

U. PORTO



**FACULDADE DE
MEDICINA DENTÁRIA
UNIVERSIDADE DO PORTO**

POTENCIAL TERAPÊUTICO DAS CÉLULAS ESTAMINAIS NA REGENERAÇÃO DENTÁRIA

SOFIA MANUELA CUNHA MONTEIRO

ARTIGO REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

DA UNIVERSIDADE DO PORTO

Porto, 2015

POTENCIAL TERAPÊUTICO DAS CÉLULAS ESTAMINAIS NA REGENERAÇÃO DENTÁRIA

Dissertação de Investigação do Programa de Mestrado Integrado em Medicina
Dentária apresentado à Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto

Orientador

João Miguel Silva e Costa Rodrigues

(Professor Auxiliar Convidado com Agregação da Faculdade de Medicina
Dentária da Universidade do Porto)

Co-orientador

Pedro de Sousa Gomes

(Professor Auxiliar da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do
Porto)

Sofia Manuela Cunha Monteiro

Porto, 2015

AGRADECIMENTOS

A toda a minha família, que de uma forma ou de outra contribuíram para a pessoa que me tornei hoje, obrigado! Em especial à minha mãe, que aturou as minhas birras e mau humor devido ao cansaço, assim como à minha tia, que me ensinaram que quando queremos muito uma coisa ela acontece. Ao meu pai por me ter ensinado que apenas com trabalho e dedicação conseguimos atingir os nossos objetivos.

Ao Rui por ser a pessoa maravilhosa e paciente que é. Pelo “-Vai dar!”. Pelo “ -Eu não te disse?”. Pela força e motivação nesta fase. Por me mostrar que com amor tudo se faz.

À Mariana, por ouvir os meus lamentos e justificá-los um por um até à exaustão mesmo quando não há justificação possível, assim como à Ana, à Flávia, à Carla e à Mónica, por me fazerem sentir todos os dias que a amizade é o bem mais precioso que possuímos.

Ao Paulo e ao Tiago pela típica pergunta: “ Então já acabaste o curso?” ou “ É este ano que acabas o curso” ou “ Quando é que és dentista?”. Ao Tiago por me por muitas vezes os pés assentes na terra.

Às Levadas da Broca por me terem feito crescer tanto, a tantos níveis. Por me fazerem revelar características que nem eu sabia que tinha. Por se terem tornado na melhor companhia que eu podia ter desejado nestes 6 anos.

À Bea e à Lee, por me terem acolhido da forma que acolheram. À Maria por ter sido companheira de batalha. À Raquel, à Inês, à Baltazar, à Sandra, à Amandina e à Lígia, por tantas vezes me fazerem sentir especial.

À casa de Medicina Dentária, que me permitiu conhecer pessoas que de certeza vou levar para a vida. Que me ensinou a palavra desenrascar no seu verdadeiro sentido.

Ao meu orientador, Professor João Rodrigues, assim como ao meu co-orientador, Professor Pedro Gomes, pela ajuda, empenho e profissionalismo demonstrado, que me permitiu obter resultados.

*“Recomeça...Se puderes,
Sem angústia e sem pressa.
E os passos que deres,
Nesse caminho duro, do futuro,
Dá-os em liberdade.
Enquanto não alcances, não descanses.
De nenhum fruto queiras só metade.”*

Miguel Torga, Diário III

RESUMO

Na última década, a engenharia dos tecidos sofreu uma enorme expansão. As células estaminais, como por exemplo as células estaminais mesenquimatosas dentárias, de fácil acesso para os médicos dentistas e cirurgiões orais, possuem propriedades imunossupressoras, elevada capacidade proliferativa e possibilidade de se diferenciarem em odontoblastos, cementoblastos, osteoblastos e outras células envolvidas na morfogênese da estrutura dentária, o que supõe uma utilização prospectiva no futuro clínico da medicina dentária regenerativa.

No entanto, para a sua utilização clínica prospectiva, é necessário o conhecimento, não só dos mecanismos associados à proliferação e diferenciação das células estaminais dentárias, mas também aos fatores de crescimento e às biomoléculas sinalizadoras implicadas no desenvolvimento e regeneração de diferentes estruturas. Além disso é necessário um *scaffold* especializado que facilite a integração, diferenciação e a síntese de uma matriz, de forma a promover múltiplas interações específicas entre as células.

Nesta revisão bibliográfica, será descrito, brevemente, o desenvolvimento e a estrutura dentária, os conceitos fundamentais do metabolismo das células estaminais, focalizando nas células estaminais mesenquimatosas por serem as mais utilizadas na terapia celular.

A nível da engenharia dos tecidos será abordada uma visão geral dos diferentes tipos de células estaminais dentárias, como as células estaminais da polpa dentária, de dentes decíduos, do ligamento periodontal, assim como os fatores de crescimento e os suportes implicados à regeneração tecidual.

PALAVRAS-CHAVE

“Células e Terapia Tecidual”, “Células Estaminais Dentárias”, “Células Estaminais em Medicina Dentária”, “Polpa Dentária”, “ Medicina Dentária Regenerativa”, “Células Estaminais em Medicina”.

ABSTRACT

In the last decade tissue engineering has suffered a huge expansion. Stem cells, such as dental mesenchymal stem cells, of easy access to dentists and oral surgeons, have immunosuppressive properties, high proliferative capacity and can differ concerning odontoblasts, cementoblasts, osteoblasts and other cells which are involved in the dental piece. This may give a remarkable contribution to clinical dentistry future.

However, it is necessary to understand quite well not only the mechanisms associated with dental stem cells but also to growth factors and signaling biomolecules involved in the development and regeneration of different structures. Besides, a skilful scaffold is required to enable the integration, the difference and the synthesis of an array, in order to promote specific interactions among multiple cells.

In this literature review, I intend to write a brief description of the development and tooth structure, as well as stem cells, giving special emphasis to mesenchymal stem cells since they're the most used in cell therapy.

Concerning tissue engineering, I will point out the different types of dental stem cells, such as dental pulp stem cells, deciduous teeth, periodontal bond as well as growth factors and substrates involved in tissue regeneration.

KEYWORDS

“Cell and Tissue-based Therapy”, “Dental Stem Cells”, “Stem Cells in Dentistry”, “Dental Pulp”, “Regenerative Dentistry”, “Stem Cells in Medicine”.

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS.....	- 2 -
RESUMO.....	- 3 -
PALAVRAS-CHAVE.....	- 3 -
ABSTRACT.....	- 4 -
KEYWORDS.....	- 4 -
ÍNDICE.....	- 5 -
ABREVIATURAS E SIGLAS.....	- 6 -
INTRODUÇÃO.....	- 7 -
MATERIAIS E MÉTODOS.....	- 9 -
ESTRUTURA E DIFERENCIAÇÃO DENTÁRIA.....	- 10 -
CÉLULAS ESTAMINAIS.....	- 13 -
CÉLULAS ESTAMINAIS DENTÁRIAS.....	- 15 -
REGENERAÇÃO DO COMPLEXO DENTINO-PULPAR.....	- 19 -
REGENERAÇÃO DO LIGAMENTO PERIODONTAL.....	- 21 -
BIOENGENHARIA DOS TECIDOS.....	- 19 -
SCAFFOLDS.....	- 24 -
DESAFIOS/ PERSPETIVAS FUTURAS.....	- 26 -
CONCLUSÃO.....	- 27 -
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	- 28 -

ABREVIATURAS E SIGLAS

ESC: Embryonic Stem Cells

iPS: induced Pluripotent Stem Cells

MSCs: Mesenchymal Stem Cells

DPSCs: Dental Pulp Stem Cells

SHED: Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous Teeth

PDLSCs: Periodontal Ligament Stem Cells

DFSCs: Dental Follicle Stem Cells

TGPCs: Tooth Germ Progenitor Cells

SCAP: Stem Cells Apical Papilla

DPC: Direct Pulp Capping

BMP: Bone Morphogenetic Protein

PLG: Poly-Lactide/Glicóide

PLLA: Poly(L-lactic acid)

PGA: Poliglicóide Acid

B-TCP: β -tricalcium phosphate

PLGA: Poly (Lactic-Co-Glycolic Acid)

HA: Hydroxyapatite

DSP: Denti Sialoprotein

PCL: Poly ϵ -caprolactone

PEG: Polyethylene oxide or Polyoxyethylene

INTRODUÇÃO

Atualmente, o grande objetivo da medicina regenerativa assenta no desenvolvimento de terapias que restaurem a perda, danos e envelhecimento dos tecidos (1). Assim, as células estaminais têm sido alvo de estudo em várias áreas das Ciências da Saúde durante as últimas décadas, devido essencialmente ao potencial que as mesmas apresentam ao nível da regeneração. Estas células possuem duas características fundamentais: capacidade de se renovarem indefinidamente num estado indiferenciado e a possibilidade de se diferenciarem num ou mais tipos de células especializadas [Figura 1] (2).

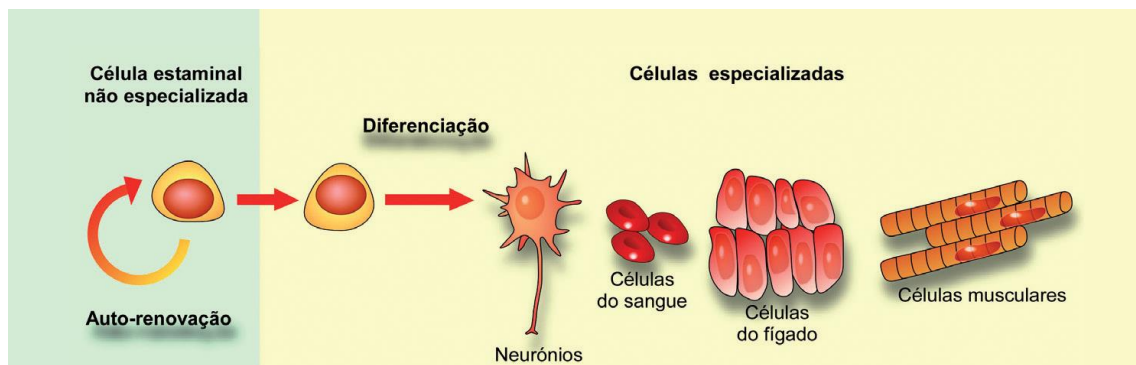


Figura 1: Propriedades das células estaminais: auto-renovação indefinida e diferenciação em populações especializadas (2).

Devido aos avanços da bioengenharia, à descodificação do genoma humano, e aos avanços na compreensão da regulação molecular na morfogénese dentária, acredita-se que no futuro a regeneração dentária com células estaminais poderá ser possível em humanos (1,2). Vários estudos têm também demonstrado que a conjugação de biomateriais e células estaminais geram novas oportunidades e terapêuticas funcionais na área da medicina regenerativa, uma vez que o risco de rejeição é minimizado (2,3).

Muitos trabalhos de investigação têm sido realizados abordando a diferenciação de células estaminais presentes em estruturas dentárias (e.g., polpa, ligamento periodontal, entre outros) noutras populações celulares, de forma a tratar patologias como doenças degenerativas e auto-imunes, entre outras (2,4). Menos abordada tem sido a perspetiva de utilizar células estaminais provenientes de diversas origens na regeneração de tecidos dentários.

Para restaurar o dano tecidular é essencial compreender como funciona o mecanismo de reparação/ regeneração, e posteriormente reproduzi-lo (5). A cárie dentária e a doença periodontal são os motivos mais comuns que levam à perda dentária. Para substituir ou regenerar os tecidos, vários tipos de células estaminais foram identificadas, incluindo células isoladas de tecidos embrionários e de tecidos adultos (2,4).

Além das células estaminais é necessário um microambiente definido e controlado, para favorecer o processo regenerativo. Fatores parácrinos que medeiam a formação vascular, fatores de crescimento, moléculas bioativas e *scaffolds* sintéticos ou naturais são necessários para fornecer condições de morfogênese e amadurecimento, orientando a formação dos tecidos dentários (1,2,6,7).

O objetivo desta revisão bibliográfica é, portanto, discutir as propriedades regenerativas e imunomoduladoras das células estaminais, assim como as suas aplicações na regeneração de tecidos orais. Ir-se-á também avaliar as abordagens efetuadas e os resultados obtidos, assim como o potencial e as limitações deste tipo de tratamentos regenerativos, nomeadamente a possibilidade da utilização em contexto clínico. Por último, irão ser abordadas as perspetivas futuras e os desafios que este tipo de terapêutica apresenta.

MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa bibliográfica efetuada para a elaboração desta monografia teve como base artigos fidedignos e atuais. Assim, recorreu-se à base de dados PubMed utilizando os seguintes termos Mesh: “cell and tissue-based therapy”, “dental stem cells”, “stem cells in dentistry”, “dental pulp”, “regenerative dentistry”, “stem cells in medicine”.

Foi colocado como limite publicações dos últimos 10 anos, ou seja de 2005 a 2015 e as línguas escolhidas foram português e inglês. O limite temporal curto deveu-se ao facto de este tema ser relativamente recente e a informação mais pertinente ter sido publicada na última década. Foram também selecionados apenas artigos relacionados com a espécie humana. No universo dos artigos encontrados, num total de 195 artigos, foram utilizados 41 [Tabela 1].

TERMOS MESH	Nº DE ARTIGOS	Nº ARTIGOS ELEITOS	EXCLUÍDOS	INCLUÍDOS
CELL AND TISSUE-BASED THERAPY + DENTISTRY	22	5	ARTIGOS PAGOS ARTIGOS QUE APENAS ABORDAVAM A PARTE DA ENGENHARIA	ARTIGOS QUE RELACIONAVAM A TERAPIA TECIDULAR NA MEDICINA DENTÁRIA
DENTISTRY + STEM CELLS	29	15	ARTIGOS PAGOS ARTIGOS QUE FALAVAM APENAS EM TECIDOS PERIODONTAIS	ARTIGOS QUE EXPLICAVAM A UTILIZAÇÃO E A IMPORTÂNCIA DE CÉLULAS ESTAMINAIS NA MEDICINA DENTÁRIA
STEM CELLS + DENTAL PULP	141	18	ARTIGOS PAGOS NAO REFERIAM A PARTE REGENERATIVA RESULTADOS REPETIDOS COM AS PESQUISAS ANTERIORES	ARTIGOS QUE REFERIAM REGENERAÇÃO DENTÁRIA ARTIGOS QUE EXPLICAVAM A VARIEDADE DE CÉLULAS ESTAMINAIS DA POLPA DENTÁRIA
DENTISTRY + REGENERATIVE MEDICINE + STEM CELLS	3	3	-	TODOS OS ARTIGOS FORAM INCLUÍDOS PORQUE ABORDAVAM A PARTE REGENERATIVA COM CÉLULAS ESTAMIANASIS EM MEDICINA DENTÁRIA

Tabela 1- Estratégia utilizada na seleção dos artigos através de pesquisa electrónica na base de dados Pub-med entre 2005 e 2015, em humanos

ESTRUTURA E DIFERENCIAÇÃO DENTÁRIA

A odontogênese é um processo contínuo que pode ser dividido em diversas fases: fase de iniciação, broto dentário, capuz, campânula, e fase de aposição e maturação [Figura 2] (8).

Durante o desenvolvimento dentário ocorrem diversos processos de iniciação, proliferação, diferenciação, morfogênese e maturação celular (9,10).

A **fase de iniciação** é caracterizada por um fenômeno de indução: uma interação entre tecidos embrionários em que os tecidos mesenquimatosos influenciam os tecidos da ectoderme para que a odontogênese seja iniciada. Numa localização mais profunda, em relação ao epitélio oral em formação, localiza-se o mesênquima, que é influenciado por células da crista neural que migraram para este local. O epitélio oral e o mesênquima são separados por uma importante estrutura acelular, a membrana basal. Na sétima semana de desenvolvimento, o epitélio oral invade o mesênquima e inicia a produção da lâmina dentária. Esta estrutura forma, inicialmente, a linha média de ambas as arcadas dentárias (8,11).

A **fase do broto dentário** é assinalada pela extensa proliferação da lâmina dentária em brotos ou massas ovais, penetrando o mesênquima. Este também sofre proliferação, sendo que se mantém uma membrana basal entre o broto e o mesênquima em crescimento. Cada broto da lâmina dentária, juntamente com o mesênquima circundante, origina um gérmen dentário e os tecidos de suporte a ele associados. Por conseguinte, todos os dentes e tecidos relacionados têm origem na ectoderme e no mesênquima, com influência das células da crista neural (8,11).

Na **fase de capuz**, o fenômeno predominante é a morfogênese. Da interação dos processos referidos resulta uma depressão na região mais profunda de cada broto da lâmina dentária, formando o órgão de esmalte, que deriva da ectoderme e é o responsável pela produção de esmalte. Uma porção do mesênquima, no broto, condensa-se numa massa dentro da concavidade do órgão de esmalte, originando a papila dentária. A membrana basal permanece entre o órgão de esmalte e a papila dentária, dando origem à junção amelo-dentinária. O restante mesênquima que reveste o órgão de esmalte condensa-se, formando o folículo dentário, que irá produzir o periodonto – cimento, ligamento periodontal e osso alveolar. A membrana basal permanece a separar o órgão de esmalte e o saco dentário. As três estruturas embrionárias (órgão de esmalte, papila dentária e saco dentário) constituem o gérmen dentário (8,11).

Na **fase de campânula**, a diferenciação celular é o processo predominante, originando vários tipos de células no órgão de esmalte. O epitélio interno de esmalte diferencia-se em

ameloblastos, enquanto o epitélio externo serve como barreira de proteção do órgão de esmalte durante a produção do tecido. O retículo estrelado auxilia no suporte de esmalte (11). Simultaneamente, a papila dentária também sofre diferenciação, passando a ser constituída por dois tipos de camadas celulares – células externas e centrais da papila dentária, que originam os odontoblastos; e células internas que constituem o primórdio da polpa dentária. Nesta fase, dá-se um aumento da quantidade de fibras de colagénio depositadas na matriz extracelular (9,11).

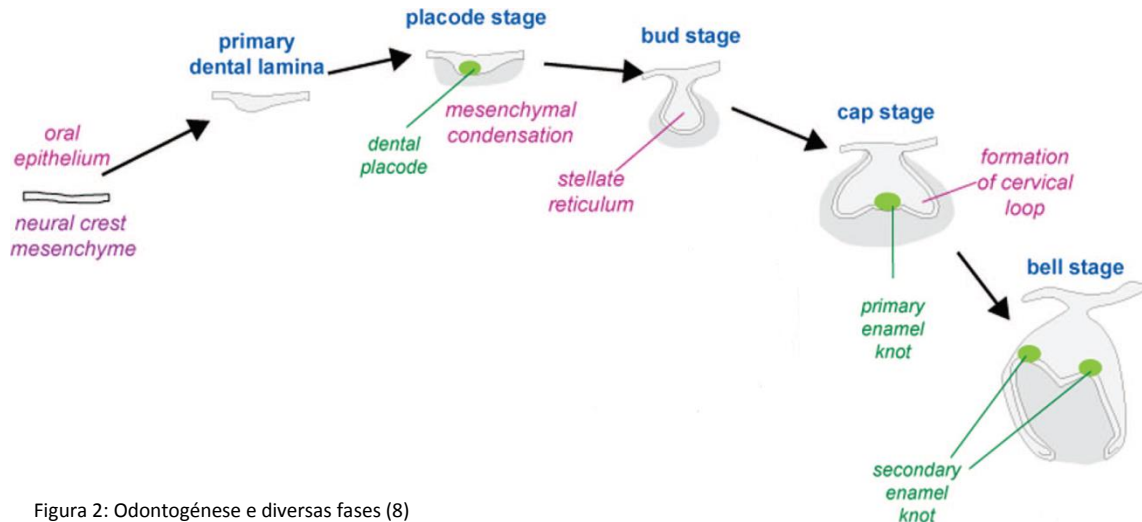


Figura 2: Odontogênese e diversas fases (8)

Na **fase de aposição e maturação** ocorre a secreção em camadas sucessivas de esmalte, dentina e cemento. Estes tecidos são secretados inicialmente como uma matriz que serve como molde para a continuação da calcificação. A outra componente desta fase do desenvolvimento dentário, a maturação, é atingida quando os tecidos referidos se mineralizam completamente(11).

Após a formação do epitélio interno do esmalte, no órgão de esmalte, estas células crescem, adquirindo uma forma ainda mais colunar ou alongada, e sofrem repolarização, diferenciando-se em ameloblastos, que induzem as células da papila dentária a diferenciar-se em odontoblastos. Os odontoblastos iniciam a dentinogênese (8,11).

Com a formação dos odontoblastos, a membrana basal desintegra-se, permitindo o contacto dos pré-ameloblastos com a pré-dentina, induzindo a diferenciação destas células

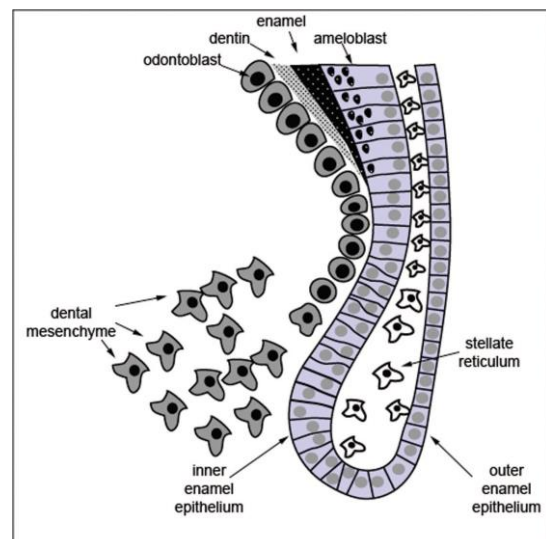


Figura 3: Fase de aposição e maturação (8)

em ameloblastos que iniciam a aposição da matriz de esmalte [Figura 3]. A aposição de ambos os tipos de matriz (dentina e esmalte) torna-se regular, sendo que os corpos celulares dos odontoblastos e dos ameloblastos se afastam progressivamente da junção amelo-dentinária. Ao contrário dos ameloblastos, os odontoblastos formam extensões celulares ao longo da pré-dentina – os processos odontoblásticos – contendo um cilindro mineralizado – túbulo dentinário (11).

No final, os corpos celulares dos odontoblastos integram a polpa dentária, enquanto que os corpos celulares dos ameloblastos estarão envolvidos no processo de erupção e mineralização, sendo perdidos após a erupção(8,11–13).

A formação da raiz ocorre após a formação da coroa e o início da erupção dentária. A estrutura responsável pelo desenvolvimento da raiz é a porção mais cervical do órgão de esmalte, uma camada bilateral composta apenas pelos epitélios interno e externo do esmalte. Esta estrutura cresce e penetra o mesênquima do folículo dentário circundante, alongando-se e afastando-se da coroa, de forma a isolar o tecido da papila dentária e formar a bainha radicular de Hertwig. A função desta bainha é dar forma à raiz e induzir a formação de dentina de forma contínua à dentina da coroa (8,11).

CÉLULAS ESTAMINAIS

As células estaminais são capazes de se auto-renovar e são classificadas de acordo com a sua potencialidade, ou seja, a variedade de populações de células a que podem dar origem (2,3,12). Esta classificação está relacionada com as fases de divisão e diferenciação do embrião humano. Podem também ser classificadas pela sua natureza, como **adultas** ou **embrionárias** (3,5,7,11,13–15).

As células estaminais adultas existem em quase todos os tecidos humanos, são células multipotentes (12,15).

As células estaminais embrionárias só podem ser encontradas nos embriões e são classificadas como totipotentes ou pluripotentes, devido ao seu elevado potencial de diferenciação.

Após a fecundação do óvulo pelo espermatozoide, origina-se o zigoto, que até ao 3º-4º dia de vida contém entre 16 a 32 células, dando-se o nome de mórula. Aqui encontram-se as **células totipotentes**, que são capazes de originar os 4 tecidos fundamentais e ainda os 216 tipos celulares que constituem o corpo humano, incluindo a placenta e os anexos embrionários (3,7,12).

No 4º ou 5º dia de vida (32 a 64 células), origina-se o blastocisto, constituído internamente por **células pluripotentes (ESC)** [Figura 4] que se podem diferenciar em qualquer uma das três camadas germinativas (endoderme, mesoderme ou ectoderme), podendo originar todos os tecidos do organismo, com a exceção da placenta e anexos embrionários (11).

Após o 5º dia de vida já só se encontram presentes **células multipotentes**. Estas células são células indiferenciadas que conseguem originar células especializadas que permitem a reparação e manutenção do tecido onde residem. Por exemplo, células multipotentes hematopoiéticas podem diferenciar-se em vários tipos de células sanguíneas, mas não têm a capacidade de originar células nervosas (7,11,15).

Por último, temos as **células oligopotentes** e **unipotentes**. As primeiras podem diferenciar-se em poucos tipos celulares, enquanto as segundas apenas reproduzem uma

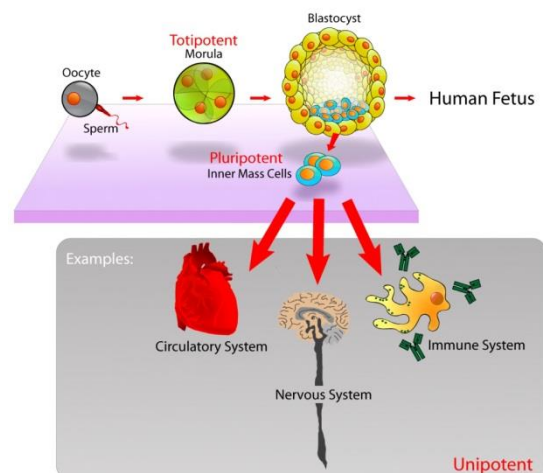


Figura 4: Diferenciação celular desde a fecundação às células unipotentes (8)

única linhagem de diferenciação(7,11).

Recentemente, descobriu-se uma forma de transformar células somáticas em células pluripotentes através da manipulação genética, obtendo-se assim as **células estaminais pluripotentes induzidas (iPS)** (2,16–18). Esta descoberta forneceu uma nova forma de diferenciar células enquanto se mantêm as características imunitárias do dador, de forma a prevenir rejeição celular (2,16,19). As iPS possuem propriedades quase idênticas às células pluripotentes, multiplicando-se quase indefinidamente sem perder o potencial de se diferenciarem em qualquer célula das 3 camadas germinativas: endoderme, mesoderme e ectoderme (19,20). Para se obter células pluripotentes através de células multipotentes usam-se 4 fatores de transcrição essenciais: OCT3 / 4, SOX2, KLF4 e C-MYC (2,16,19,20). Apesar das iPS contornarem as questões éticas que envolvem as ESC, apresentam preocupações a nível de segurança, devido à instabilidade genética e possibilidade de conversão tumoral em enxertos a longo prazo (20).

CÉLULAS ESTAMINAIS DENTÁRIAS

Existem dois tipos principais de células estaminais orais, as **células estaminais epiteliais** e as **células estaminais mesenquimatosas (MSCs)** (13,21). As células estaminais epiteliais diferenciam-se em células epiteliais orais ou em pré-ameloblastos que, quando maturam, originam ameloblastos responsáveis pela formação do esmalte dentário(22). Assim, quando o dente passa a ser funcional, apenas as MSCs se mantêm enquanto populações estaminais, a nível da cavidade oral [Figura 5] (5). Estas células alojam-se em áreas específicas de cada tecido, formando nichos de células estaminais, que se localizam no mesênquima (3,13,21,22,10).

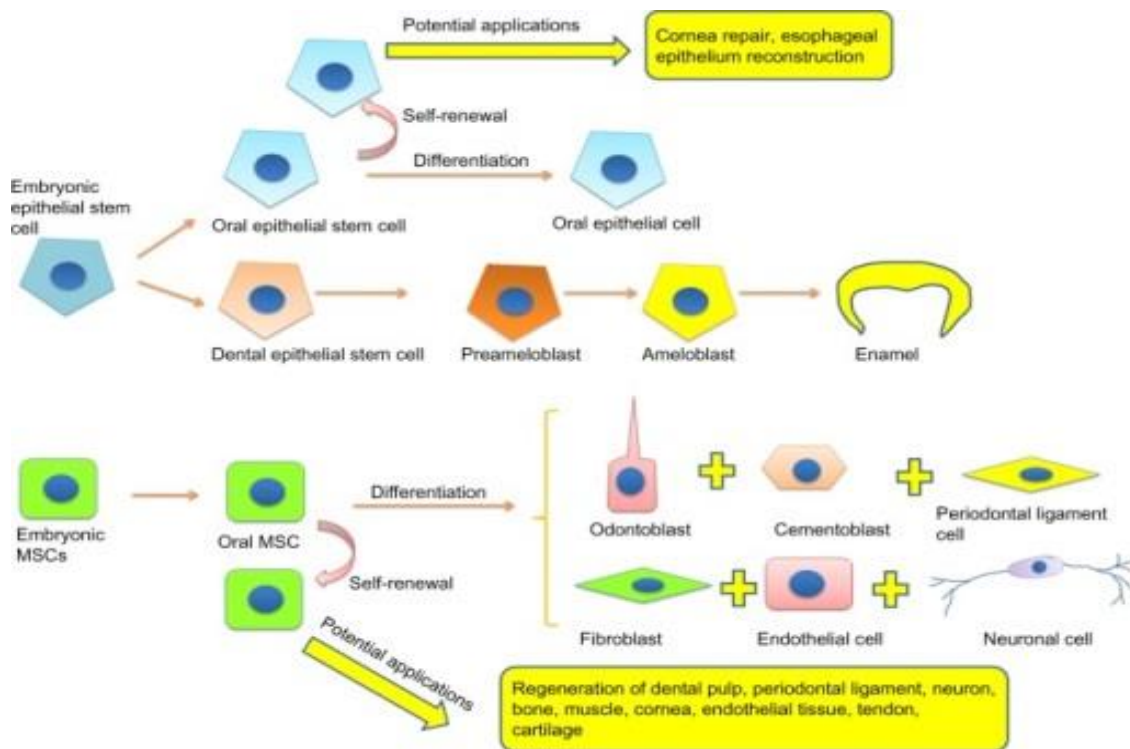


Figura 5: Células embrionárias epiteliais e mesenquimatosas e suas diferenciações (5)

Na cavidade oral existem vários tipos de células estaminais multipotentes, de origem mesenquimatosas [Figura 6].

As primeiras células estaminais adultas dentárias a ser identificadas foram as células estaminais da polpa dentária (**Dental Pulp Stem Cells**) (6). Estas foram encontradas nas regiões perivasculares e na bainha perineural da polpa. Além disso, as DPSCs podem ser mais facilmente colhidas em comparação com células estaminais da medula óssea (6,18). Estas podem ser encontradas em dentes com coroa fraturada que não requerem extração, ou a partir de dentes excedentários que requerem extração (devido a ortodontia ou problemas

periodontais que não afetam a polpa). DPSCs induzidas, em comparação com DPSCs nativas, podem originar uma dentinogênese mais regulada (13,18,23).

Posteriormente foram também isoladas MSCs da polpa dentária de dentes decíduos (**Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous Teeth**) (24–26). Os dentes decíduos são uma ótima fonte de células estaminais devido, principalmente, à sua colheita ser minimamente invasiva, o que diminui as preocupações éticas e legais associadas (6,13,24). Comparativamente às DPSCs, apresentam uma maior capacidade de proliferação, auto-renovação e de osteoindução (formação de uma matriz óssea com estrutura lamelar) (6,12,13,24). Isto acontece, provavelmente, devido à reabsorção radicular que ocorre nos dentes decíduos, aquando a sua exfoliação. Esta reabsorção é acompanhada de deposição óssea rodeando a raiz, o que indica que os dentes decíduos podem não só fornecer orientações para a erupção dos dentes definitivos mas também estar envolvidos na formação óssea durante essa mesma erupção (13,24).

Tanto as DPSCs como as SHEDs possuem a capacidade específica de regenerar o complexo dentino-pulpar, formando dentina reparativa de forma fisiológica, desde que as condições do microambiente sejam favoráveis após o tratamento dentário (6,24,26).

Outra fonte de MSCs são as células estaminais do ligamento periodontal (**Periodontal Ligament Stem Cells**), que podem ser isoladas a partir de dentes extraídos e possuem a capacidade de regenerar tecidos periodontais como cimento, osso alveolar e ligamento periodontal (23).

As MSCs também foram identificadas em estruturas dentárias em desenvolvimento, como o folículo dentário, o mesênquima dentário e a papila apical. O folículo dentário, que contém o dente em desenvolvimento e se diferencia em ligamento periodontal, contém células estaminais do folículo dentário (**Dental Follicle Stem Cells**) com a capacidade de regenerar tecidos periodontais como ligamento periodontal e osso alveolar (12).

Foram também identificadas células estaminais no mesênquima dentário no gérmen do 3º molar (fase de campânula), apresentando células progenitoras do gérmen dentário (**Tooth Germ Progenitor Cells**). Estas células possuem uma elevada capacidade proliferativa e de diferenciação *in vitro* em linhagens que incluem osteoblastos, células neurais e hepatócitos (12).

Células estaminais da papila apical (**Stem Cells Apical Papilla**) foram encontradas ao nível do ápice da raiz de dentes em desenvolvimento (6,27). A papila dentária participa na formação do dente e depois evolui para polpa dentária, existindo um maior número de MSCs na papila que na polpa, por esta ser menos diferenciada do que a segunda (12,27). Em dentes imaturos, quando as raízes estão ainda em desenvolvimento, a papila dentária assume uma

posição entre a polpa e o diafragma epitelial, estando aderida ao ápice da raiz, de onde pode ser facilmente colhida. Entre a papila apical e a polpa dentária existe uma zona altamente povoada de células (nicho celular)(6,13,27). Apesar da papila apical ser menos vascularizada e menos povoada comparativamente à polpa dentária, as SCAPs mostram uma capacidade proliferativa duas a três vezes superior à das DPSCs, e um potencial muito maior para regenerar dentina (12,27). Também apresentam maior capacidade regenerativa da matriz dentinária, *in vitro*. Este facto sugere que estruturas dentárias em desenvolvimento podem proporcionar uma melhor fonte de células estaminais imaturas do que estruturas dentárias já desenvolvidas (27).

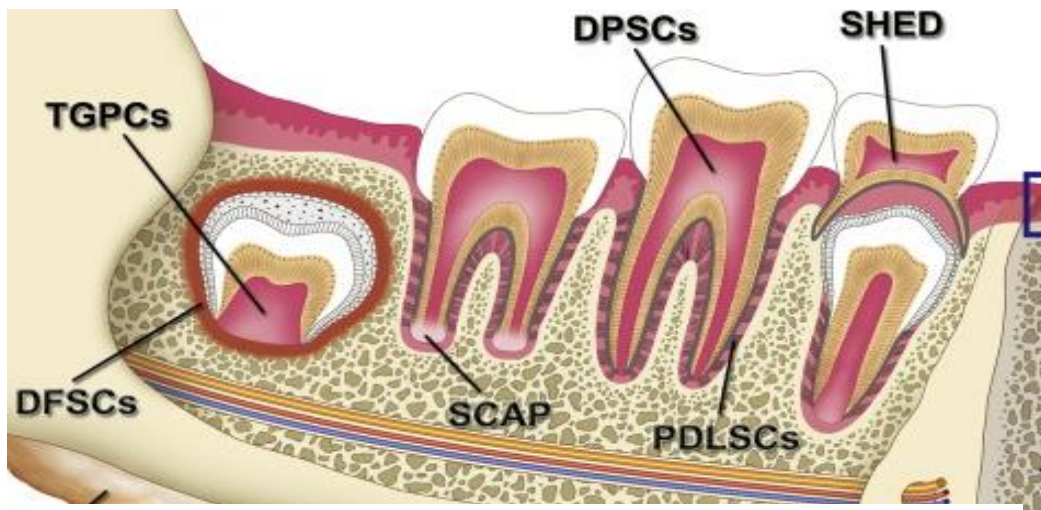


Figura 6: Fontes de células estaminais adultas nas peças dentárias (13)

REGENERAÇÃO E REPARAÇÃO DENTÁRIA

Existem diversos estudos que defendem ser teoricamente possível criar um dente em laboratório, recorrendo a células estaminais dentárias entre outros fatores necessários. De facto, há 4 fatores que se apresentam como importantes para se atingir esse objetivo: células estaminais, fatores de crescimento, fatores angiogénicos e *scaffolds* [Figura 7] (12,28).

Os dentes humanos são compostos por esmalte, dentina, cimento e tecido pulpar. O esmalte é produzido pelos ameloblastos, a dentina pelos odontoblastos e o cimento pelos cementoblastos. As células estaminais conseguem-se diferenciar nestes 4 tipos de tecidos (12).

As células estaminais, a serem utilizadas na regeneração e reparação dentária, deverão estar sujeitas a um grande controlo para garantir a segurança do paciente. Neste momento, apenas as MSCs adultas apresentam potencial clínico, principalmente ao nível da regeneração dos tecidos ósseos e periodontais (13).

A nível do complexo dentino-pulpar ainda existem algumas dúvidas, apesar de já ser possível a colheita e preparação em laboratório, tendo em vista a aplicação regenerativa, tal como suportado por diversos estudos (13,28).

Alguns estudos *in vitro* mostram que as MSCs podem possuir tempo de vida limitado e entrar em senescência replicativa e envelhecimento (20).

Embora a capacidade de auto-renovação das MSCs seja mais extensa do que muitas células somáticas, os estudos mostram que, após senescência replicativa, podem sofrer alterações morfológicas e funcionais, chegando a perder a sua multipotência e capacidade de diferenciação (20).

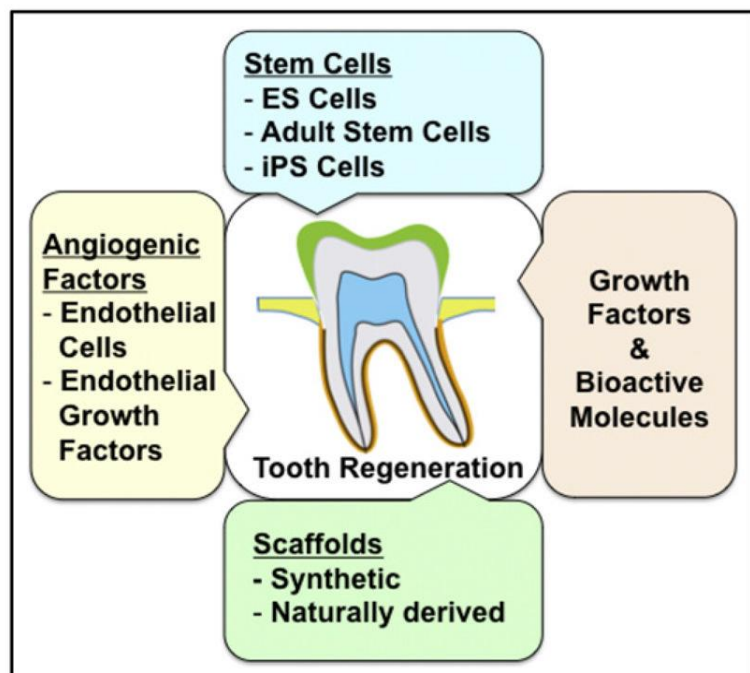


Figura 7: Fatores essenciais à regeneração dentária (12)

REGENERAÇÃO DO COMPLEXO DENTINO-PULPAR

A primeira camada da estrutura dentária é o esmalte, que constitui o material com maior dureza do corpo humano. Diversos estudos demonstram que é possível que as MSCs sejam programadas para se diferenciarem em ameloblastos, e conseqüentemente, produzirem esmalte (11,12).

A polpa dentária é um tecido conjuntivo que contém diferentes tipos de células, como células endoteliais, células neurais, fibroblastos e odontoblastos (20). Está rodeada por uma fina camada de matriz de dentina e a sua vascularização dá-se pelo buraco apical que possui um diâmetro de cerca de 250µm, o que provoca um microambiente pulpar pobre em oxigénio e nutrientes (5). Este microambiente é favorável à manutenção da viabilidade das células estaminais, mas desfavorável ao controlo de um eventual foco infeccioso. Assim, quando ocorre contaminação pulpar, é complicado remover os agentes patogénicos com terapias antimicrobianas, acabando, por vezes, por ser necessária a extirpação da polpa na sua totalidade, o que leva à perda da vitalidade dentária (12). Uma vez que a polpa possui inúmeras funções (função nutritiva, protetora, reparativa e sensorial) na manutenção dentária, a regeneração pulpar é uma área de extremo interesse clínico (5,11).

A regeneração de dentina não é possível em dentes com polpa necrosada. No entanto, em dentes imaturos, com o ápice em formação, o tecido pulpar pode ser regenerado apicalmente, desde que a abertura apical seja no mínimo de 1 mm. Como prova desta possibilidade verifica-se a manutenção da viabilidade dentária em estudos de revascularização de dentes traumatizados, que sofreram avulsão. Tudo isto se deve à existência de células estaminais apicais que promovem a regeneração do complexo dentino-pulpar (10,14,20).

Clinicamente, existem três situações em que é particularmente importante a regeneração de tecidos dentários [Figura 8](20).

A primeira, e mais simples, é a formação de dentina reparativa após **protecção pulpar direta (DPC)**. Este conceito é uma alternativa viável para preservar a polpa vital após exposição pulpar ou cárie. Utiliza-se Ca (OH)₂ ou Agregado Trióxido Mineral (MTA), sendo que o último apresenta maior taxa de sucesso. Contudo, observou-se que o sucesso não depende só do material utilizado mas também do tipo de dente, da incidência da exposição (trauma ou cárie) e da idade do paciente. O maior sucesso ocorre em dentes jovens, com canais amplos e largos (20,29).

O segundo procedimento é a **revitalização pulpar** de dentes necrosados através de procedimentos endodônticos regenerativos. Esta abordagem é particularmente benéfica em dentes imaturos, em que os ápices ainda não estão completamente formados, porque a

revitalização pulpar permite a continuação do desenvolvimento radicular e o encerramento apical (29). Pelo contrário, um tratamento convencional originaria apexificação, que bloqueia o desenvolvimento radicular, deixando o dente mais suscetível a fraturas (27). O procedimento de revitalização pulpar consiste na desinfecção dos canais radiculares usando $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ou pasta tripla antibiótica (TAP), indução do sangramento intracanal pelo buraco apical, e favorecimento da migração e recrutamento celular das MSCs endógenas (neste caso SCAPs), que retomem a diferenciação odontogénica e completem a formação radicular. Portanto, a revitalização pulpar é uma alternativa viável à apexificação, embora seja necessária uma avaliação sistemática dos resultados destes tratamentos (11,20,27).

Tanto a DPC como a revitalização pulpar assentam na capacidade regenerativa de MSCs endógenas (DPSCs e SCAPs). A revitalização de dentes com ápice fechado e raízes totalmente formadas necessitam de uma fonte de MSCs exógenas, fatores de crescimento (e.g., TGF- β , BMP-7, e bFGF) e *scaffolds* (7). Estudos recentes mostram que é possível uma abordagem regenerativa para a **engenharia de tecido pulpar**. Foi usada uma raiz oca preenchida com *scaffolds* de PLG (poly-lactide/glicóide) e DPSCs, observando-se a formação de dentina dentro da parede do canal radicular. Um estudo desenvolvido por Sakai *et al.* mostrou dentinogénese derivada de polpa artificial regenerada com ácido poli-L-lático (PLLA) e DPSCs (1,11,20,24,25).

A regeneração pulpar permite assim a formação de tecido duro na polpa dentária que pode auxiliar no reforço da estabilidade estrutural. Outras vantagens da engenharia de tecido pulpar podem incluir o restabelecimento de mecanismos de defesa do sistema imunológico e de estímulos ambientais, incluindo as mudanças de temperatura, carga excessiva e invasão bacteriana. Estas funções de polpa dentária são essenciais para proteger a estrutura do dente de fraturas e cáries recorrentes. De momento, não há nenhum estudo clínico que demonstre resultados positivos da engenharia de tecido pulpar em humanos, embora os estudos pré-clínicos que utilizam DPSCs e *scaffolds* tenham apresentado resultados promissores(11,20,30).

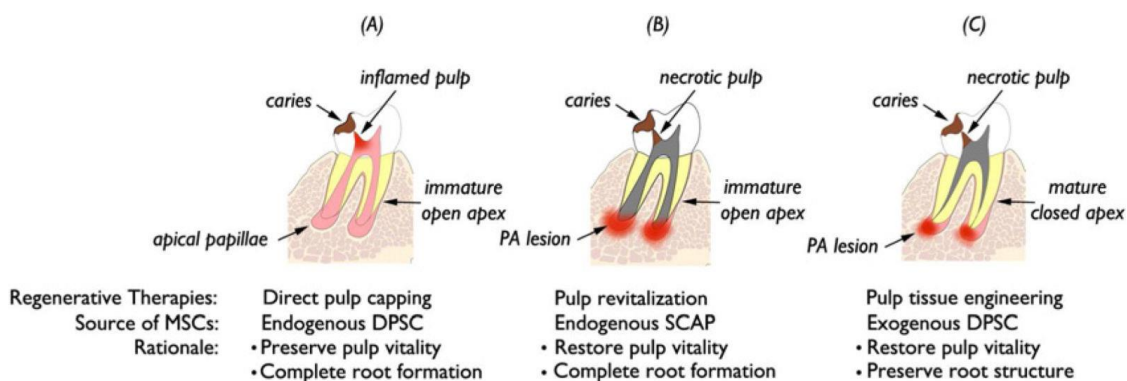


Figura 8: A: Proteção pulpar direta; B: Revitalização pulpar; C: Engenharia de tecido pulpar (20)

REGENERAÇÃO DO LIGAMENTO PERIODONTAL

O ligamento periodontal possui extrema importância uma vez que é o tecido de suporte do dente. Tem como função suspender o dente no alvéolo, impedindo o contacto direto entre o cemento e o osso alveolar, fornecer nutrientes e manter a homeostasia através das PDLSCs (5,15,20).

A doença periodontal é caracterizada por uma inflamação crónica induzida que destrói o ligamento periodontal, resultando, progressivamente, na destruição do osso alveolar. Uma terapia baseada em MSCs poderá inibir a inflamação, promover a regeneração óssea e prevenir a perda das estruturas dentárias (5,12).

A regeneração periodontal através da regeneração tecidual guiada (GTR) foi a primeira técnica de engenharia de tecidos a ser desenvolvida em medicina dentária. Este procedimento consiste na inserção de uma membrana sob o retalho de tecido periodontal para prevenir o crescimento de epitélio gengival e de tecido conjuntivo, dando espaço, na superfície da raiz, para que as células progenitoras do ligamento periodontal migrem e formem novas estruturas periodontais, incluindo cemento, ligamento periodontal e osso alveolar (11,15).

A regeneração periodontal requer a presença de pelo menos uma parede óssea que proporcione células progenitoras e suprimento vascular, permitindo assim a reparação e regeneração. Para melhorar o nível de sucesso, foram desenvolvidas abordagens que incluem a utilização de fatores de crescimento exógenos e células estaminais (19,30).

A regeneração do ligamento periodontal requer, tal como a engenharia de tecidos pulpares, uma fonte exógena de MSCs, suportada com *scaffolds* e fatores de crescimento (15,20,30). Desde o momento em que se tornou possível o isolamento de PDLSCs, e de testes *in vivo* terem provado que estas são capazes de gerar cemento e ligamento periodontal, esta terapia tem sido a eleita em casos de regeneração do mesmo. Com as PDLSCs é possível regenerar o ligamento periodontal em dentes que sofreram avulsão, evitando a anquilose ou reabsorção radicular, após a reimplantação [Figura 9]. Além disso, as PDLSCs aparentam também modular a resposta inflamatória da periodontite através da supressão da ativação de células T e B, diminuindo a hemorragia e mobilidade dentária, associadas a patologias periodontais (5,11,12,20).

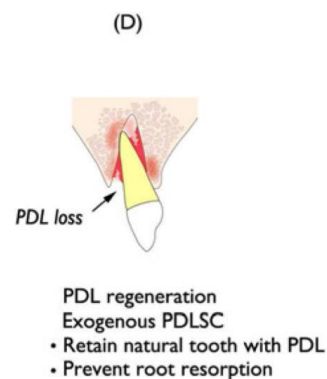


Figura 9: D- Regeneração ligamento periodontal (20)

BIOENGENHARIA DOS TECIDOS

A bioengenharia define-se como o estudo da fisiologia e estrutura tecidual, com o objetivo de regenerar tecidos. É um campo interdisciplinar de estudo que aplica os princípios da engenharia à biologia e à medicina, com o objetivo de desenvolver substitutos biológicos que restauram, mantêm e melhoram a função normal (21,23,31–33) . Alguns autores defendem que a medicina dentária é uma ótima área de intervenção na área da bioengenharia de órgãos vitais, uma vez que as características da barreira de dentina reparativa/ regenerativa constituem uma melhor proteção para a polpa comparativamente a materiais artificiais. Além disso os médicos dentistas dependem de materiais restauradores na sua prática clínica, que não possuem as mesmas características físicas e químicas que a dentina (22,23,32–34).

O rápido progresso feito nos últimos 20 anos na área das células estaminais, materiais e ciências biológicas permitiu o surgimento de novas perspectivas na área da bioengenharia oral. Recentemente, vários profissionais na área da saúde e da engenharia defendem que será possível regenerar a peça dentária por inteiro (*Bioteeth*). Este procedimento poderia ser uma alternativa à utilização de implantes dentários, uma vez que o dente é implantado e erupciona na cavidade oral do paciente após manipulação experimental *in vitro* [Tabela 2](7,11,28,32,33).

Existem duas abordagens principais na construção de uma peça dentária na íntegra. A primeira seria a implantação *in vivo* do germe dentário, que previamente seria formado *in vitro* por várias populações de células estaminais dentárias. A outra abordagem consistiria em implantar na cavidade oral um *scaffold* em forma de dente, contendo células estaminais. Idealmente, este implante deveria reproduzir a estrutura 3D requerida pelas células estaminais, de forma a suportar a sua sobrevivência, proliferação e diferenciação (23,28,33).

A formação de esmalte é um processo dinâmico e programado a nível celular. As células estaminais destinadas a formar esmalte devem reproduzir todos os estágios que ocorrem durante a aposição de esmalte, assim como a remoção de material orgânico, vascularização e transporte de iões. Além da importância na formação de cristais, os iões contribuem também para a cor do esmalte dentário. O esmalte em seres humanos pode apresentar uma variedade de tonalidade passando pelo amarelo, cinzento e branco. Existe muito pouca informação de como os iões controlam a cor do esmalte, adicionando outra dificuldade às abordagens regenerativas através do *Bioteeth*. O tempo de duração do processo pode também representar outro desafio, uma vez que o processo de formação de esmalte em dentes permanentes pode levar mais de 5 anos, não sendo viável em procedimentos imediatos (28).

É muito importante que o *BioTeeth* adquira a morfologia e o tamanho correto. Neste contexto, várias moléculas de sinalização, tais como BMPs, FGF, Wnts e Shh são expressas no microambiente dentário, funcionando como agentes morfogenéticos. Por exemplo, a expressão de BMP4 está ligada à forma dos incisivos, enquanto que FGF8 está ligada à forma dos molares. BMP4 ativa a expressão de Msx1 e Msx2 no mesênquima dos futuros incisivos. Da mesma forma, Islet1 é expresso apenas no epitélio dos incisivos e a sua expressão é regulada pela BMP4. Por outro lado, FGF8 ativa a expressão de Dlx1, Dlx2 e Barx 1 no mesênquima dos futuros molares (23,28).

Por último, mas não menos importante temos a erupção e suporte do dente implantado, que requer a formação de raízes com forma e comprimento apropriados. É também importante a regeneração de estruturas relacionadas, como o ligamento periodontal, evitando-se situações como anquilose ou reabsorção óssea. O tempo de erupção e a orientação também devem ser controlados (28).

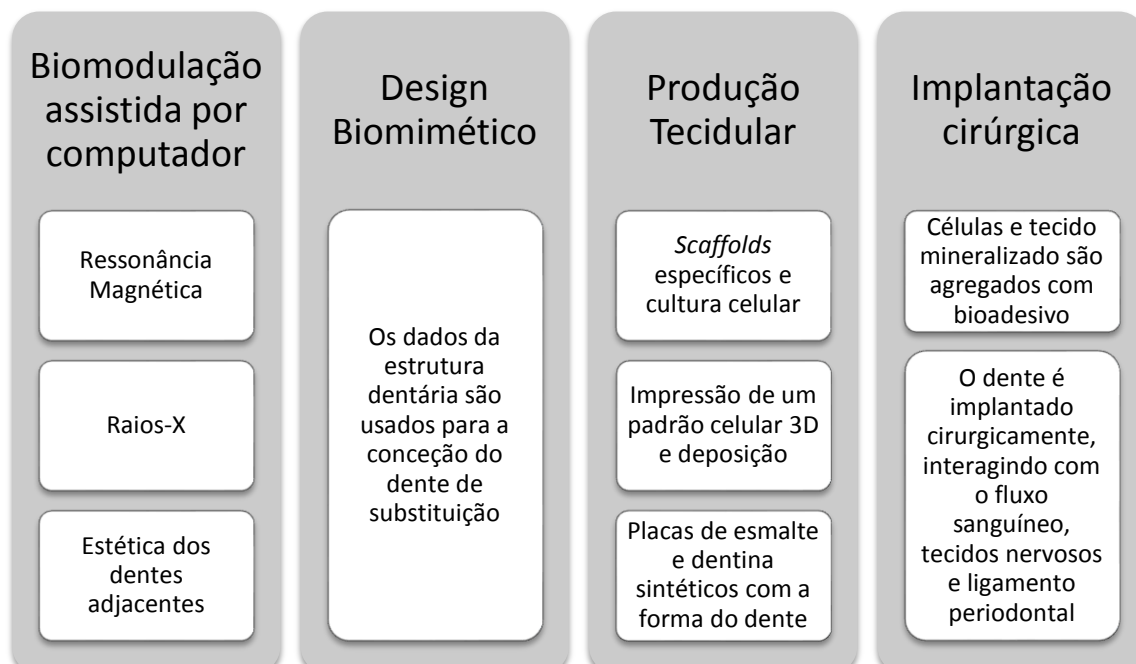


Tabela 2: Processo de bioengenharia dos tecidos para a substituição dentária (7)

SCAFFOLDS

O tipo de *scaffolds* que as células estaminais necessitam para gerar tecidos específicos é uma área de grande interesse. Os dois métodos básicos são uma abordagem *top-down* ou *bottom-up*, sendo que o mais tradicional é o *top-down* (19).

Na abordagem *top-down* as células são semeadas em *scaffolds* feitos a partir de polímeros pré-formados, matérias porosas naturais ou matriz extracelular acelular.

Na abordagem *bottom-up* são usados vários métodos para ocorrer agregação celular, de forma a gerar subunidades distintas que podem eventualmente ser utilizadas como blocos para projectar órgãos inteiros(17,19).

O papel do *scaffold* é prestar apoio às células e aos fatores de crescimento. Para isso devemos seleccionar o *scaffold* de acordo com as suas características físicas, mecânicas, biocompatibilidade e degradação. As características físicas devem incluir porosidade, tamanho e forma, além de todos os aspetos que podem influenciar quão bem as células irão aderir ao material. A viscoelasticidade e a resistência à tração são também fatores importantes, assim como a biocompatibilidade (7,14,17,19,35,36).

No fundo, os materiais devem refletir o microambiente do tecido/órgão alvo para apresentarem uma boa integração no hospedeiro. Por fim, o *scaffold* deve idealmente passar por um processo de degeneração à medida que o tecido vai regenerando, sendo por isso substituído gradualmente pelo tecido endógeno (19).

Os *scaffolds* podem ser naturais ou sintéticos. Na regeneração dentária, os mais usados são os *scaffolds* sintéticos biodegradáveis de ácido poliglicólico (PGA), que são insolúveis em água (7,19).

Estudos longitudinais de culturas com PGA e polpa dentária humana detetaram no *scaffold* vários componentes da matriz extracelular, tais como colagénio tipo I, fibronectina e vários BMPs e seus recetores, o que apoia a capacidade dos *scaffolds* manterem a vitalidade celular e permitirem a diferenciação em células da polpa dentária humana(1,14,17,19).

Scaffolds de PGA foram comparados com β -tricalcium phosphate (β -TCP), fibrina e colagénio para observar a sua capacidade de desenvolver estruturas dentárias através de gérmen dentários. Nos géis de fibrina e colagénio, o broto dentário do gérmen cultivado manteve a sua estrutura epitelial, enquanto que quando cultivados em PGA e β -TCP, o gérmen dentário produziu mais dentina (7,17,19).

Estudos comparativos de PLGA com hidroxiapatite (HA) ou β -TCP comprovam que DPSCs proliferam melhor em PLGA com β -TCP e tornam-se capazes de formar estruturas mineralizadas (com expressão de sialoproteína dentinária) (DSP) (7).

Scaffolds de poli-caprolactona (PCL) foram usados na regeneração de tecidos como osso, cartilagem e dentina, tendo-se verificado que suportam a adesão, proliferação e diferenciação odontoblástica (melhorada quando incorporada HA)(7,17).

Outro *scaffold* utilizado é o óxido de polietileno ou de polioxietileno (PGE), que suporta o crescimento e diferenciação celular, assim como retarda a degradação da fibrina.

Existem também *scaffolds* derivados de materiais naturais(17,19).

O hidrogel de alginato foi usado para fornecer células e fatores de crescimento como TGF- β numa cultura constituída por polpa e dentina vivas, induzindo a secreção de matriz de dentina e a formação de células odontoblásticas (19).

O colagénio (principal constituinte da dentina), especialmente o tipo I, também tem sido usado como suporte celular, incluindo para DPSCs, permitindo um maior grau de diferenciação das mesmas. Pode ser usado apenas colagénio simples ou combinado com fatores de crescimento como TGF- β 1, BMP4, FGF2 (7,17).

Também já foram testados *scaffolds* de fibrina. Devido à sua biocompatibilidade, biodegradação, preparação e manipulação simples, estes são usados com muita frequência e podem ser combinados com fatores de crescimento e moléculas bioativas(1,36).

Recentemente tem-se vindo a examinar a micro e nanotopografia dos *scaffolds*, como fator determinante para o sucesso da regeneração dentária, de forma a obter-se informações que permitam a criação de um microambiente o mais semelhante possível com o tecido dentário a regenerar (19).

DESAFIOS/ PERSPETIVAS FUTURAS

As ESC possuem a capacidade de se multiplicarem indefinidamente e, dependendo do microambiente, estas células podem diferenciar-se em todos os tipos celulares. São muito úteis em pesquisas e aplicações clínicas, principalmente a nível de engenharia de tecidos e medicina dentária regenerativa(35,37,38).

No entanto estas células têm a potencialidade de gerar tumores, devido à sua elevada capacidade de divisão. A utilização de células embrionárias provenientes de embriões também levantam muitas questões éticas (2,20).

Por outro lado, as células estaminais multipotentes têm aplicações limitadas uma vez que são capazes de gerar tipos celulares de tecidos onde residem, mas não células de uma origem diferente (31).

Os desafios de trabalhar com ESC e células multipotentes, em parte, levaram ao desenvolvimento de novas técnicas para a obtenção de células estaminais. Duas dessas técnicas são células estaminais pluripotentes induzidas e a transdiferenciação (20).

Apesar de tudo, o desafio não envolve apenas a parte da diferenciação celular. É necessário estabelecer estratégias para remover células residuais que não se diferenciaram na cultura, para prevenir a formação de tumores (19,20).

No futuro, acredita-se que os primórdios dentários que hoje são criados *in vitro* através de biorreatores ou *in vivo* em modelos animais possam ser implementados em seres humanos e continuar a desenvolver-se na cavidade oral (23,39). Os recentes avanços na biotecnologia permitiram obter um dente inteiro e tecidos periodontais cercados por osso alveolar através de células epiteliais e células mesenquimatosas. Acredita-se que no futuro esta prática será possível através das células iPS, eliminando as várias limitações das células multipotentes [Figura 10] (40).

O possível desenvolvimento de células estaminais poderá tornar possível a produção em massa destas, tornando esta tecnologia acessível à prática clínica diária (34,41).

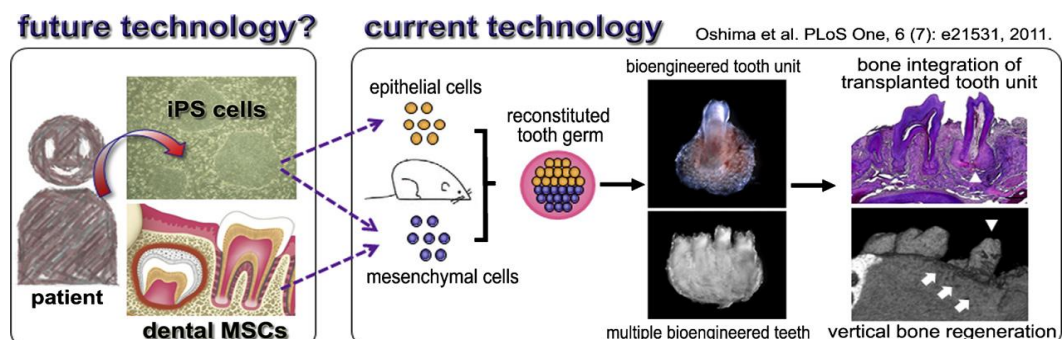


Figura 10: Estratégia regenerativa de substituição dentária (40)

CONCLUSÃO

O desenvolvimento da bioengenharia e de áreas da medicina regenerativa têm contribuído de forma significativa para importantes avanços na medicina dentária e no estudo das células estaminais de origem dentária.

Atualmente pode prever-se que no futuro os tecidos perdidos ou danificados não serão apenas tratados com materiais tolerados pelo organismo, mas sim com biomateriais que conseguirão regenerar essas mesmas estruturas.

Através do aumento do conhecimento ao nível da morfologia dentária, foi provado que as células estaminais dentárias são capazes de regenerar tecidos dentários e até mesmo a estrutura dentária, *in vitro*.

Os investimentos na biologia tecidular e o aumento de serviços comerciais para isolar e para fornecer células estaminais, aliados à bioengenharia, desencadeiam possibilidades para o uso de células estaminais dentárias. Prevê-se que o uso de células estaminais seja a terapia mais utilizada no futuro a nível de tratamentos dentários, uma vez que não possui tantas limitações como as terapias convencionais, comprovando o seu elevado potencial na regeneração dentária.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Huang GT-J. Dental pulp and dentin tissue engineering and regeneration: advancement and challenge. *Front Biosci (Elite Ed)*. 2011;3:788–800.
2. José Bragança ÁTEJ a. B. células estaminais e medicina regenerativa Um admirável mundo novo. *canalBQ, Rev da Soc Port bioquímica*. 2010;4–17.
3. Rosa V. What and where are the stem cells for Dentistry? *Singapore Dent J [Internet]*. Elsevier; 2013;34(1):13–8. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377529113000047>
4. Verma K, Bains R, Bains VK, Rawtiya M, Loomba K, Srivastava SC. Therapeutic potential of dental pulp stem cells in regenerative medicine : An overview. 2014;11(3):302–8.
5. Xiao L, Masanori N. From regenerative dentistry to regenerative medicine : progress , challenges , and potential applications of oral stem cells. 2014;89–99.
6. Brar G, Toor RS. Dental stem cells: Dentinogenic, osteogenic, and neurogenic differentiation and its clinical cell based therapies. *Indian J Dent Res*. 2012;23(3):393.
7. BHAT V et al., Vinaya Bhat, Krishna Prasad, Sriram Balji S AB. Role of Tissue Engineering in Dentistry. *J Indian Acad Dent Specially. JIADS*; 2011;2(1):37–42.
8. Thesleff I, Tümmers M. Tooth organogenesis and regeneration. *StemBook*. :1–12.
9. Hacking S a, Khademhosseini a. Applications of microscale technologies for regenerative dentistry. *J Dent Res*. 2009;88(5):409–21.
10. Sloan a. J, Smith a. J. Stem cells and the dental pulp: Potential roles in dentine regeneration and repair. *Oral Dis*. 2007;13(2):151–7.
11. Battistella E, Mele S, Rimondini L. Dental tissue engineering : a new approach to dental tissue reconstruction. *Biomimetics Learning from Nature*. 2010;399–415.
12. Shaikh RAR. Therapeutic Potential of Stem cells in Regenerative Dentistry; a Review of Literature. *Int Dent J Students' Res*. 2013;1(4):22–30.
13. Egusa H, Sonoyama W, Nishimura M, Atsuta I, Akiyama K. Stem cells in dentistry - Part I: Stem cell sources. *J Prosthodont Res [Internet]*. Japan Prosthodontic Society; 2012;56(3):151–65. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpor.2012.06.001>
14. Wang J, Ma H, Jin X, Hu J, Liu X, Ni L, et al. The effect of scaffold architecture on odontogenic differentiation of human dental pulp stem cells. *Changes*. 2012;29(6):997–1003.
15. Original A. Aplicação de células-tronco na terapia periodontal. 2008;(4):126–30.
16. Duan X, Tu Q, Zhang J, Ye J, Sommer C, Mostoslavsky G, et al. Application of induced pluripotent stem (iPS) cells in periodontal tissue regeneration. *J Cell Physiol*. 2011;226(1):150–7.

17. Galler KM, D'Souza RN, Hartgerink JD, Schmalz G. Scaffolds for dental pulp tissue engineering. *Adv Dent Res*. 2011;23(3):333–9.
18. Tatullo M, Marrelli M, Shakesheff KM, White LJ. Dental pulp stem cells: function, isolation and applications in regenerative medicine. *J Tissue Eng Regen Med* [Internet]. 2014; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24850632>
19. Horst O V., Chavez MG, Jheon AH, Desai T, Klein OD. Stem Cell and Biomaterials Research in Dental Tissue Engineering and Regeneration. *Dental Clinics of North America*. 2012. p. 495–520.
20. Kim RH, Mehrazarin S, Kang MK. Therapeutic Potential of Mesenchymal Stem Cells for Oral and Systemic Diseases. *Dent Clin North Am*. 2012;56(3):651–75.
21. Rodríguez-Lozano FJ, Insausti CL, Iniesta F, Blanquer M, Ramírez MDC, Meseguer L, et al. Mesenchymal dental stem cells in regenerative dentistry. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2012;17(6):1062–7.
22. Arribança A, Cardoso I. Aplicações da Bioengenharia em Medicina Dentária. 2009;6:40–9.
23. Catón J, Bostanci N, Remboutsika E, De Bari C, Mitsiadis T a. Future dentistry: Cell therapy meets tooth and periodontal repair and regeneration. *J Cell Mol Med*. 2011;15(5):1054–65.
24. Telles PD, Machado MADAM, Sakai VT, Nör JE. Pulp tissue from primary teeth: new source of stem cells. *J Appl Oral Sci*. 2011;19(3):189–94.
25. Rosa V, Zhang Z, Grande RHM, Nör JE. Dental pulp tissue engineering in full-length human root canals. *J Dent Res* [Internet]. 2013;92(11):970–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24056227>
26. Kabir R, Gupta M, Aggarwal A, Sharma D, Sarin A, Kola MZ. Imperative Role of Dental Pulp Stem Cells in Regenerative Therapies: A Systematic Review. *Niger J Surg Off Publ Niger Surg Res Soc* [Internet]. 2014;20:1–8. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3953626&tool=pmcentrez&endertype=abstract>
27. Huang GTJ, Sonoyama W, Liu Y, Liu H, Wang S, Shi S. The Hidden Treasure in Apical Papilla: The Potential Role in Pulp/Dentin Regeneration and BioRoot Engineering. *Journal of Endodontics*. 2008. p. 645–51.
28. Mitsiadis T a, Papagerakis P. Regenerated teeth: the future of tooth replacement? *Regen Med*. 2011;6(2):135–9.
29. Alsanea R, Ravindran S, Fayad MI, Johnson BR, Wenckus CS, Hao J, et al. Biomimetic approach to perforation repair using dental pulp stem cells and dentin matrix protein 1. *J Endod*. 2011;37(8):1092–7.
30. Kadar K, Kiraly M, Porcsalmy B, Molnar B, Racz GZ, Blazsek J, et al. Differentiation potential of stem cells from human dental origin - promise for tissue engineering. *J Physiol Pharmacol*. 2009;60 Suppl 7(22):167–75.

31. Nguyen TT, Mui B, Mehrabzadeh M, Chea Y, Chaudhry Z, Chaudhry K, et al. Regeneration of tissues of the oral complex: Current clinical trends and research advances. *J Can Dent Assoc (Tor)*. 2013;79.
32. Kim B-S, Kim JS, Park YM, Choi B-Y, Lee J. Mg ion implantation on SLA-treated titanium surface and its effects on the behavior of mesenchymal stem cell. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* [Internet]. Elsevier B.V.; 2013;33(3):1554–60. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23827608>
33. Santander S, Alcaine C, Lyahyai J, Pérez MA, Rodellar C, Doblaré M, et al. In vitro osteoinduction of human mesenchymal stem cells in biomimetic surface modified titanium alloy implants. *Dent Mater J*. 2012;31(5):843–50.
34. Honda MJ, Fong H, Iwatsuki S, Sumita Y, Sarikaya M. Tooth-forming potential in embryonic and postnatal tooth bud cells. *Med Mol Morphol*. 2008;41(4):183–92.
35. Hargreaves KM, Diogenes A, Teixeira FB. Treatment options: Biological basis of regenerative endodontic procedures. *Journal of Endodontics*. 2013.
36. Sun HH, Jin T, Yu Q, Chen FM, Hadjizadeh A, Doillon CJ. Biological approaches toward dental pulp regeneration by tissue engineering. *J Tissue Eng Regen Med*. 2010;4(7):524–31.
37. Narang S, Sehgal N. Stem cells: A potential regenerative future in dentistry. *Indian J Hum Genet*. 2012;18(2):150.
38. Torvi S, Munniswamy K. Regenerative dentistry: Current and future perspectives to rejuvenate and reclaim dental tissues. *J Int Clin Dent Res Organ* [Internet]. 2014;6(2):112. Available from: <http://www.jicdro.org/text.asp?2014/6/2/112/143496>
39. Chai Y, Slavkin HC. Prospects for tooth regeneration in the 21st century: A perspective. *Microsc Res Tech*. 2003;60(5):469–79.
40. Hiroshi Egusa DDS, PhDa,*, Wataru Sonoyama DDS, PhDb, Masahiro Nishimura DDS P, Ikiru Atsuta DDS, PhDd, Kentaro Akiyama DDS P. Stem cells in dentistry – Part II : Clinical applications. *J Prosthodont Res* [Internet]. Japan Prosthodontic Society; 2012;56(4):229–48. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpor.2012.10.001>
41. Goldberg M, Six N, Chaussain C, DenBesten P, Veis A, Poliard A. Dentin extracellular matrix molecules implanted into exposed pulps generate reparative dentin: a novel strategy in regenerative dentistry. *J Dent Res*. 2009;88(5):396–9.

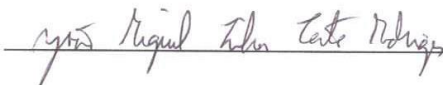
PARECER

(Entrega do trabalho final de Monografia)

Informo que o Trabalho de Monografia desenvolvido pela Estudante Sofia Manuela Cunha Monteiro com o título: “ Potencial Terapêutico das Células Estaminais na Regeneração Dentária” está de acordo com as regras estipuladas na FMDUP, foi por mim conferido e encontra-se em condições de ser apresentado em provas públicas.

30 de Maio de 2015

O Orientador



João Miguel Silva e Costa Rodrigues

(Professor Auxiliar Convidado com Agregação da Faculdade de Medicina Dentária da
Universidade do Porto)

DECLARAÇÃO

Artigo de Revisão Bibliográfica

Declaro que o presente trabalho, no âmbito da Monografia de Investigação/ Relatório de Atividade Clínica, integrado no MIMD, da FMDUP, é da minha autoria e todas as fontes foram devidamente referenciadas.

30 de Maio de 2015

Sofia Manuela Cunha Monteiro

A Investigadora