p.1247-1257, 2017.

WERLE, S. B. et al. Carious deciduous teeth are a potential source for dental pulp stem cells. **Clinical Oral Investigations**, v.20, n.1, p.75–81, 2015.

WONGSUPA, N.; NUNTANARANONT, T.; KAMOLMATTAYAKUL, S.; THUAKSUBAN, N. Assessment of bone regeneration of a tissue-engineered bone complex using human dental pulp stem cells/poly(ϵ -caprolactone)-biphasic calcium phosphate scaffold constructs in rabbit calvarial defects. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v.28, n.5, p.1-14, 2017.

XIAO, L; NASU, M. From regenerative dentistry to regenerative medicine: progress, challenges, and potential applications of oral stem cells. **Stem Cells and Cloning: Advances and Applications**, v.7, p.89-99, 2014.

YAMADA, Y. et al. A Feasibility of Useful Cell-Based Therapy by Bone Regeneration with Deciduous Tooth Stem Cells, Dental Pulp Stem Cells, or Bone-Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells for Clinical Study Using Tissue Engineering Technology. **Tissue Engineering Part A**, v.16, n.6, p.1891–1900, 2010.

YEON KWON, D. et al. A computer-designed scaffold for bone regeneration within cranial defect using human dental pulp stem cells. **Scientific Reports**, v.5, n.1, 2015.

YOUNG, F; SLOAN, A; SONG, B. Dental pulp stem cells and their potential roles in central nervous system regeneration and repair. **Journal of Neuroscience Research**, v.91, n.11, p.1383-1393, 2013.

ZHANG, W. et al. Hard tissue formation in a porous HA/TCP ceramic scaffold loaded with stromal cells derived from dental pulp and bone marrow. **Tissue Engineering Part A**, v.14, n.2, p.285-294, 2008.

ZHANG, Y. et al. An In Vitro Comparative Study of Multisource Derived Mesenchymal Stem Cells for Bone Tissue Engineering. **Stem Cells and Development**, v.27, n.23, p.1634-1645, 2018.

ZHENG, Y. et al. Stem Cells from Deciduous Tooth Repair Mandibular Defect in Swine. **Journal of Dental Research**, v.88, n.3, p.249–254, 2009.