CDD: 617.693

LEVANTAMENTO PRELIMINAR SOBRE A POSSIBILIDADE DE OBTENÇÃO DE DENTES DE REPOSIÇÃO A PARTIR DE CÉLULAS-TRONCO

PRELIMINARY SURVEY ON THE POSSIBILITIES OF ATTAINMENT OF SPARE TEETH THROUGH STEM-CELLS

Greyse Renata Hau[1*], Célia Maria Da Lozzo Lopes[1], Márcia Helena Baldani[1], Maria Cecília Da Lozzo Garbelini[2], Cristiane Acco Pauletto[1], Gustavo André Leal[1], Paulo Alberto Abib Slusarz[1]

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

[2] Centro de Ensino Superior dos Campos Gerais - CESCAGE, Departamento de Odontologia, Ponta Grossa, PR, Brasil;

Recebido para publicação em 22/03/2006
Aceito para publicação em 13/06/2006

RESUMO

A decodificação do genoma humano, os avanços científicos para a compreensão da regulação molecular da morfogênese do dente, da biologia das células-tronco e a biotecnologia, oferecem oportunidades sem precedentes para viabilizar a regeneração de dentes no futuro. Com o objetivo de se verificar o estágio de conhecimento atual sobre as possibilidades de utilização de células tronco para a regeneração e bioengenharia dentária, foi realizado um levantamento bibliográfico através de consulta à base de dados *MEDLINE, LILACS e BBO*, utilizando como palavras-chave os termos: células-tronco, polpa dentária, dente, regeneração tecidual. Obteve-se 43 artigos que foram submetidos à análise. Os resultados obtidos demonstram que células-tronco adultas, presentes na polpa de dentes decíduos e permanentes bem como no ligamento periodontal podem originar tecidos dentários. Embora o conhecimento das vias moleculares que regulam a morfogênese e regeneração dos dentes esteja aumentando, sua aplicação na engenharia dental permanece num estágio inicial. Apesar de se ter um quadro cada vez mais detalhado das complexas e redundantes cascatas das vias de sinalização sobre iniciação, padrão de formação, morfogênese e diferenciação celular, ainda não está totalmente esclarecido como estas vias especificam a distinta morfologia dental: incisivos, caninos, pré-molares e molares. Conclui-se que existe a possibilidade da utilização, em curto prazo, das BMPs e células-tronco na regeneração dentária, especificamente em endodontia, periodontia e cirurgia

craniofacial. Futuramente espera-se conseguir a regeneração do órgão dentário completo para a utilização na reposição de dentes perdidos.

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

ABSTRACT

The decoding of human genome, scientific progress for the molecular regulation comprehension of teeth morphogenesis, the biology of stem-cells and biotechnology offer opportunities without precedent to make practical the regeneration of teeth in the future. The aim being to verify the present stage knowledge about the possibilities of the use of stem-cells for regeneration and dental bioengineering, a bibliographical survey was made through consultation of the *MEDLINE, LILACS* and *BBO* data base, utilizing as key words the terms: stem-cells, dental pulp, teeth and tissue regeneration. Forty-three articles were obtained and submitted to analysis. The results obtained demonstrate that adult stem-cells, present in the pulp of deciduous and permanent teeth as in periodontal ligaments can originate dental tissue. Although the knowledge of the molecular ducts that regulate the morphogenesis and teeth regeneration is growing, its application in dental engineering remains in an initial stage. In spite of having an even more detailed chart of the complex and redundant cascade of the ways of differentiation, it is still not very clear how these ways specify the distinct dental morphology: incisors, canines, premolars, and molars. It is concluded that there is a possibility of the use, at short term, of the BMPs and stem-cells in dental regeneration, specifically endodotonics, periodontics, and facial cranium surgery. In the future, we will hopefully be able to achieve regeneration of the complete dental organ for use in restoration of lost teeth.

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

Introdução

A ausência dos dentes pode ocorrer a partir de defeitos genéticos, anomalias congênitas ou perdas precoces causadas por trauma, doença periodontal e cárie dentária, o que pode resultar em movimentação dos dentes remanescentes, dificuldades na mastigação e falta de auto-confiança. Até o momento existem muitas possibilidades de substituição dos dentes perdidos, incluindo o uso de próteses e implantes, porém todos os procedimentos disponíveis são baseados em técnicas não biológicas. O desenvolvimento de uma técnica que permitisse aos indivíduos o crescimento de dentes de reposição em suas bocas, a partir da engenharia tecidual, evitaria as complicações das técnicas atualmente em uso e seria uma terapia altamente desejável para reposição de dentes *in situ*.

A aplicação dos enfoques de engenharia tecidual baseado em células-tronco para criar órgãos e tecidos para transplantes, inclusive dentes, requer uma compreensão e manipulação dos processos de desenvolvimento que direcionam a formação de órgãos/tecidos no embrião, uma fonte de células multipotenciais que podem ser facilmente cultivadas e a facilidade de um órgão rudimentar de formar um órgão completo no meio ambiente adulto (Bianco, P.; Robey, P. G, 2001).

Nas últimas décadas tem-se avançado na compreensão do desenvolvimento do dente a nível genético, bem como dos mecanismos de regulação molecular da morfogênese dos dentes e da biologia das células-tronco, o que tem tornado possível avanços no campo da regeneração e bioengenharia dentária. A lista de genes conhecidos que regulam a posição, forma, ou número de dentes está crescendo rapidamente. Todos esses genes têm importante função na mediação da comunicação celular, a qual é considerada como o principal mecanismo que direciona o desenvolvimento embrionário. A comunicação é mediada por pequenos sinais moleculares que são enviados a células próximas, e afetam seu comportamento e a evolução da diferenciação. Através da combinação dos conhecimentos sobre a regulação molecular no desenvolvimento do dente e as recentes descobertas com células-tronco, tornam-se cada vez mais próximas as possibilidades de se construir um órgão dentário que possa ser utilizado com a finalidade de reposição de dentes perdidos (Thesleff, I, 2003; Thesleff, I.; Tummers, M, 2003). Até o momento, no campo das cirurgias bucomaxilofacial e periodontal a engenharia de tecidos tem sido utilizada para gerar osso alveolar e para gerar tecidos dentários perdidos por cárie ou doença periodontal. O próximo passo será aplicar os conhecimentos da regulação molecular da morfogênese do dente para manipular células-tronco adultas, levando-as a assumirem o fenótipo odontogênico, formando um dente completo e funcional.

Este trabalho tem por objetivo apresentar dados da literatura abordando as possibilidades de utilização de células-tronco adultas na regeneração e bioengenharia de dentes, para verificar o potencial das células-tronco, estudando o seu perfil genético e os mecanismos extra e intracelulares que determinam seu destino na odontogênese.

Material e métodos

Foi realizado um levantamento bibliográfico sobre as possibilidades de utilização de células-tronco para a regeneração e bioengenharia dentária. Foram consultados livros-texto contemporâneos de Histologia e Embriologia Oral, Biologia Celular e Molecular, e as bases de dados *MEDLINE* (*Medical Literature Analysis and Retrievel 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

Obteve-se 43 artigos que foram submetidos à análise, sendo localizados nove estudos experimentais que investigaram as possibilidades de células-tronco originarem tecidos dentários ou o dente todo, 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 *et al.* (2000)	Experimental *in vitro* e *in vivo*	Polpa dentária de 3os molares humanos	Complexo dentina-polpa
Gronthos *et al.* (2002)	Experimental *in vitro* e *in vivo*	Polpa dentária de 3os molares humanos	Complexo dentina-polpa; adipócitos e células neurais
Young *et al.* (2002)	Experimental *in vitro e vivo*	Células de germe dentário de porcos, no estágio de botão de 3os. molares em suspensão semeadas em arcabouço de polímeros biodegradáveis	Estrutura dentária contendo complexo dentina-polpa, esmalte, bainha de Hertwig e cementoblastos
Miura *et al.* (2003)	Experimental *in vitro* e *in vivo*	Polpa dentária de dentes decíduos esfoliados	Dentina (sem polpa); adipócitos; células neurais; indução de osteogênese no hospedeiro
Seo *et al.* (2004)	Experimental *in vitro* e *in vivo*	Ligamento periodontal de 3os molares humanos	Cemento/ ligamento periodontal; adipócitos
Ohazama *et al.* (2004)	Experimental *in vitro* e *in vivo*	Epitélio odontogênico e mesênquima não odontogênico (células-tronco neurais, embriogênicas e da medula óssea adulta)	Obtiveram dentes histológica e clinicamente iguais aos dentes naturais, que continuaram o desenvolvimento quando implantados em diastema interincisivo de rato
DuailibiI *et al.* (2004)	Experimental *in vitro e vivo*	Células de botão do germe dentário de ratos, dissociadas e semeadas em arcabouço biodegradável	Tecidos dentários: esmalte, dentina e polpa, porém não identificaram cemento e ligamento periodontal
Kikuchi *et al.* (2004)	Experimental *in vitro*	Papila dentária do germe dentário de incisivos inferiores em meio de cultura tridimensional	Odontoblastos e matriz dentinária tubular mineralizada
Modino e Sharpe (2005)	Experimental *in vitro* e *in vivo*	Epitélio odontogênico e mesênquima não odontogênico (células-tronco neurais, embriogênicas e da medula óssea adulta)	Obtiveram dentes histológica e clinicamente iguais aos dentes naturais, que continuaram o desenvolvimento quando implantados em diastema interincisivo de rato.

O desenvolvimento dentário requer interações recíprocas entre dois tecidos de diferentes origens, o ectoderma e o ectomesênquima. Durante o desenvolvimento craniofacial precoce, as células da crista neural cranial em migração povoam a maior parte do mesênquima do 1° arco branquial, constituindo o ectomesênquima, e expressam os genes homeobox (Berkovitz, B. K. B. *et al*., 2004; Chai, Y.; Slavkin, H. C, 2003; Ten Cate, A. R, 1998). Um conjunto específico destes genes, incluindo as famílias *Msx, Dlx e Barx*, (Ten Cate, A. R, 1998) é necessário para realizar o desenvolvimento das estruturas dentárias. Durante a odontogênese, a comunicação celular é regulada por estes genes 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 sua diferenciação (Alberts, B. *et al.*, 2004; Kerszenbaum, A. L, 2004; Thesleff, I, 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 â (*TGF-â*), 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).

Quando o epitélio do primeiro arco branquial é combinado com as células da crista neural cranial inicia-se a odontogênese. Estudos têm sugerido que os genes *homeobox Lhx6* e *Lhx7* influenciam no destino destas células para compor o ectomesênquima abaixo do epitélio odontogênico, sendo que sua expressão é regulada pelo aumento do fator mesenquimal *FGF8* (Chai, Y. *et al*., 2000). Este fator, juntamente com a *BMP4*, regula a expressão do gene *Pitx-2*, e o contrário também acontece. Ambos, *BMP e FGF* são moléculas críticas para especificar os locais de formação do dente. As *BMPs* também são responsáveis pela regulação dos genes *homeobox Msx-1 e Msx-2*, os quais têm papel dominante na determinação do modelo coronário. Os membros da família *TGFâ* têm sido indicados como a chave regulatória durante a transcrição de lâmina dentária para a fase em broto. Sua função envolve a indução do centro de sinalização no epitélio dentário do broto em formação, bem como o controle da proliferação celular (Chai, Y. *et al.*, 2000; Chai, Y.; Slavkin, H. C, 2003; Fergusson, C. A. *et al*., 1998; Vainio, S. *et al.*, 1993). A expressão de *Shh* pode afetar a proliferação das células epiteliais do órgão dentário, e sua interação com o fator *Wnt* estabelece seus limites durante o desenvolvimento dental.

No décimo segundo dia de desenvolvimento, o epitélio do primeiro arco perde seu potencial odontogênico, o qual é assumido pelo ectomesênquima subjacente. A seguir, há uma atividade proliferativa continuada e localizada da lâmina dentária para o interior do ectomesênquima levando ao estágio de broto. A continuidade da proliferação leva ao estágio de capuz, quando é possível dissociar o órgão dentário das células da papila dentária. Múltiplas moléculas sinalizadoras dentro do epitélio do órgão dentário têm sido associadas com a regulação da expressão de vários fatores de transcrição no ectomesênquima adjacente, durante a transição do estágio em broto para capuz. Experimentos de expressão ectópica e recombinação tecidual têm demonstrado que esses fatores de transcrição são regulados por sinais epiteliais, podendo controlar a expressão de outros fatores de transcrição no ectomesênquima e promover um *feedback* instrutivo para o órgão dentário, sendo então essenciais durante o estágio em capuz (Berkovitz, B. K. B.; Holland, G. R.; Moxham, B. J, 2004; Chai, Y.; Slavkin, H. C, 2003). Na próxima fase, o estágio de sino, ocorre a histo e morfodiferenciação, estando finalmente definidos o tamanho e a forma do dente, bem como todas as estruturas do órgão dentário: epitélio interno e externo, retículo estrelado e estrato intermediário. Tal diferenciação inicia-se a partir da ponta da futura cúspide, a qual tem sua posição determinada por um nicho de células conhecido como nó do esmalte, e termina na região da alça cervical.

Tem sido demonstrado que as células-tronco estão localizadas no germe dentário, tanto no epitélio quanto no ectomesênquima subjacente. Os incisivos de rato, de crescimento contínuo, mantêm as células-tronco epiteliais na alça cervical, durante toda a vida do animal, sendo que estas são responsáveis por um sistema regulatório específico e contínuo da produção de esmalte (Harada, H. *et al*., 1999). Por isso, estes dentes constituem um modelo ideal para o estudo dos mecanismos de ação e regulação das atividades das células-tronco adultas.

Harada e colaboradores (Harada, H. *et al*., 1999; Harada, *et al*., 2002; Iohara, K. *et al*., 2004) têm se dedicado ao estudo das células-tronco adultas, localizadas no epitélio de incisivos de ratos. Estas células podem se dividir para auto-renovarem-se ou formar um grupo de células em proliferação, também conhecidas como células amplificadoras transitórias ("transitórias" porque estão em trânsito entre os caracteres célula-tronco e diferenciado; "amplificadoras" porque os ciclos de divisão pelos quais elas passam têm o efeito de amplificar o número da progênie diferenciada que resulta de uma única divisão de célula-tronco) (Alberts, B. *et al*., 2004). As células-tronco epiteliais estão em íntimo contato com o mesênquima

dental, o qual expressa *FGF10*, que estimula tanto estas quanto as células amplificadoras transitórias, e *FGF3*, que estimula a divisão somente destas últimas (Harada, H. *et al*., 1999). Tummers e Thesleff (2002) sugerem que o mediador *BMP* também poderia estar envolvido na regulação das células-tronco, possivelmente em cooperação com o *FGF10*.

Durante sucessivas etapas de divisão do epitélio interno do órgão dentário do incisivo do rato, as células amplificadoras transitórias movem-se para incisal e diferenciam-se em ameloblastos. Esta diferenciação é iniciada quando o *FGF10* mesenquimal transpõe a lâmina basal e estimula a expressão do *lunatic fringe*, que é uma molécula secretada no epitélio basal cuja função é modular os sinalizadores *NOTCH* presentes nas células-tronco. Esses sinalizadores são receptores que controlam o destino celular, principalmente das células amplificadoras transitórias (Harada, H. *et al*., 2002). Quando estas células entram na zona de expressão do *lunatic fringe* no epitélio basal, são incorporadas à linhagem celular ameloblástica.

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 última. Os autores relataram que as células-tronco da polpa radicular possuem mais capacidade proliferativa, maior eficiência de adesão, viabilidade e habilidade indutiva de mineralização do que as da polpa coronária (Liu, S.H. *et al*., 2004). A origem e localização dessas células têm sido associadas com o sistema vascular (Gronthos, S. *et al*., 2000; Shi, S.; Gronthos, S, 2003; Tecles, O. *et al*., 2005).

Após a odontogênese, células-tronco remanescentes podem ser encontradas na polpa dentária, sendo responsáveis pela diferenciação de novas células que substituem odontoblastos necróticos e secretam dentina reparadora em casos de lesões cariosas ou preparos cavitários profundos. IOHARA *et al.*, (2004) demonstraram esta capacidade das células-tronco pulpares, analisando transplantes autógenos de células pulpares de dentes de porcos, que foram cultivadas e associadas com *BMP2* recombinante humana, a qual foi utilizada como sinal morfogenético com a finalidade de estimular a diferenciação dessas células. Tèclès *et al*. (2005) estudaram o processo de ativação e migração destas células em resposta às injúrias. Terceiros molares humanos, extraídos por razão ortodôntica, foram cultivados após receberem preparos cavitários profundos com exposição pulpar. Após incubação por um dia, o marcador utilizado foi localizado no núcleo de células na área perivascular. Observou-se um gradiente de distribuição do marcador, sendo mais forte nos vasos sanguíneos ao redor da exposição pulpar e decrescendo nos vasos que se afastavam do preparo cavitário. Após incubação por duas semanas, as células marcadas foram observadas na vizinhança da cavidade sendo que, após quatro semanas estavam restritas a essa área.

Alguns autores têm demonstrado a capacidade das células-tronco em gerar diferentes tecidos dentais (Duailibi, M. T. *et al*., 2004; Gronthos, S. *et al*., 2000; 2002; Kikushi, H. *et al*., 2004; Miura, M. *et al*., 2003; Seo, B. M, 2004) e até mesmo um dente de tamanho e forma específicos *in vivo* (Modino, S. A.; Sharpe, P. T, 2005; Ohazama, A. *et al*., 2004) (quadro 1).

Gronthos *et al*. (2000; 2002) identificaram uma população de supostas células-tronco pós-natais em polpa de terceiros molares humanos, que apresentaram a capacidade regenerativa. Após transplantadas obtiveram um tecido conjuntivo semelhante ao complexo dentina-polpa, composto de matriz mineralizada com túbulos e odontoblastos alinhados e tecido fibroso contendo vasos sanguíneos em um arranjo semelhante ao encontrado no dente humano normal. A microscopia eletrônica demonstrou que a matriz mineralizada formada apresentou um padrão globular de calcosferitos semelhante à dentina primária, e diferente daquela vista no osso ectópico lamelar observado no transplante de células-tronco de medula óssea. Essas células também seriam capazes de responder a sinais específicos do meio e gerar novas células-tronco ou selecionar um programa de diferenciação particular. As observações de Gronthos *et al*. (2000; 2002) forneceram evidências preliminares que sugerem que as células-tronco de polpa transplantadas podem não apenas dar origem à linhagem odontoblástica, mas também residirem no tecido conjuntivo pulpar como células semelhantes a fibroblastos até cinco meses após o transplante. Estes estudos também demonstraram que existe uma hierarquia de células progenitoras na polpa dental adulta, a qual inclui uma população menor de células-tronco auto-renovadoras, altamente proliferativas e multipotentes. O conceito de uma hierarquia na diferenciação celular foi previamente descrito para outras popula-

ções de células-tronco, como as da medula óssea (Kuznetsov, S. A. *et al*., 1997).

Resultados semelhantes aos obtidos por Gronthos *et al*. (2000; 2002) foram encontrados por Batouli *et al*. (2003) após implantarem células-tronco de polpa de terceiros molares humanos e da medula óssea, cultivadas e misturadas com hidroxiapatita, na superfície dorsal subcutânea de ratos. Após 16 semanas as células-tronco da medula óssea desenvolveram tecido ósseo medular maduro, e as da polpa dentária deram origem ao complexo dentina-polpa. Este estudo forneceu uma primeira evidência de que o fator de crescimento ß para fibroblastos (*FGFß*), em conjunto com matriz metaloproteinase-9 (para medula óssea) ou sialoproteína dentinária (para dentina), tem um papel importante na formação destes tecidos.

Miura *et al*. (2003) isolaram uma população de células-tronco multipotentes do remanescente pulpar de dentes decíduos esfoliados. Os autores demonstraram que essas células são diferentes das células-tronco dos dentes permanentes com relação à maior taxa de proliferação, número de divisões celulares, formação de colônias, capacidade de ósteo-indução in vivo, formação de dentina, porém não foram capazes de dar origem a um complexo dentina-polpa organizado. Em face desses resultados, os autores sugerem que as células-tronco de dentes decíduos representam uma população mais imatura do que as demais células-tronco mesenquimáticas dentárias pós-natais. Concluindo, os autores sugerem que os dentes decíduos esfoliados, pela facilidade de obtenção, poderiam 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 a cementoblastos, adipócitos e células formadoras de colágeno. Quando transplantadas para roedores imunocomprometidos, estas células mostraram a capacidade de gerar uma estrutura semelhante a cemento e ligamento periodontal, além de contribuir para o reparo dos tecidos periodontais.

Um conjunto de estudos tem demonstrado a possibilidade de se construir dentes a partir de cultura de células de germes dentários em arcabouços artificiais:

Kikuchi *et al*., (2004) utilizando uma matriz extracelular artificial de três dimensões, na qual semearam células dispersas de papila dentária de incisivos de ratos, verificaram a diferenciação de uma massa de células, que se tornaram colunares e polarizadas, rodeadas de matriz extra-celular recém secretada, semelhante ao complexo dentina-polpa. Estas células estendiam prolongamentos que adentravam a matriz extracelular, caracterizando dentina tubular. Também observaram que as células expressavam genes para sialoproteína dentinária e proteína de matriz dentinária-1, que são específicos da diferenciação de odontoblastos. Finalmente, após um período prolongado, a matriz tornou-se mineralizada.

Young *et al*. (2002) verificaram a capacidade de proliferação e diferenciação das células de germes dentários de terceiros molares de porcos, quando cultivadas em arcabouços artificiais. Para tanto, realizaram a dissociação do germe no estágio em broto e semearam suas células em suspensão em uma matriz polimérica biodegradável, a qual foi implantada em omento de ratos hospedeiros. Após 20 a 30 semanas de implantação observaram a formação de um germe contendo câmara pulpar, odontoblastos, pré-dentina e dentina com morfologias corretas, órgão dentário contendo retículo estrelado, estrato intermediário e ameloblastos, bem como bainha epitelial de *Hertwig*. Através deste estudo os autores demonstraram a primeira possibilidade de se gerar dentes com tamanho e formas pré-determinadas.

Com o objetivo de otimizar o período de obtenção das células dos brotos dentários e comparar dois tipos de matrizes poliméricas biodegradáveis, Duailibi *et al*. (2004) utilizando o mesmo protocolo desenvolvido por Young *et al*., (2002) isolaram células dentais obtidas no estágio de broto, removidas de ratos com três a sete dias pós-natais. Estas foram cultivadas *in vitro* por seis dias e semeadas em arcabouços biodegradáveis, sendo posteriormente implantadas em omento de ratos hospedeiros. Os resultados deste estudo demonstraram que, assim como as células dos brotos dentários de porcos, as obtidas de ratos também podem ser utilizadas para a bioengenharia de estruturas dentárias complexas, e que a idade ótima para a obtenção destas células seria aos quatro dias pós-natais.

Após 12 semanas de implantação, os autores observaram a formação de estruturas dentárias contendo esmalte, dentina e polpa, além de bainha epiletial de *Hertwig* para ambos os tipos de matrizes poliméricas testadas.

Dois artigos, de Ohazama *et al*. (2004) e de Modino e Sharpe (2005), descrevem um experimento no qual se obteve o desenvolvimento de dentes completos e viáveis a partir de células-tronco não dentárias cultivadas em associação com epitélio odontogênico. Os autores verificaram a possibilidade de resposta odontogênica de três diferentes grupos de células-tronco não dentais de ratos murinos em associação com o epitélio oral: a) embrionárias, representando uma população de células-tronco pluripotentes, que teriam capacidade de desenvolver células dentárias diante da sinalização apropriada; b) neurais, representando uma população de células multipotenciais, reconhecidamente capaz de desen-volver células dentárias; e c) células derivadas da medula óssea, contendo aproximadamente 0,01% de células-tronco, para verificar o potencial de uma população de células adultas heterogêneas formarem dentes. Além destes, um grupo de células não dentárias, reconhecidamente sem propriedades de células-tronco, foi utilizado como controle negativo. Os conjuntos foram cultivados por três dias e então analisados para a expressão de marcadores moleculares de desenvolvimento dentário. Todos os três grupos de células responderam de forma idêntica à indução, observando-se a expressão dos genes Msx1, Lhx7 e Pax9. Apesar de expressados em outras células além do mesênquima dentário, a combinação da expressão desses três genes é restrita às células mesenquimais odontogênicas. Essa expressão não ocorreu na combinação do epitélio odontogênico com o controle negativo. O estudo ainda verificou a habilidade de células-tronco não dentais desenvolverem dentes completos. Para tanto as combinações entre epitélio oral embrionário e os três grupos de células-tronco mesenquimais não dentárias foram transplantadas sob cápsulas renais de ratos adultos por 10 a 14 dias. Observaram em todos os três tipos de combinação, e não no controle negativo, a formação de osso e tecidos moles a partir dos trans-plantes, verificando algumas evidências de formação de tecido dentário ou marcadores moleculares dentários, principalmente do *Dspp*, um gene altamente expressado em odontoblastos. Além disso, três transplantes de células da medula óssea desenvolveram germes dentários completamente formados, circundados por osso e tecidos moles. Finalmente analisaram a possibilidade de dentes serem formados a partir de implantes de germes dentários diretamente nas arcadas. Para tanto, os autores implantaram cirurgicamente primórdios de molares no tecido mole do diastema que existe entre incisivo e o grupo de molares da maxila de ratos adultos e, após 26 dias, verificaram um dente ectópico formado no local do transplante. Este dente era de tamanho similar ao do primeiro molar e era histologicamente normal, contendo dentina e esmalte, e estando conectado ao osso ectópico por um tecido semelhante a ligamento periodontal.

Conclusão

Os estudos analisados demonstraram que existe a possibilidade de se obter germes dentários a partir de células-tronco devidamente sinalizadas, os quais se desenvolvem quando transplantados em nichos adequados. Embora genes e sinais regulatórios envolvidos na odontogênese sejam conhecidos, e apesar dos avanços obtidos no desenvolvimento de estruturas dentárias a partir de células-tronco, ainda existem obstáculos a serem superados para se conseguir substituir um dente humano perdido através da engenharia tecidual. Diante da rápida evolução das pesquisas neste campo, as perspectivas mostram-se promissoras quanto a utilização, em curto prazo, das BMPs e células-tronco na regeneração dentária, especificamente em endodontia, periodontia e cirurgia craniofacial. E futuramente espera-se conseguir a regeneração do órgão dentário completo para a utilização na reposição de dentes perdidos.

REFERÊNCIAS

1. ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. **Biologia molecular da célula**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

2. BATOULI, S.; MIURA, M.; BRAHIM, J.; TSUTSUI, L.W.; FISHER, L. W.; GRONTHOS, S.; ROBEY, P. G. SHI, S.

Comparison of stem-cell-mediated osteogenesis and dentinogenesis. **J Dent Res**, v. 82, n.12, 976-981, 2003.

3. BERKOVITZ, B. K. B.; HOLLAND, G. R.; MOXHAM, B. J. **Anatomia, embriologia e histologia bucal**. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

4. BIANCO, P.; ROBEY, P.G. Stem cells in tissue engineering. **Nature**. v. 414, 114-121, 2001.

5. 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.

6. 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.

7. DUAILIBI, M.T.; DUAILIBI, S. E; YOUNG, C.S.; BARTLETT, J. D.; VACANTI, J.P.; YELICK, P.C. Bioengineered teeth from cultured rat tooth bud cells. **J Dent Res**, v. 83, n. 7, p. 523-528, Jul. 2004.

8. FERGUSSON, C. A. Activin is an essential early mesenchymal signal in tooth development that is required for patterning of the murine dentition, **Genes Dev**, v. 12, 2636-2649, 1998.

9. 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.

10. 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.

11. HARADA, H.; KETTUNEN, P.;JUNG, H.S.; MUSTONEN, T. Localization of putative stem cells in dental epithelium and their association with Notch and FGF signaling. **The Journal of cell biology**, v.147, n. 1, Oct, 105-120, 1999.

12. HARADA, H.; MITSUYASU, T.; TOYONO, T. Epithelial stem cells in teeth. **Odontology**, v. 90, n. 1, p.1-6, Sep. 2002.

13. HARADA, H.; OHSHIMA, H. New perspectives on tooth development and the dental stem cell niche. **Arch Histol Cytol**, v. 67, n. 1, p. 1-11, Mar. 2004.

14. IOHARA, K.; NAKASHIMA, M.; ITO, M.; ISHIKAWA, M; NAKASHIMA, A.; AKAMINE, A. Dentin regeneration by dental pulp stem cell therapy with recombinant human bone morphogenetic protein 2. **J Dent Res**, v. 83, n. 8, p. 590-595, Aug 2004.

15. KIERSZENBAUM, A. L. **Histologia e biologia celular: uma introdução à patologia**. Rio de Janeiro: Elsezier, 2004.

16. KIKUCHI, H.; SUZUKI, K.; SAKAI, N.; YAMADA, S. Odontoblasts induced from mesenchymal cells of murine dental papillae in three-dimensional cell culture. **Cell Tissue Res**, v. 317, n. 2, p.173-185, Aug 2004.

17. KUZNETSOV, S.A; KREBSBACH, P. H.; SATOMURA, K.; KERR, J.; RIMINUCCI, M.; 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, 1335-1347, 1997.

18. 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.

19. 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.

20. MODINO, S.A.; SHARPE, P.T. Tissue engineering of teeth using adult stem cells. **Arch Oral Biol**, v. 50, n. 2, p. 255-258, Feb 2005.

21. 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.

22. OHAZAMA, A.; MODINO, S.A.C.; MILETICH, I.; SHARPE, P.T. Stem-cell-basead tissue engineering of murine teeth. **J Dent Res**, v. 83, n. 7, 518-522, 2004.

23. 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.

24. 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.

25. TÉCLÈS, O; LAURENT, P.; ZYGOURITSAS, S.; BURGER, A. S.; CAMPS, J.; DEJOU, J.; ABOUT, I. Activation of human dental pulp progenitor/stem cells in response to odontoblast injury. **Arch Oral Biol**, v. 50, n. 2, p.103-108, Feb 2005.

26. TEN CATE, A.R. **Histologia Bucal**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998, p.439.

27. THESLEFF, I. Developmental biology and building a tooth. **Quintessence internacional**, v. 34, n. 8, p. 613-620, 2003.

28. 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.

29. TUMMERS, M.; THESLEFF, I. Root or crown: a developmental choise orquestrated by diferencial regulation of the epithelial stem cell niche in the tooth of two rodent species, **Developmental**, v. 130, 1049-1057, 2002.

30. VAINIO, S.; KARAVANOVA, I. ; JOWETT, A. ; THESLEFF, I. Identification of BMP-4 as a signal mediation secondary induction between ephitelial and mesenchymal tissues during early tooth development. **Cell**. V. 75, 45-58, 1993.

31. YOUNG, C.S.; TERADA, S.; VACANTI, J. P.; HONDA, M. ; BARTLETT, J. D. ; YELICK, P. C. Tissue engineering of complex tooth structures on biodegradable polymer scaffolds. **J Dent Res**, v. 81, n. 10, p. 695-700, Oct 2002.