

REVISÃO PRELIMINAR SOBRE A VIABILIDADE DE UTILIZAÇÃO DE CÉLULAS-TRONCO PROVENIENTES DE DENTES HUMANOS DECÍDUOS E PERMANENTES NA REGENERAÇÃO TECIDUAL

A PRELIMINARY REVIEW ON THE VIABILITY OF THE UTILIZATION OF STEM-CELLS DERIVED FROM DECIDUOUS AND PERMANENT HUMAN TEETH FOR TISSUE REGENERATION

Greyse Renata Hau^{1*}, Célia Maria Da Lozzo Lopes¹, Márcia Helena Baldani¹, Maria Cecília da Lozzo Garbelini¹, Cristiane Acco Pauletto¹, Gustavo André Leal¹, Paulo Alberto Abib Slusarz¹

^{1*} Autor para contato: Universidade Estadual de Ponta Grossa - UEPG, Departamento de Odontologia, Campus em Uvaranas, Ponta Grossa, PR, Brasil; (47) 3642-1711 e (47) 9116-5940; e-mail: greyserenata@yahoo.com.br

Recebido para a publicação em 22/03/2006

Aceito para a publicação em 05/05/2006

RESUMO

As pesquisas sobre a possibilidade de utilização de células-tronco com finalidade terapêutica têm se mostrado promissoras, porém têm encontrado barreiras legais e éticas, uma vez que pressupõem a utilização de embriões humanos. Dessa forma, alternativas que utilizem células-tronco de tecidos adultos têm sido buscadas e os dentes decíduos e permanentes são alternativas importantes. Com o objetivo de verificar o estágio de conhecimento atual sobre as possibilidades de utilização de células-tronco de dentes para a regeneração tecidual, realizou-se um levantamento bibliográfico através de consulta à base de dados *MEDLINE*, *LILACS* e *BBO*, utilizando-se como palavras-chave os termos: células-tronco, polpa dentária, dente, regeneração tecidual. Foram obtidos 43 artigos que foram submetidos a análise. Os resultados indicaram que a polpa de dentes decíduos e permanentes contém uma população de células-tronco adultas pluripotentes, semelhantes àquelas da medula óssea, capazes de proliferação extensiva e que podem se diferenciar e dar origem a tecidos semelhantes ao adiposo e nervoso, dependendo do agente indutor, além de dentina. As células-tronco de dentes decíduos naturalmente esfoliados são semelhantes em muitos aspectos às do cordão umbilical, representando uma população mais primitiva de células-tronco, as quais também apresentaram a capacidade de induzir osteogênese nos tecidos próximos. Com base na literatura corrente, pode-se concluir que as células-tronco de origem dentária constituem uma alternativa viável para a regeneração tecidual. Pela facilidade de obtenção, os dentes decíduos esfoliados seriam uma fonte ideal de

células-tronco para reparar estruturas dentárias comprometidas, induzir regeneração óssea e possivelmente, tratar injúrias de tecido nervoso ou doenças degenerativas.

Palavras-chave: células-tronco, polpa dentária, dentes, regeneração tecidual

ABSTRACT

Research on the possibility of the use of stem-cells with a therapeutical purpose has proved to be promising; however, it has met legal and ethical barriers because it presupposes the use of human embryos. Therefore, alternatives that use stem-cells from adult tissues have been searched for, and deciduous and permanent teeth are important alternatives. With the objective of verifying the present stage of knowledge on the possibilities of the use of tooth stem-cells for tissue regeneration, a bibliographical survey was performed through a consultation of the MEDLINE, LILACS and BBO data base, using the terms: stem-cells, dental pulp, teeth, and tissue regeneration as key words. We found forty-three articles, which were submitted to analysis. The results showed that deciduous and permanent dental pulps contain a population of pluripotential adult stem-cells, similar to those of the bone marrow, capable of extensive proliferation and that can differentiate and give origin to cells such as the ones of adipose and nervous tissues, as well as dentine, depending on the inductive agent. The stem-cells of naturally exfoliated deciduous teeth are similar, in many aspects, to those of the umbilical cord, representing a more primitive population of stem-cells, which also present the capacity to induce orthogenesis in nearby tissues. The current literature evinces that stem-cells of dental origin offer a viable alternative for tissue regeneration. Because they are easy to obtain, exfoliated deciduous teeth would be an ideal source of stem-cells for repairing jeopardized dental structures, induce osseous regeneration, and possibly, treat injuries of the nervous tissue or degenerative illnesses.

Key words: stem-cells, dental pulp, teeth, tissue regeneration

Introdução

Células-tronco são células indiferenciadas definidas pela capacidade de auto-renovação e diferenciação em células maduras. São classificadas segundo seu potencial de desenvolvimento em totipotentes, pluripotentes, multipotentes e unipotentes. Um ovócito fertilizado e um blastômero (até o estágio embrionário de 8 células) são considerados totipotentes, porque podem diferenciar e gerar um organismo completo. As células pluripotentes podem proliferar indefinidamente para gerar todo tecido do embrião. As multipotentes dão

origem a uma linhagem celular específica, e as unipotentes formam somente um único tipo celular maduro (Boheler, K. R. *et al.*, 2002; Lo, K. C. *et al.*, 2003; Raff, M, 2003; Wagers, A. J.; Weissmann, I. L., 2004).

A utilização de células-tronco pode representar uma alternativa terapêutica para muitas doenças, como diabetes, anomalias congênitas, injúrias do tecido nervoso, mal de Parkinson, Alzheimer e outras alterações degenerativas, exposições pulpares, defeitos periodontais e a perda do órgão dentário (Miura, M. *et al.*, 2003; Rippon, H. J.; Bishop, A. E, 2003).

Em 1981, as primeiras células-tronco embrionárias pluripotentes foram isoladas por cultura *in vitro*, derivadas do interior da massa celular de blastocistos de ratos (Wagers, A. J.; Weissmann, I. L., 2004). Contudo, somente em 1998, a equipe do biólogo James Thomson conseguiu isolar células-tronco embrionárias humanas (Thomson, J. A., *et al.* 1998).

Em 1998 também foi publicado o primeiro relato sobre plasticidade de células-tronco adultas, contestando a opinião antiga de que essas células seriam de linhagem restrita em mamíferos. Tais estudos foram importantes, uma vez que a produção de células-tronco embrionárias humanas apresenta restrições legais e éticas por envolver a destruição de embriões humanos. Esse dilema ético, bem como um possível potencial oncogênico, tem levado a muitas críticas. A utilização de células-tronco adultas com finalidade terapêutica evitaria o problema ético e também teria duas vantagens adicionais (Raff, M, 2003): a) como as células poderiam ser isoladas do próprio paciente, isso evitaria o problema de rejeição imunológica; b) reduziria o risco de formação de tumor, que ocorre com alta frequência quando células-tronco ou germinativas embrionárias de rato são transplantadas para ratos adultos histocompatíveis (Martim, G. R, 1980; Smith, A. G, 2001).

As células-tronco adultas podem ser isoladas de muitos tecidos e órgãos, incluindo medula óssea, pele, fígado, intestino, pâncreas, espermatogônias, sistema nervoso central, músculo esquelético, cardíaco, polpa dental e ligamento periodontal (Barry, F. P.; Murphy, J. M, 2004; Raff, M, 2003; Wagers, A.J.; Weissman, I. L, 2004).

Este trabalho tem por objetivo apresentar uma revisão de literatura preliminar, abordando as possibilidades de utilização das células-tronco adultas de origem dentária na regeneração tecidual. Verificando o potencial

das células-tronco dentárias, seu perfil genético e os mecanismos extra e intracelulares que determinam seu destino, bem como possíveis vantagens na sua utilização para a terapia celular e outras formas de tratamento regenerativo.

Material e métodos

Foi realizado um levantamento bibliográfico sobre as possibilidades de utilização de células-tronco de origem dentária para a regeneração tecidual. Foram consultados livros-texto contemporâneos de Histologia e Embriologia Oral, Biologia Celular e Molecular, e as bases de dados *MEDLINE* (*Medical Literature Analysis and Retrieval System on Line*), *LILACS* (Literatura Latino-americana e do Caribe em Ciências da Saúde) e *BBO* (Bibliografia Brasileira de Odontologia). As estratégias de busca incluíram, entre outros, os termos: células-tronco, polpa dentária, dente, regeneração tecidual, sendo selecionados os textos redigidos em português, espanhol e inglês, publicados a partir de 1993, referentes a estudos experimentais *in vivo* ou *in vitro*.

Resultados e discussão

Obtiveram-se 43 artigos que foram submetidos à análise. Foram localizados cinco artigos que investigaram as possibilidades de células-tronco de dentes originarem tecidos não dentários, cujas características metodológicas e desfechos estão resumidos no quadro 1.

Quadro 1 - Características metodológicas e resultados dos estudos experimentais sobre células tronco de dentes e formação de tecidos não dentários.

Artigo	Tipo de estudo	Localização das células tronco	Tecidos/ células formados (as)
Gronthos <i>et al.</i> , 2000	Experimental <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>	Polpa dentária de 3 ^{os} molares humanos	Complexo dentina-polpa
Gronthos <i>et al.</i> , 2002	Experimental <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>	Polpa dentária de 3 ^{os} molares humanos	Complexo dentina-polpa; adipócitos; células neurais
Miura <i>et al.</i> , 2003	Experimental <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>	Polpa dentária de dentes decíduos esfoliados	Dentina (sem polpa); adipócitos; células neurais; indução de osteogênese no hospedeiro
Seo <i>et al.</i> , 2004	Experimental <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>	Ligamento periodontal de 3 ^{os} molares humanos	Cemento/ ligamento periodontal; adipócitos
Reynolds <i>et al.</i> , 2004	Experimental <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>	Papila dentária e folículos pilosos de ratos recém natos e com 3 semanas; polpa dentária de molares humanos permanentes	Restabelecimento dos folículos pilosos e crescimento do pelo para ambos; indução de tecido ósseo no hospedeiro a partir da papila dentária de ratos

Células-tronco adultas foram localizadas na polpa de dentes decíduos e permanentes, bem como no ligamento periodontal humano (Gronthos, S. *et al.*, 2000; Seo, B. M., 2004; Smith, A. G., 2001). O mesênquima que preenche a região de face é diferenciado por conter uma população de células que migraram da crista neural durante as fases precoces do desenvolvimento embrionário, sendo denominado ectomesênquima (Berkovitz, B.K.B.; Holland, G.R.; Moxham, B.J., 2004; Chai, Y.; Slavkin, H.C., 2003; Ten Cate, A. R., 2001; Thesleff, I., 2003). As células da crista neural são células-tronco multipotentes que contribuem extensivamente para o desenvolvimento dos vertebrados e dão origem a vários tipos de células e tecidos (Chai, Y. *et al.*, 2000). Durante o desenvolvimento craniofacial precoce, as células da crista neural em migração povoam a maior parte do mesênquima do 1^o arco branquial.

O desenvolvimento dental requer interações recíprocas entre dois tecidos de diferentes origens, o epitélio oral e o ectomesênquima (Berkovitz, B.K.B.; Holland, G.R.; Moxham, B.J., 2004; Chai, Y.; Slavkin, H.C., 2003; Ten Cate, A. R., 2001). A comunicação celular é regulada por genes específicos que determinam a posição, forma ou número dos dentes, sendo mediada por pequenos sinais moleculares que são enviados a

células próximas e afetam tanto seu comportamento como a evolução da diferenciação. Há muitos tipos de sinais e receptores específicos que formam uma complicada rede de sinalização (Alberts, B. *et al.*, 2004; Kierszenbaum, A. L., 2004; Thesleff, I.; Tummers, M., 2003). Recentes estudos têm identificado os fatores regulatórios que regem as interações celulares, os quais incluem quatro principais famílias de proteínas: 1. Família do fator de crescimento de fibroblastos (*FGF*). 2. Família Hedgehog (*Shh*). 3. Família Wingless (*Wnt*). 4. Superfamília do fator de crescimento transformador α (*TGF- α*), a qual inclui as proteínas morfogenéticas ósseas (*BMP*) (Berkovitz, B.K.B.; Holland, G.R.; Moxham, B. J., 2004; Nakashima, M.; Reddi, A. H., 2003). No complexo craniofacial, essas famílias governam a padronização e morfogênese do dente e das estruturas periodontais associadas, incluindo osso alveolar, cimento, ligamento periodontal e gengiva.

Células derivadas da crista neural contribuem para a formação da papila dentária, odontoblastos, matriz dentinária, polpa, cimento, ligamento periodontal, condrócitos da cartilagem de Meckel, mandíbula, disco articular da ATM e nervos do arco branquial (Berkovitz, B.K.B.; Holland, G.R.; Moxham, B. J., 2003; Chai, Y. *et al.*, 2000; Chai, Y.; Slavkin, H.C.,

2003; Thesleff, I.; Tummers, M, 2003).

Pesquisas recentes desenvolvidas por um grupo do *National Institute of Dental and Craniofacial Research* (NIDCR), EUA, demonstraram a existência de células-tronco adultas que mantêm grande capacidade de diferenciação, na polpa de dentes decíduos e permanentes bem como no ligamento periodontal. Esse grupo de pesquisadores desenvolveu um protocolo para isolamento e cultura de células-tronco de dentes, e comparação com células-tronco da medula óssea (Gronthos, S. *et al.*, 2000; 2002; Miura, M. *et al.*, 2003; Seo, B. M, 2004). Segundo este protocolo, as células-tronco após serem separadas da matriz extracelular da polpa e do ligamento, bem como da medula óssea, foram semeadas em placas que continham meio de cultura específico, incubado a 37° C em 5% de CO₂ por 14 dias, fixadas e coradas, para verificar a capacidade de proliferação e formação de colônias, sendo consideradas colônias quando apresentavam mais de cinquenta células agregadas. Depois de transplante em ratos imunocomprometidos, as células foram submetidas às condições necessárias para a indução de deposição de matriz calcificada. O acúmulo de cálcio foi detectado através do corante Alizarina (pH 4.2) e a concentração do cálcio foi medida usando um kit comercial. Substâncias específicas foram utilizadas para induzir a formação de tecido adiposo e neural.

Gronthos *et al.*, (2000) identificaram uma população de supostas células-tronco pós-natais em polpa de terceiros molares humanos. A origem e localização precisa dessas células ainda não são totalmente conhecidas devido à falta de marcadores específicos para estudá-las. Entretanto, é possível que elas estejam associadas com o sistema vascular (Gronthos, S. *et al.*, 2000; Shi, S.; Gronthos, S, 2003). Liu *et al.*, (2004) demonstraram que existem células-tronco tanto na polpa coronária quanto na radicular de dentes permanentes humanos, porém a densidade delas é maior na polpa radicular. Os autores relataram que as células-tronco da polpa radicular possuem mais capacidade proliferativa, mais eficiência de adesão, maior viabilidade e maior habilidade indutiva de mineralização do que as da polpa coronária (Liu, S. H, 2004). A característica mais notável observada por Gronthos *et al.*, (2000) foi à capacidade destas células de regenerar um complexo semelhante à dentina-polpa, composto de matriz mineralizada com túbulos e odontoblastos

alinhados e tecido fibroso contendo vasos sanguíneos em um arranjo semelhante ao do complexo dentina-polpa encontrado no dente humano normal.

Estudos prévios demonstraram que, como os odontoblastos, as células da polpa expressam marcadores ósseos como sialoproteína óssea, fosfatase alcalina, colágeno tipo I e osteocalcina (Buchaille, R. *et al.*, 2000; Butler, W. T, 1997; Buurma, B.; Gu, K.; Rutherford, R.B, 1999; Kuo, M. Y. *et al.*, 1992; Nakashima, M. *et al.*, 2003; Shiba, H. *et al.*, 1998; Wagers, A.J.; Weissman, I. L, 2004). Sua diferenciação é regulada por vários marcadores da formação óssea, incluindo membros da superfamília TGF β e citocinas (Kettunen, P, 1998; Onishi, T, 1999; Shiba, H, 1998). A semelhança do perfil de expressão genética entre células-tronco de polpa dentária e os precursores dos osteoblastos, que são as células-tronco da medula óssea, foi recentemente relatada por SHI *et al.*, (2001).

As células-tronco da medula óssea têm sido definidas, por estudos *in vivo* e *in vitro*, como células-tronco adultas pluripotentes. Elas possuem a capacidade de se diferenciarem em vários tipos de células como osteoblastos, condrócitos, adipócitos, células musculares e nervosas. Em contraste, as células-tronco da polpa dentária não foram ainda extensamente estudadas.

A partir de transplante de células-tronco de polpa de dentes permanentes, Gronthos *et al.*, (2002) obtiveram um tecido conjuntivo semelhante ao complexo dentina-polpa, sem uma medula hematopoiética ativa. O transplante equivalente de células-tronco da medula óssea foi composto de osso ectópico, realizando seu ciclo normal de renovação, demonstrado pela presença de osteoclastos na superfície óssea regenerada, hematopoiese e adipogênese ativas. Estas não estavam presentes nos transplantes de células-tronco da polpa. A microscopia eletrônica demonstrou que as células-tronco de polpa formaram uma matriz mineralizada com padrão globular de calcosferitos semelhantes à dentina primária, e diferente daquela vista no osso ectópico lamelar observado no transplante de células tronco de medula óssea.

Para verificar o potencial de auto-renovação, os autores reisolaram células-tronco desses primeiros transplantes de células dentárias, após três meses. Os resultados demonstraram que as células-tronco da polpa dentária são capazes de auto-renovação após transplante *in vivo*. Teoricamente, essas células são ca-

pazes de responder a sinais específicos do meio e gerar novas células-tronco ou selecionar um programa de diferenciação particular. Suas observações forneceram evidências preliminares que sugerem que as células-tronco de polpa transplantadas podem não apenas dar origem à linhagem odontoblástica, mas também reside no tecido conjuntivo pulpar com células semelhantes a fibroblastos até cinco meses após o transplante. É possível que essas células semelhantes a fibroblastos pertençam a uma população de células de reserva mais primitivas, responsáveis pela formação de dentina no transplante secundário.

Gronthos *et al.*, (2002) também estudaram o potencial de diferenciação de células-tronco de polpa em adipócitos e células nervosas. Apesar de parecer provável que muitos tipos celulares diferentes residem no tecido pulpar, os adipócitos não são um componente normal na polpa dentária. Gronthos *et al.*, (2000) inicialmente relataram que as células-tronco da polpa eram incapazes de desenvolver adipócitos após tratamento com o glicocorticóide dexametasona. No estudo seguinte, (Gronthos, S. *et al.*, 2004) estes autores relatam que um meio de cultura indutor de adipogênese mais potente pode induzi-las a formar adipócitos característicos. Após cinco semanas de cultura com o coquetel indutor de adipogênese, grupos de lipídeos foram identificados nas culturas dessas células. Os autores também demonstraram que as células-tronco da polpa expressaram nestina e *GFAP*, respectivamente marcadores neurais e de células da glia. Recentemente, foi relatado que células-tronco neurais foram isoladas da derme, (Toma, J. G. *et al.*, 2001) tecido que contém abundantes fibras nervosas. A polpa dentária também contém fibras nervosas proeminentes, as quais penetram nos túbulos dentinários. Relatos prévios haviam fornecido evidências de que nestina e *GFAP* puderam ser detectadas em células pulpares, (About, I. *et al.*, 2000; Davison, R. M, 1994) as quais seriam capazes de produzir neurotrofinas (Nosrat, L. V, 2001). Tais resultados sugerem que as células-tronco de polpa são semelhantes a outras populações de células-tronco por possuírem habilidade de desenvolver diversos fenótipos.

O estudo de Gronthos *et al.*, (2002) também sugere uma hierarquia de células progenitoras na polpa dental adulta, a qual inclui uma população menor de células-tronco auto-renovadoras, altamente proliferativas e multi-potentes, entre um compartimento maior

de células progenitoras mais comprometidas. O conceito de uma hierarquia na diferenciação celular foi previamente descrito para outras populações de células-tronco, como as da medula óssea (Kusnetsov, S. A, 1997).

Miura *et al.*, (2003) isolaram uma população de células-tronco multipotentes do remanescente pulpar de dentes decíduos esfoliados, demonstrando que essas células são diferentes das células-tronco dos dentes permanentes com relação à maior taxa de proliferação, maior número de divisões celulares, formação de colônias, capacidade de osteoindução in vivo e não formação de tecido semelhante ao complexo dentina-polpa. Em face desses resultados, os autores sugerem que as células-tronco de dentes decíduos representam uma população de células multipotentes que seriam mais imaturas do que as populações de células-tronco mesenquimáticas pós-natais previamente examinadas.

As células-tronco dos dentes decíduos demonstraram uma forte capacidade de induzir formação óssea in vivo (Miura, M. *et al.*, 2003). De acordo com a investigação dos autores, essas células não puderam se diferenciar diretamente em osteoblastos nos transplantes, mas induziram nova formação óssea atraindo células osteogênicas hospedeiras.

Marcadores neuronais e de células glias também foram expressos por células-tronco de dentes decíduos (Miura, M. *et al.*, 2003), os quais podem estar relacionados com a origem da crista neural da polpa dental demonstrada por Chai *et al.*, (2000). Células da crista neural desempenham um papel importante no desenvolvimento embrionário, dando origem a uma variedade de tipos celulares como células nervosas, células pigmentares, músculo liso, cartilagem e osso craniofacial (Labonne, C, 1999). Estudos prévios demonstraram que as células-tronco da medula óssea também foram capazes de se diferenciarem em células semelhantes ao tecido nervoso, após transplante in vivo (Azizi, S. A, 1998). É conhecido que as células da polpa dental produzem fatores neurotróficos e até mesmo resgatam neurônios motores após injúria da medula espinhal (Nosrat, I. V, 2001). Mais ainda: progenitores neurais foram identificados recentemente na derme de mamífero (Toma, J. G. *et al.*, 2001). Estas evidências suportam a noção de que células-tronco de tecidos não neurais podem ser capazes de se diferenciar em células neurais.

Concluindo, o estudo de Miura *et al.*, (2003) fornece evidência de que as células-tronco de dentes

decíduos representam uma população de células-tronco pós-natais capazes de proliferação extensiva e diferenciação multipotencial. Portanto, os autores sugerem que os dentes decíduos esfoliados, pela facilidade de obtenção, podem ser uma fonte ideal de células-tronco para reparar estruturas dentárias comprometidas, induzir regeneração óssea e possivelmente, tratar injúrias de tecido nervoso ou doenças degenerativas.

Em 2004, Seo *et al.*, constataram que o ligamento periodontal humano também contém uma população de células-tronco multipotentes pós-natais que podem ser isoladas e expandidas *in vitro*. Em meios de cultura apropriados, elas podem diferenciar-se em células semelhantes à cementoblastos, adipócitos e células formadoras de colágeno. Quando transplantadas para roedores imunocomprometidos, elas mostraram a capacidade de gerar uma estrutura como cemento e ligamento periodontal e contribuir para o reparo dos tecidos periodontais.

Reynolds e Jahoba (2004) desenvolveram um estudo que teve por objetivo medir a capacidade indutora de mesênquima dentário, de diferentes espécies e idades de mamíferos, para regeneração de folículo piloso. Foram utilizadas células da papila dentária de ratos recém-natos e com 3 semanas de vida, bem como polpa dentária de molares humanos permanentes. Estes tecidos foram implantados em folículos pilosos cirurgicamente inativados, e posteriormente transplantados em cápsula renal de ratos imunocomprometidos. O ectomesênquima de ambas as origens interagiu com o epitélio do folículo para regenerar novos bulbos terminais e criar fibras capilares. No entanto, também ocorreu mineralização e formação de osso nos transplantes compostos de papila dentária dos ratos. Concluíram que as células de tecido dental, após o nascimento, retêm sinais moleculares indutivos que devem ser comuns a dentes e folículos capilares. Esses achados têm relevância para biologia de célula-tronco, crescimento de cabelo, reparação tecidual e outras biotecnologias.

Conclusões

Com base na literatura corrente, pode-se concluir que as células-tronco de origem dentária constituem

uma alternativa viável para a regeneração tecidual. A obtenção de dentes decíduos esfoliados, a qual não envolve os aspectos éticos e legais referentes à obtenção de células-tronco dos demais tecidos, faz com que estes sejam uma fonte ideal de células-tronco para reparar estruturas dentárias comprometidas, induzir regeneração óssea e possivelmente, tratar injúrias de tecido nervoso ou doenças degenerativas.

REFERÊNCIAS

1. ABOUT, I.; BOTTERO, M. J.; D'DENATO, B.; CAMPOS, J.; FRANQUIM, J. C.; MITSADIS, T. A. et al. Human dentin production in vitro. **Exp Cell Res**, v. 258, p. 33-41, 2000.
2. ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. **Biologia molecular da célula**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.
3. AZIZI, S.A.; STOKES, D.; AUGELLI, B. J.; DIGIROLAMO, C.; PROCKOP, D. J. Engraftment and migration of human bone marrow stromal cells implanted in the brains of albino rats-similarities to astrocyte grafts. **Proc Natl Acad Sci**, v. 95, p. 3908-3913, 1998.
4. BARRY, F.P.; MURPHY, J.M. Mesenchymal stem cells: clinical applications and biological characterization. **Int J Biochem Cell Biol**, v. 36, n. 4, p.568-84, Apr. 2004.
5. BERKOVITZ, B. K. B.; HOLLAND, G. R.; MOXHAM, B. J. **Anatomia, embriologia e histologia bucal**. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.
6. BOHELER, K. R., et al. Differentiation of pluripotent embryonic stem cells into cardiomyocytes. **Circ. Res.**, v. 91, 2002.
7. BUCHAILLE, R.; COUBLE, M. L.; MAGLORIE, H.; BLEICHER, F. Expression of the small leucine-rich proteoglycan osteoadherin/osteomodulin in human dental pulp and developing rat teeth. **Bone**, v. 27, p. 265-270, 2000.
8. BUTLER, W.T.; RITCHIE, H.H.; BRONCKERS, A.L. Extracellular matrix proteins of dentine. **Ciba Found Symp**, v. 205, p. 107-115, 1997.
9. BUURMA B.; GU, K.; RUTHERFORD, R.B. Transplantation of human pulpal and gingival fibroblasts attached to synthetic scaffolds. **Eur J Oral Sci**, v. 107, p. 282-289, 1999.
10. CHAI, Y.; JIANG, X.; ITO, Y.; BRINGAS, J. R. P.; HAN, J.; ROWITH, D. H. et al. Fate of the mammalian cranial neural crest during tooth and mandibular morphogenesis. **Development**, v. 127, p. 1671-1679, 2000.
11. CHAI, Y.; SLAVKIN, H.C. Prospects for tooth regeneration in the 21st Century: a perspective. **Microscopy Research and Technique**, v. 60, p.469-479, 2003.

12. DAVIDSON, R.M. Neural form of voltage-dependent sodium current in human cultured dental pulp cells. **Arch Oral Biol**, v. 39, p. 613-620, 1994.
13. GRONTHOS, S.; MANKANI, M.; BRAHIM, P.; ROBEY, P.G.; SHI, S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) *in vitro* and *in vivo*. **PNAS**, v. 97, n. 25, p. 13625-13630, December 2000.
14. GRONTHOS, S.; BRAHIM, J.; LI, W.; FISCHER, L. W.; CHERMAN, N.; BOYDE, A.; DENBESTEN, P.; ROBEY, P. G.; SHI, S. Stem cell properties of human dental pulp stem cells. **J. Dent Res.**, v. 81, n. 8, p. 531- 535, 2002.
15. KETTUNEN, P.; KARAVANOVA, I.; THESLEFF, I. Responsiveness of developing dental tissues to fibroblast growth factors: expression of splicing alternatives of FGFR1, -2, -3, and of FGFR4; and stimulation of cell proliferation by FGF2, -4, -8, and -9. **Dev Genet**, v.22, p. 374-385, 1998.
16. KIERSZENBAUM, A. L. **Histologia e biologia celular: uma introdução à patologia**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004.
17. KUO, M. Y.; LAN, W. H.; LIN, S. K.; HAHN, L. J. Collagen gene expression in human dental pulp cell cultures. **Arch Oral Biol**, v. 37, p. 945-952, 1992.
18. KUSNETSOV, S. A.; KREBSBACH PH; SATOMURA K; KERR J; RIMINUCCIM; BENAYAHU D et al. Single-colony derived strains of human marrow stromal fibroblasts form bone after transplantation *in vivo*. **J Bone Miner Res**, v. 12, p. 1335-1347, 1997.
19. LABONNE, C.; BRONNER-FRASER, M. Molecular mechanisms of neural crest formation. **Annu. Rev. Cell Dev. Biol.**, v. 15, p. 81-112, 1999.
20. LIU, S.H.; WEI, F. C.; SUN, S. Z.; ZHANG, C. Y.; LIU, Y. S. The characteristics of cultured dental pulp cells and the localization of dental pulp stem cells. **Shanghai Kou Qiang Yi Xue**, v. 13, n. 2, p. 106-109, April 2004.
21. LO, K. C.; CHUANG, W. W.; LAMB, D. Stem cell research: the facts, the myths and the promises. **The Journal of Urology**, v. 170, p. 2453- 2458, December 2003.
22. MARTIM, G. R. Teratocarcinomas and mammalian embryogenesis. **Science**, v. 209, p. 768- 776, 1980.
23. MIURA, M.; GRONTHOS, S.; ZHAO, M.; LU, B.; FISHER, W.; ROBEY, P. G.; SHI, S. SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. **PNAS**, v. 100, n. 10, p. 5807-5812, May 2003.
24. NAKASHIMA, M.; REDDI, A. H. The application of bone morphogenetic proteins to dental tissue engineering. **Nature Biotechnology**, v. 21, n. 9, p. 1025-1032, Sept. 2003.
25. NAKASHIMA, M. Tachibana K; Iohara K; Ito M; Ishikawa M; Akamine A. Induction of reparative dentin formation by ultrasound-mediated gene delivery of growth/differentiation factor 11. **Hum Gene Ther**, v. 14, n. 6, p. 591-597, Apr. 2003.
26. NOSRAT, I.V. Dental pulp cells produce neurotrophic factors, interact with trigeminal neurons *in vitro*, and rescue motoneurons after spinal cord injury. **Dev Biol**, v. 238, p. 120-132, 2001.
27. ONISHI, T.; KINOSHITA, S.; SHINTANI, S.; SOUBE, S.; OOSHIMA, T. Stimulation of proliferation and differentiation of dog dental pulp cells in serum-free culture medium by insulin-like growth factor. **Arch Oral Biol**, v. 44, p. 361-371, 1999.
28. RAFF, M. Adult stem cell plasticity: fact or artifact? **Annu. Rev. Cell Dev. Biol.**, v. 19, p. 1-22, June 2003.
29. REYNOLDS, A.J.; JAHODA, C.A. Cultured human and rat tooth papilla cells induce hair follicle regeneration and fiber growth. **Differentiation**, v. 72, n. 9-10, p. 566-575, Dec 2004.
30. RIPPON, H. J.; BISHOP, A. E. Embryonic stem cells. **Cell Prolif.**, v. 37, p. 23- 34, 2003.
31. SEO, B.M; MIURA, M.; GRONTHOS, S.; BARTOLD, P. M.; BATOULI, S.; BRAHIM, J. et al. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. **Lancet**, v. 364, p. 149-155, July 2004.
32. SHI, S.; ROBEY, P.G.; GRONTHOS, S. Comparison of human dental pulp and bone marrow stromal stem cells by DNA microarray analysis. **Bone**, v. 29, p. 532-539, 2001.
33. SHI, S., GRONTHOS, S. Perivascular niche of postnatal mesenchymal stem cells in human bone marrow and dental pulp. **J Bone Miner Res**, v. 18, n. 4, p. 696-704, April 2003.
34. SHIBA, H.; FUJITA, T.; DOI, N.; NAKAMURA, S.; NAKANISHI, K.; TAKEMOTO, T. et al. Differential effects of various growth factors and cytokines on the syntheses of DNA, type I collagen, laminin, fibronectin, osteonectin/secreted protein, acidic and rich in cysteine (SPARC), and alkaline phosphatase by human pulp cells in culture. **J. Cell Physiol.**, v. 174, p. 194-205, 1998.
35. SMITH, A. G. Embryo-derived stem cells: of mice and men. **Annu. Rev. Cell Dev. Biol.**, v. 17, p. 435-462, 2001.
36. TEN CATE, A.R. **Histologia Bucal**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001, 439p.
37. THESLEFF, I. Developmental biology and building a tooth. **Quintessence internacional**, v. 34, n. 8, p. 613-620, 2003.
38. THESLEFF, I.; TUMMERS, M. Stem cells and tissue engineering: prospects for regenerating tissues in dental practice. **Med Princ Pract**, v. 12, Supl 1, p. 43-50, 2003.
39. THOMSON, J. A., et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. **Science**, v. 282, p. 1145- 1147, 1998.
40. TOMA J.G; AKHAVAN, M.; FERNANDES, K.J.; BARNABE-HEIDER, F.; SADIKOT, A.; KAPLAN, D. R. et al. Isolation of multipotent adult stem cells from the dermis of mammalian skin. **Nat Cell Biol**, v. 3, p. 778-784, 2001.
41. TSUKAMOTO, Y.; FUKUTANI, S.; SHIN-IKE, T.; KUBOTA, T.; SATO, S.; SUZUKI, Y. et al. Mineralized nodule

formation by cultures of human dental pulp-derived fibroblasts. **Arch Oral Biol**, v. 37, p.1045-1055, 1992.

42. TUMMERS, M.; THESLEFF, I. Root or crown: a developmental choice orchestrated by differential regulation

of the epithelial stem cell niche in the tooth of two rodent species, **Developmental**, v. 130, 1049-1057, 2002.

43. WAGERS, A. J.; WEISSMAN, I. L. Plasticity of adult stem cells. **Cell**, v. 116, p. 639-648, March 2004.