



Células-tronco mesenquimais e sua aplicação na Odontologia

Mesenchymal stem cells and their application in Dentistry

Anne Maria Guimarães Lessa^[a], Paloma Dias da Silva Telles^[b], Cíntia de Vasconcellos Machado^[c]

^[a] Bolsista de iniciação científica e aluna de graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Bahia (FO-UFBA), Salvador, BA - Brasil.

^[b] Professora adjunta de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Bahia (FO-UFBA), Salvador, BA - Brasil.

^[c] Professora do curso de especialização em Odontopediatria da Associação Brasileira de Odontologia, Seção Bahia (ABO-BA), Salvador, BA - Brasil, e-mail: cintiamachado@hotmail.com

Resumo

Objetivo: Este estudo teve como objetivo realizar uma revisão de literatura sobre as células-tronco pulpares, células indiferenciadas que possuem uma elevada capacidade de proliferação, autorrenovação e diferenciação em variados tipos celulares e seu uso na engenharia de tecidos aplicada à Odontologia. **Bases de dados:** As bases de dados utilizadas foram Pubmed e Bireme. **Seleção dos trabalhos:** Foi realizada por meio das palavras-chave: "Células-tronco mesenquimais"; "Polpa dentária"; "Bioengenharia". **Conclusões:** A capacidade de multidiferenciação, as altas taxas de proliferação e o acesso relativamente fácil fazem da polpa de dentes decíduos e permanentes uma atraente fonte de células-tronco mesenquimais, as quais poderiam ser empregadas na regeneração tecidual. Algumas pesquisas evidenciaram que células-tronco pulpares foram capazes de produzir tecidos dentários como dentina, polpa e até estruturas similares a dentes in vivo. Os avanços dos estudos utilizando células-tronco abrem oportunidades para o desenvolvimento novas terapias que procuram regenerar e/ou substituir dentes perdidos ou danificados por diferentes motivos.

Palavras-chave: Células-tronco mesenquimais. Polpa dentária. Bioengenharia.

Abstract

Objective: This study aimed to conduct a review of the literature on pulp stem cells, undifferentiated cells that have a high capacity for proliferation, self-renewal and differentiation into various cell types and their use in tissue engineering applied to Dentistry. **Data sources:** The databases used were Pubmed and Bireme. **Selection of works:** Was performed using the keywords: "Células-tronco mesenquimais"; "Polpa dentária";

“Bioengenharia”. **Conclusions:** *The ability to multipotent differentiation, high rates of proliferation and relatively easy access make the pulp tissue from deciduous and permanent teeth an attractive source of mesenchymal stem cells, which could be used for tissue regeneration. Some studies reported that dental pulp stem cells were capable of producing dental tissues like dentin, pulp and even teeth-like structures in vivo. The progress of stem cell biology research provides opportunities for developing new therapies that seek to regenerate and/or replace lost or damaged teeth for different reasons.*

Keywords: *Mesenchymal stem cells. Dental pulp. Bioengineering.*

Introdução

A perda dentária ocorre devido a diversos fatores, sendo a cárie e doença periodontal os mais prevalentes (1). Além disso, traumas e doenças genéticas também colaboram para a perda ou ausência dos dentes (2-5). Essa condição leva a problemas que vão muito além dos causados pela ausência física de um órgão. Os dentes exercem influência direta e indireta no bem-estar físico, psicológico e no convívio social dos seres humanos (6).

Atualmente, existem diversas terapias para a reparação e/ou substituição de tecidos dentários perdidos ou danificados, todas elas baseadas em técnicas não biológicas e sujeitas a falhas (7). A perda dos dentes pode ser compensada com métodos protéticos em pacientes que sejam parcial ou totalmente edentados. Fazer uma prótese sobre implante ou outra reabilitação sempre representa um desafio, pois muitos pacientes apresentam diferentes graus de dificuldade para se adaptarem às próteses removíveis ou totais em razão de fatores anatômicos, fisiológicos, psíquicos e protéticos (8-10).

Ainda, deparamos com um grande problema: o insucesso de restaurações. A microinfiltração marginal, que pode ocorrer no processo de restauração, é definida como a passagem clinicamente indetectável de bactérias, fluidos, moléculas e/ou íons causada pela falta de um perfeito vedamento marginal (11, 12). Esses irritantes bacterianos, assim como irritantes térmicos, mecânicos e químicos, podem levar ao colapso dos vasos sanguíneos e, conseqüentemente, à necrose pulpar (13, 14). Nesse contexto, as células-tronco surgem como uma promissora proposta no tratamento restaurador e/ou protético, proporcionando a substituição biológica de parte ou da totalidade de dentes danificados ou perdidos.

Teoricamente, materiais biológicos construídos a partir de tecidos autógenos seriam a melhor escolha para a reconstrução de parte da estrutura dentária danificada por cárie, ou ainda mesmo para a reposição total de dentes perdidos devido a doenças bucais, trauma ou até nos casos de anodontia de fundo genético (2-5).

Para o desenvolvimento de um tecido biológico é essencial a presença de células-tronco, de uma matriz que funcione como arcabouço para a proliferação dessas células e de proteínas sinalizadoras, denominadas fatores de crescimento, as quais funcionam como estímulo para diferenciação das células-tronco em determinada linhagem celular (15).

Ao longo dos últimos anos, a Odontologia começou a explorar o potencial da aplicação de células-tronco associada à engenharia tecidual para o reparo e regeneração das estruturas dentais. Está se tornando cada vez mais claro que essa abordagem terapêutica, conhecida como “Odontologia Regenerativa”, terá seu lugar na prática clínica da Odontologia no futuro (16).

Células-tronco

As células-tronco, também conhecidas como células progenitoras ou precursoras, são células indiferenciadas que possuem uma elevada capacidade de proliferação, assim como capacidade de autorrenovação e diferenciação em tipos celulares distintos (17, 18). Sendo assim, o papel principal das células-tronco é manter uma reserva constante de células progenitoras nos tecidos, as quais podem se diferenciar em células maduras especializadas de acordo com a necessidade do tecido considerado (19, 20).

A depender da origem das células-tronco, elas podem ser classificadas em células-tronco embrionárias ou adultas (21).

As células-tronco embrionárias são derivadas da massa interna de células de embriões que se encontram na fase de blastocisto, os quais têm tipicamente de quatro a cinco dias de idade e são obtidos a partir de óvulos fertilizados *in vitro*, doados para pesquisas. Essas células são consideradas totipotentes, ou seja, podem se diferenciar em qualquer outro tipo celular (22). No entanto, as questões éticas e religiosas sobre pesquisas envolvendo células-tronco embrionárias, assim como o perigo potencial de formação de teratomas, têm contribuído para limitar as pesquisas com esse tipo de célula (23).

As células-tronco adultas são consideradas multi ou pluripotentes, isto é, são capazes de se diferenciar em mais de um tipo celular, mas não em todos. Hoje, sabe-se que as células-tronco adultas estão presentes nos mais diversos sítios do organismo, tais como medula óssea, sangue, cordão umbilical, córnea, retina, fígado, pele, trato gastrointestinal, pâncreas e dentes (22). Essas células apresentam a vantagem de ser autogênicas, assim como são responsivas aos fatores de crescimento inerentes ao hospedeiro, o que permite sua proliferação e diferenciação em determinado tipo celular. No entanto, também apresentam desvantagens, como o fato de não serem totipotentes, a relativa dificuldade de obtê-las, purificá-las e cultivá-las *in vitro*, além da presença em menor quantidade destas células nos tecidos (24).

As células-tronco adultas ainda podem ser classificadas em células-tronco hematopoiéticas (CTH) ou mesenquimais (CTM) (25, 26). As CTH podem ser obtidas da medula óssea, do cordão umbilical e do sangue periférico, sendo responsáveis pela renovação de todo sistema sanguíneo e imunológico. As CTH são as células-tronco mais conhecidas, estudadas e, conseqüentemente, melhor caracterizadas até o momento (27).

As células-tronco mesenquimais (CTM) constituem-se em um dos mais promissores tipos de células-tronco por sua disponibilidade nos tecidos, capacidade de multidiferenciação, ausência de problemas éticos e/ou religiosos para sua utilização em pesquisas científicas e a não formação de teratomas (28). As primeiras CTM isoladas e caracterizadas foram obtidas da medula óssea (29). Hoje, sabe-se que essas células estão presentes em vários outros

tecidos e órgãos, tendo sido inclusive isoladas de tecidos orofaciais, como polpa de dentes permanentes e decíduos, ligamento periodontal, papila apical e germes dentários (8, 9, 30).

Diversos estudos vêm sendo realizados associando a Biologia Molecular e Celular à Odontologia, o que inclui o estudo de células-tronco de origem pulpar (8). O objetivo maior desses estudos é possibilitar o desenvolvimento de diferentes tecidos dentários e orofaciais, buscando repor total ou parcialmente os tecidos dentários (2-5).

Células-tronco pulpares

As células-tronco mesenquimais isoladas da polpa, tanto de dentes permanentes como de decíduos, apresentam a capacidade de se autorrenovar, assim como de se diferenciar em múltiplas linhagens celulares (31), como fibroblastos (8, 32), as células mais numerosas do tecido pulpar e principais componentes do tecido conjuntivo; osteoblastos, células que sintetizam a parte orgânica da matriz óssea e que são capazes de concentrar fosfato de cálcio, participando da mineralização do tecido ósseo; odontoblastos, responsáveis pela formação da dentina (33); condrócitos, células maduras encontradas nas cartilagens, além de miócitos, adipócitos, células neuronais, epiteliais, assim como células-tronco pluripotentes induzidas (3, 34).

A diferenciação de células-tronco adultas da polpa dental para uma linhagem celular específica é determinada principalmente pelos componentes do microambiente no qual elas estão inseridas, tais como fatores de crescimento, receptores moleculares, moléculas sinalizadoras, fatores de transcrição e proteínas da matriz extracelular (3, 31, 34).

A grande vantagem da utilização de células-tronco mesenquimais provenientes da polpa dental é o fácil acesso a essas células, tornando os dentes uma fonte não invasiva e livre de problemas éticos. Enquanto os dentes permanentes podem ser obtidos através da extração de terceiros molares e pré-molares com indicação ortodôntica, os dentes decíduos são naturalmente perdidos durante a transição entre as dentições decídua e permanente e, na maioria das vezes, descartados após a esfoliação fisiológica (10).

As células-tronco da polpa de dentes permanentes (DPSCs) foram isoladas pela primeira vez no

início dos anos 2000 (10). São células morfológicamente semelhantes aos fibroblastos, apresentam alta taxa de proliferação e capacidade de formar colônias, assim como são aderentes ao plástico (10, 35).

Da mesma forma que as DPSCs, as células-tronco da polpa de dentes decíduos esfoliados (SHEDs) apresentam características de células-tronco mesenquimais, como capacidade de autorrenovação e de multidiferenciação. Quando comparadas às DPSCs, as SHEDs apresentam uma taxa mais elevada de proliferação (36). De acordo com Nakamura et al. (37), as SHEDs apresentam uma expressão mais acentuada de fatores de crescimento como o FGF-2 (fator de crescimento de fibroblastos 2) e o TGF- α 2 (fator transformador de crescimento beta 2) em relação às DPSCs. Tais fatores podem exercer um papel crucial na regulação da proliferação, formação de matriz extracelular, diferenciação, migração e apoptose das células.

Apesar das DPSCs e das SHEDs expressarem marcadores de células-tronco mesenquimais, como STRO-1, CD44, CD73, CD90 e CD146, ainda não foi identificado um marcador de superfície específico ou um grupo de marcadores capaz de identificar tais células (7, 36, 38, 39). Por isso, as características biológicas também são levadas em conta quando isoladas do tecido pulpar (39).

Células-tronco e sua utilização na Odontologia

Devido à capacidade de multidiferenciação, as células-tronco mesenquimais de origem dental constituem uma alternativa viável para uso não só para a regeneração de tecidos dentais, mas também de ossos, tecido nervoso, tecido muscular, cartilagens, entre outros. Nos últimos anos, essas células, principalmente as células-tronco mesenquimais derivadas do tecido pulpar, têm sido utilizadas em numerosos estudos com o objetivo de avaliar seu potencial para futuras aplicações clínicas (4, 7, 10, 16, 39, 40).

Imensos benefícios seriam alcançados com a produção de tecidos biológicos como esmalte, dentina, polpa dentária, ligamento periodontal e tecido ósseo. A restauração de um dente cariado ou traumatizado com tecidos biológicos minimizaria problemas comuns a restaurações com materiais

odontológicos tradicionais (2, 4, 25). Dentes permanentes jovens que necessitam de apecificação devido à necrose pulpar decorrente de trauma ou cárie seriam beneficiados com a regeneração da polpa dental através da engenharia de tecidos com células-tronco, permitindo a completa formação radicular e a manutenção da vitalidade pulpar (41). A regeneração do tecido pulpar em dentes com raízes completamente formadas também seria bastante interessante, pois um dente sem vitalidade torna-se mais friável e, conseqüentemente, mais propenso a fraturas, sendo muitas vezes necessária a exodontia da unidade dentária algum tempo após o tratamento endodôntico (13, 42). Huang et al. (43), pela primeira vez, apresentaram evidências de que esse tipo de tratamento seria possível ao constatarem a formação de um complexo dentino-pulpar bem vascularizado em canais radiculares onde o tecido pulpar original foi previamente removido. Naquele estudo, DPSCs adicionadas a matrizes biodegradáveis foram introduzidas no espaço correspondente ao canal radicular de dentes humanos. Esse conjunto foi então transplantado para o dorso de camundongos imunodeprimidos e analisado após quatro meses.

Da mesma forma, em vários outros estudos utilizando células-tronco isoladas da polpa de dentes decíduos e permanentes foi detectada a formação de tecido semelhante ao pulpar, assim como tecido mineralizado com características similares à dentina (5, 16, 33, 44-46). Quando DPSCs, hidroxiapatita (HA) e fosfato tricálcico foram transplantados para o dorso de camundongos imunocomprometidos, observou-se diferenciação das mesmas em odontoblastos após quatro semanas. Após 16 semanas, as DPSCs foram capazes de produzir um tecido bastante semelhante ao complexo pulpo-dentinário, além de induzir as células do hospedeiro a participarem no processo reparativo/produtivo do órgão dentário (33).

Fatores de crescimento ou moléculas bioativas são proteínas capazes de se ligar às membranas celulares, desencadeando cascatas sinalizadoras e promovendo a diferenciação e proliferação celular, assim como a reparação tecidual (16). As células-tronco pulpares respondem a essas moléculas proliferando ou diferenciando em células maduras, como odontoblastos, células endoteliais, células neuronais, entre outras, a depender o fator envolvido (34, 47, 48). A matriz dentinária é considerada

um reservatório dessas moléculas, as quais são cruciais nos processos formativos e reparadores do complexo dentino-pulpar (16). Fatores de crescimento como fator de transformação do crescimento beta (TGF- α), proteína óssea morfogenética (BMP), fator de crescimento de fibroblastos (FGF), fator de crescimento semelhante à insulina (IGF) e fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) podem ficar “aprisionados” na dentina durante sua formação, sendo liberados durante o processo cariioso, pela ação dos ácidos bacterianos, promovendo a diferenciação de células progenitoras em odontoblastos e a formação de dentina terciária (49, 50).

Em vários estudos, DPSCs ou SHEDs foram implantadas no dorso de camundongos imunocomprometidos nas matrizes biodegradáveis no lugar do tecido pulpar previamente removido de “fatias” de dentes, indicando que esses fatores de crescimento podem ter sido liberados da dentina, promovendo a diferenciação das células-tronco pulpares em odontoblastos, assim como a formação de tecido mineralizado similar à dentina e tecido conjuntivo vascularizado muito semelhante à polpa dental (16, 44, 46). Quando DPSCs foram implantadas nas matrizes, mas fora de contato com a dentina, essas células não foram capazes de se diferenciar em odontoblastos (46).

Outra estratégia foi utilizada por Nakashima e Akamine (51) para promover a regeneração do complexo dentino-pulpar em cães. Os autores adicionaram células-tronco isoladas da polpa dos próprios animais, transduzidas com o fator de crescimento de diferenciação 11 (Gdf11) – o qual faz parte da grande família do TGF- α –, em matrizes biodegradáveis nas polpas amputadas dos mesmos. Após três meses, foi observada a formação de grandes quantidades de osteodentina e dentina tubular no local onde as células foram transplantadas.

Lovelace et al. (52) demonstraram que células-tronco mesenquimais podem ser colocadas dentro dos espaços do canal radicular, durante procedimentos endodônticos regenerativos em dentes jovens necrosados com ápices ainda abertos. O procedimento clínico consistiu na formação intracanal de um coágulo de sangue, através da sobreinstrumentação (3 a 5 mm) do canal radicular com uma lima do tipo Kerr. A amostra de sangue do canal foi analisada e verificou-se a expressão de marcadores de células-tronco mesenquimais, como CD73, CD90, CD105 e STRO-1, em uma quantidade maior quando

comparada à expressão desses marcadores no sangue periférico. Os autores acreditam que o coágulo sanguíneo agiria como uma matriz, as plaquetas e a dentina liberariam os fatores de crescimento necessários para a diferenciação celular e as células-tronco seriam derivadas dos tecidos periapicais. Esses achados fornecem a base biológica para a participação de células-tronco no desenvolvimento radicular contínuo e resposta regenerativa seguinte a tal procedimento clínico, a qual ainda deve ser avaliada.

Assim como outros órgãos, o dente se desenvolve a partir de interações entre células epiteliais (epitélio oral) e células mesenquimais (células ectomesenquimáticas que migram da crista neural). O tecido epitelial embrionário “instrui”, através da sinalização molecular, o início da formação do dente e a determinação da forma do mesmo (53). Na busca pela formação de um órgão dentário completo, Ohazama et al. (54) promoveram a interação de três fontes de células-tronco não dentais de camundongos (células-tronco embrionárias, neurais e da medula óssea) com o epitélio oral embrionário dos mesmos. O conjunto de células progenitoras e epitélio foi transplantado para sítios ectópicos nos animais. Todas as três populações de células-tronco responderam ao estímulo do epitélio oral, expressando genes de indução odontogênica. Entretanto, somente o conjunto formado por células-tronco da medula óssea e epitélio foi capaz de induzir a formação de um dente ectópico completo, com presença de polpa, pré-dentina, dentina, esmalte e um tecido similar ao ligamento periodontal.

Considerações finais

O desenvolvimento de um dente biológico que poderia ser reintegrado ao alvéolo dentário, exercendo suas funções normais no ambiente bucal, seria um avanço jamais imaginado há alguns anos. Os achados promissores de alguns estudos fazem que possa se considerar essa alternativa viável, apesar das grandes limitações já esperadas, tais como a determinação do tipo de dente, a morfogênese do mesmo, determinação dos mecanismos moleculares envolvidos, disponibilidade do epitélio odontogênico, controle do desenvolvimento e erupção do dente, vascularização da polpa dentária e regeneração nervosa, possível rejeição do tecido dentário desenvolvido por parte do hospedeiro, assim como

a possibilidade de conversão deste tecido dentário desenvolvido em um tecido diverso daquele esperado.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pelo apoio.

Referências

1. Baratieri LN. Odontologia restauradora: fundamentos e possibilidades. 1. ed. São Paulo: Quintessence; 2002.
2. Smith AJ. Tooth Tissue Engineering and Restoration: a Translational Vision. *J Dent Res.* 2004;83(7):517.
3. Yan X, Qin H, Qu C, Tuan R, Shi S, Huang GT. iPS cells reprogrammed from human mesenchymal-like stem/progenitor cells of dental tissue origin. *Stem Cells Dev.* 2010;19(4):469-80.
4. Murray PE, Garcia-Godoy F. Stem cell responses in tooth regeneration. *Stem Cells Dev.* 2004;13(3):255-62.
5. Duailibi MT, Duailibi SE, Young CS, Bartlett JD, Vacanti JP, Yelick PC. Bioengineered teeth from cultured rat tooth bud cells. *J Dent Res.* 2004;83(7):523-8.
6. Daltoé FP, Miguita L, Mantesso A. Terceira dentição: uma visão geral do seu desenvolvimento. *RGO Rev Gaúcha Odontol (Online).* 2010;58(3):387-92.
7. Shi S, Bartold PM, Miura M, Seo BM, Robey PG, Gronthos S. The efficacy of mesenchymal stem cells to regenerate and repair dental structures. *Orthod Craniofac Res.* 2005;8(3):191-9.
8. Kolya CL, Castanho FL. Células-tronco e a odontologia. *ConScientiae Saúde (Online).* 2007; 6(1):165-71.
9. Barry FP, Murphy JM. Mesenchymal stem cells: clinical applications and biological characterization. *Int J Biochem Cell Biol.* 2004;36(4):568-84.
10. Gronthos S, Mankani M, Brahim J, Robey PG, Shi S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSC) in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000;97(25):13625-30.
11. Kidd EAM. Microleakage: a review. *J Dent.* 1976;4(5):199-206.
12. PashleyHD. Clinical correlation of dentin structure and function. *J Prosthet Dent.* 1991;66(6):777-81.
13. Bhaskar SN. *Histologia e Embriologia Oral de Orban.* 10. ed. Porto Alegre: Artes Médicas; 1989.
14. Pashley DH, Liewehr FR. Estrutura e funções do complexo dentina-polpa, In: Cohen S, Hargreaves KM. *Caminhos da Polpa.* 9. ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2007.
15. Soares AP, Knop LAH, De Jesus AA, Araújo TM. Células-tronco em Odontologia. *R Dental Press Ortodon Ortop Facial.* 2007;12(1):33-40.
16. Casagrande L, Cordeiro MM, Nör SA, Nör JE. Dental pulp stem cells in regenerative dentistry. *Odontology.* 2011;99(1):1-7.
17. Fischbach GD, Fischbach RL. Stem cells: science, policy, and ethics. *J Clin Invest.* 2004; 114(10):1364-70.
18. van der Kooy D, Weiss S. Why stem cells. *Science.* 2000; 287(5457):1439-41.
19. Morrison SJ, Shah NM, Anderson DJ. Regulatory mechanisms in stem cell biology. *Cell.* 1997;88(3):287-98.
20. Junqueira LC, Carneiro J. *Biologia celular e molecular.* 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000.
21. Fortier LA. Stem cells: classifications, controversies, and clinical applications. *Vet Surg.* 2005;34(5):415-23.
22. Slack JM. Stem cells in epithelial tissues. *Science.* 2000;287(5457):1431-3.
23. Nakashima M. Bone morphogenetic proteins in dentin regeneration for potential use in endodontic therapy. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2005;16(3):369-76.
24. Risbud MV, Shapiro IM. Stem cells in craniofacial and dental tissue engineering. *Orthod Craniofac Res.* 2005; 8(2):54-9, 2005.
25. Nadig RR. Stem Cell therapy: Hype or hope? A review. *J Conserv Dent.* 2009;12(4):131-8.
26. Meirelles LS, Chagastelles PC, Nardi NB. Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs and tissues. *J Cell Sci.* 2006;119(11):2204-13.

27. Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL. Stem cells, cancer and cancer stem cells. *Nature*. 2001;414(1):105-11.
28. Meirelles LS, Caplan AI, Nardi NB. In search of the in vivo identity of mesenchymal stem cells. *Stem Cells*. 2008;26(9):2287-99.
29. Prockop DJ. Marrow stromal cells as stem cells for non-hematopoietic tissues. *Science*. 1997;276(5309):71-4.
30. Takeda T, Tezuka Y, Horiuchi M, Hosono K, Iida K, Hatekeyama D, et al. Characterization of dental pulp stem cells of human tooth germs. *J Dent Res*. 2008;87(7):676-81.
31. Estrela C, Alencar AHG, Kitten GT, Vencio EF, Gava E. Mesenchymal Stem Cells in the Dental Tissues: Perspectives for Tissue Regeneration. *Braz Dent J*. 2011;22(2):91-8.
32. Madan AK, Kramer B. Immunolocalization of fibroblast growth factor-2 (FGF-2) in the developing root and supporting structures of the murine tooth. *J Mol Histol*. 2005;36(3):171-8.
33. Batouli S, Miura M, Brahim J, Tsutsui TW, Fisher LW, Gronthos S, et al. Comparison of stem-cell-mediated osteogenesis and dentinogenesis. *J Dent Res*. 2004;82(12):976-81.
34. Stevens A, Zuliani T, Olejnik C, LeRoy H, Obriot H, Kerr-Conte J, et al. Human dental pulp stem cells differentiate into neural crest-derived melanocytes and have label-retaining and sphere-forming abilities. *Stem Cells Dev*. 2008;17(6):1175-84.
35. Gronthos S, Brahim J, Li W, Fisher LW, Cherman N, Boyde A, et al. Stem cell properties of human dental pulp stem cells. *J Dent Res*. 2002;81(8):531-5.
36. Miura M, Gronthos S, Zhao M, Fisher LW, Robey PG, Shi S. SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003;100(10):5807-12.
37. Nakamura S, Yamada Y, Katagiri W, Sugito T, Ito K, Ueda M. Stem cell proliferation pathways comparison between human exfoliated deciduous teeth and dental pulp stem cells by gene expression profile from promising dental pulp. *J Endod*. 2009;35(11):1536-42.
38. Bernardi L, Luisi SB, Fernandes R, Dalberto TP, Valentim L, Chies JAB, et al. The isolation of stem cells from human deciduous teeth pulp is related to the physiological process of resorption. *J Endod*. 2011;37(7):973-9.
39. Yan M, Yu Y, Zhang G, Tang C, Yu J. A journey from dental pulp stem cells to a bio-tooth. *Stem Cell Rev Rep*. 2011;1(7):161-71.
40. Demarco FF, Conde MCM, Cavalcanti BN, Casagrande L, Sakai VT, Nör JE. Dental pulp tissue engineering. *Braz Dent J*. 2011;22(1):3-14.
41. Nör JE. Tooth regeneration in operative dentistry. *Oper Dent*. 2006;31(6):633-42.
42. Caplan DJ, Cai J, Yin G, White BA. Root canal filled versus non root canal filled teeth: a retrospective comparison of survival times. *J Public Health Dent*. 2005;65(2):90-6.
43. Huang GT, Yamaza T, Shea LD, Djouad F, Kuhn NZ, Tuan RS, et al. Stem/progenitor cell-mediated de novo regeneration of dental pulp with newly deposited continuous layer of dentin in an in vivo model. *Tissue Eng Part A*. 2010;16(2):605-15.
44. Cordeiro MM, Dong Z, Kaneko T, Zhang Z, Miyazawa M, Shi S, et al. Dental pulp tissue engineering with stem cells from exfoliated deciduous teeth. *J Endod*. 2008;34(8):962-9.
45. Prescott RS, Alsanea R, Fayad MI, Johnson BR, Wenckus CS, Hao J, et al. In vivo generation of dental pulp-like tissue by using dental pulp stem cells, a collagen scaffold, and dentin matrix protein 1 after subcutaneous transplantation in mice. *J Endod*. 2008;34(4):421-6.
46. Demarco FF, Casagrande L, Zhang Z, Dong Z, Tarquino SB, Zeitlin BD, et al. Effect of morphogen and scaffold porogen on the differentiation of dental pulp stem cells. *J Endod*. 2010;36(11):1805-11.
47. Tzaifas D, Alvanou A, Papadimitriou S, Gasic J, Komnenou A. Effects of recombinant fibroblast growth factor, insulin-like growth factor-II and transforming growth factor- β 1 on dog dental pulp cells in vivo. *Arch Oral Biol*. 1998;43(6):431-44.
48. Sakai VT, Zhang Z, Dong Z, Neiva KG, Machado MAAM, Shi S, et al. SHED differentiate into functional odontoblasts and endothelium. *J Dent Res*. 2010;89(8):791-6.

49. Tziafas D. Basic mechanisms of cytodifferentiation and dentinogenesis during dental pulp repair. *Int J Dev Biol.* 1995, 39(1):281-90.
50. Murray PE, Smith AJ. Saving pulps - a biological basis. An overview. *Prim Dent Care.* 2002;9(1):21-6.
51. Nakashima M, Akamine A. The application of tissue engineering to regeneration of pulp and dentin in endodontics. *J Endod.* 2005;31(10):711-8.
52. Lovelace TW, Henry MA, Hargreaves KM, Diogenes A. Evaluation of the delivery of mesenchymal stem cells into the root canal space of necrotic immature teeth after clinical regenerative endodontic procedure. *J Endod.* 2010;37(2):133-8.
53. Thesleff I, Vaahtokari A, Partanen AM. Regulation of organogenesis. Common molecular mechanisms regulating the development of teeth and other organs. *Int J Dev Biol.* 1995;39(1):35-50.
54. Ohazama A, Modino SA, Miletich I, Sharpe PT. Stem-cell-based tissue engineering of murine teeth. *J Dent Res.* 2004;83(7):518-22.

Recebido: 25/09/2012

Received: 11/25/2012

Aprovado: 07/11/2012

Approved: 11/07/2012