

**SIMONE ANGÉLICA DE FARIA AMORMINO**

**CÉLULAS – TRONCO E REGENERAÇÃO  
PERIODONTAL**

**Faculdade de Odontologia - UFMG**

**BELO HORIZONTE**

**2010**

**SIMONE ANGÉLICA DE FARIA AMORMINO**

**CÉLULAS – TRONCO E REGENERAÇÃO PERIODONTAL**

Monografia apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do Título de Especialista em Periodontia.

Orientador: Prof. Dr. Luís Otávio de Miranda Cota

**Faculdade de Odontologia - UFMG**

**Belo Horizonte**

**2010**

**“Em Ciência ninguém caminha sozinho”**

**Rubens Alves**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por iluminar o meu caminho, onde encontrei pessoas inesquecíveis.

Ao professor Doutor Luís Otávio de Miranda Cota, por sua orientação, acompanhamento, ensinamentos, e principalmente por ter confiado em mim para a realização desse trabalho.

Ao professor Doutor José Eustáquio, por seu exemplo de dedicação e profissionalismo.

A todos os professores da Especialização de Periodontia, Lívio, Sérgio, Carolina, Andréia, Eugênio e Patrícia pelo carinho e toda paciência para nos ensinar.

A Mariza, da clínica de Especialização pela sua amizade e dedicação a todos nos alunos.

Aos meus pais Maria Madalena e José Geraldo, por serem meu porto seguro, pelo apoio sem medida e pelo exemplo de ética e profissionalismo. Amo muito vocês!!!

Aos meus irmãos: Alexandre, Patrícia e Raquel e meu sobrinho e afilhado Gustavo pelo incentivo e carinho.

Ao meu marido Olivério pela compreensão e paciência em minhas ausências e por me fazer querer ser uma pessoa melhor.

Aos amigos da Especialização de Periodontia, em especial ao meu grande amigo Antônio Augusto de Moura Barbosa, por tornarem esse curso muito mais leve e divertido.

A todos, muito obrigado por fazerem parte dessa história.

## RESUMO

A Periodontite é uma doença inflamatória que se manifesta clinicamente com a perda dos tecidos de suporte periodontal, incluindo o osso alveolar, ligamento periodontal e cimento. Um dos objetivos do tratamento periodontal é a obtenção da regeneração dos tecidos visando reparar os danos ocasionados pela doença. As principais terapias utilizadas para esse fim incluem condicionamento da superfície radicular, enxertos e substitutos ósseos, fatores de crescimento, proteínas derivadas da matriz do esmalte e Regeneração Tecidual Guiada. As células-tronco são células com capacidade de proliferação, auto – renovação e diferenciação em células especializadas que poderiam regenerar os tecidos e órgãos. As células-tronco podem ser classificadas como embrionárias ou não embrionárias conhecidas também como células-tronco adultas, e estas são divididas em hematopoiéticas e mesenquimais. Pesquisas recentes têm demonstrado que populações de célula-tronco adulta residem no ligamento periodontal humano. Esses avanços da bioengenharia abrem caminho para o desenvolvimento de novas terapias para obtenção de um sucesso definitivo para a regeneração dos tecidos periodontais.

**Palavras – Chave:** Regeneração Periodontal, Células – Tronco, Doença Periodontal

## **ABSTRACT**

### **Stem Cells and Periodontal Regeneration**

Periodontitis is an inflammatory disease which manifest clinically as loss of supporting periodontal tissues including alveolar bone, cementum and periodontal ligament. One of the goals of periodontal treatment is promoting tissue regeneration in attempt to repair the damage which occurs during periodontitis. Therapies directed towards this goal have included the use of a range of procedures like bone grafts, growing factors, enamel matrix derivative and guided tissue regeneration. The Stem Cells are undifferentiated cells that are able to proliferate, self – renovate and convert themselves into specialized cell lines capable of regenerating tissues and organs. There are two major categories of stem cells: embryonic stem cells and adult stem cells, the later being divided in hematopoietic and mesenchymal stem cells. Recent reports have demonstrated that populations of adult stem cells reside in the periodontal ligament of humans. Advances of researches on stem cells and bioengineering open chances for the development of new therapies towards a definitive success for the regeneration of the periodontal tissue.

**Keywords:** Periodontal Regeneration, Stem Cells, Periodontal Disease

## LISTA DE ABREVIATURAS

ABCG-2	Marcador usual de células – tronco
AAP	Associação Americana de Periodontia
BEH	Bainha Epitelial de Hertwig
BMPs	Proteína óssea morfogenética
BMSCs	Células do estroma do osso medular
CT	Células – Tronco
CTE	Células – Tronco embrionária
CTEN	Células – Tronco não embrionárias
EGF	Fator de crescimento epidérmico
EJL	Epitélio Juncional Longo
EMD	Proteína da Matriz do Esmalte
FGF	Fator de crescimento de fibroblastos
GFAP	Proteína glial fibrilar de ácido
IGF	Fator de crescimento semelhante a insulina
LP	Ligamento Periodontal
MEC	Matriz Extracelular
Oct – 4	Fator de Transição para manter a pluripotência
OPs	Proteínas Osteogênicas
PDLSCs	Células – Tronco humanas multipotentes derivadas do LP
PFGF	Fator de crescimento derivado de plaquetas
PGA	Ácido poliglicóide
PLGA	Poliglicóide copolímero
PVF	Proteína Verde Fluorescente
RTG	Regeneração Tecidual Guiada
STRO	Marcador de célula do estroma
TGF $\beta$	Fator de crescimento transformador $\beta$

## SUMÁRIO

<b>1</b>	INTRODUÇÃO.....	10
<b>2</b>	REVISÃO DA LITERATURA.....	12
2.1	Formação do Periodonto.....	12
2.2	Doença Periodontal.....	14
2.3	Regeneração Periodontal.....	16
2.3.1	<i>Conceitos Gerais</i> .....	16
2.3.2	<i>Fatores Biológicos da Regeneração Periodontal</i> .....	19
2.4	Tipos de Regeneração Periodontal.....	23
2.4.1	<i>Condicionamento da Superfície da Raiz</i> .....	23
2.4.2	<i>Enxertos Ósseos</i> .....	23
2.4.3	<i>Regeneração Tecidual Guiada</i> .....	24
2.4.4	<i>Proteínas da Matriz do Esmalte</i> .....	26
2.4.5	<i>Fatores de Crescimento</i> .....	27
2.5	Engenharia Tecidual x Desenvolvimento Biológico.....	29
2.5.1	<i>Engenharia Tecidual</i> .....	30
2.5.2	<i>Desenvolvimento Biológico</i> .....	31
2.6	Células – Tronco.....	32
2.6.1	<i>Células – Tronco Embrionárias</i> .....	34
2.6.2	<i>Células – Tronco Cordão Umbilical e Sangue da Placenta</i> .....	35
2.6.3	<i>Células – Tronco Adulto e Mesenquimal</i> .....	35
2.7	Células – Tronco na Medicina.....	38
2.8	Células – Tronco na Odontologia.....	38
2.8.1	<i>Células – Tronco da Polpa Dentária</i> .....	38
2.8.2	<i>Células – Tronco do Ligamento Periodontal</i> .....	40
2.9	Uso de Células – Tronco na Regeneração Periodontal.....	43
<b>3</b>	DISCUSSÃO.....	46
<b>4</b>	CONCLUSÃO.....	50
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51

## LISTA DE FIGURAS



<b>FIGURA</b>		<b>PÁGINA</b>
1	Estrutura do dente e do periodonto	12
2	Desenvolvimento Dentário	13
3	Desenvolvimento do Periodonto	14
4	Representação esquemática da histologia após o tratamento periodontal	18
5	Tempo de cicatrização após a injúria periodontal	20
6	Papel das células-tronco no desenvolvimento periodontal	22
7	Experimentos da regeneração dentária. Representação da Engenharia Tecidual e reprodução do desenvolvimento biológico da formação embrionária do dente.	29
8	Ilustração sistemática dos elementos necessários na Engenharia Tecidual	31
9	Fontes e derivação da população de células-tronco	33
10	Células-Tronco isoladas do tecido pulpar de dente decíduo	39

## LISTA DE TABELAS

<b>TABELA</b>		<b>PÁGINA</b>
1	Tipos de membranas e seus respectivos materiais usados na Periodontia	25
2	Efeito dos Fatores de Crescimento nas células derivadas do ligamento periodontal (PDL) e cementoblastos (CMs)	28

## INTRODUÇÃO

O periodonto é um órgão complexo constituindo-se dos tecidos epiteliais, conjuntivos e mineralizados. Possui as funções de suporte e inserção dos dentes, bem como mantêm a estabilidade da superfície da mucosa mastigatória da cavidade oral (BARTOLD et al., 2000). A doença periodontal é uma infecção microbiana mista multifatorial, caracterizada pela inflamação dos tecidos de suporte e inserção dos dentes, o que ocasiona uma mudança destrutiva destas estruturas e resulta em perda do tecido ósseo e do ligamento periodontal, em vários níveis de gravidade (AAP, 1992). Assim, as seqüelas desta doença podem resultar em recessões gengivais, defeitos ósseos, mobilidade dental, alteração da função mastigatória e perda dentária (AMAR, 1996).

O tratamento da doença periodontal envolve procedimentos de debridamento mecânico (raspagem e alisamento radicular) e, algumas vezes, terapias químicas com o objetivo de alterar o biofilme dental e eliminar microrganismos patogênicos que induzem as respostas inflamatórias destrutivas (LINDHE et al., 2005). Além disso, de acordo com Polson (1994), o tratamento das seqüelas envolve uma grande variedade de cirurgias para a modificação anatômica dos defeitos ocasionados por esta inflamação.

No campo da Periodontia, com o aumento da expectativa de vida das pessoas e maior conscientização da importância da manutenção dos dentes para saúde geral, existe uma necessidade de uma regeneração periodontal efetiva, com o intuito de reparar defeitos ósseos causados por traumas e doenças (GRONTHOS et al., 2006).

A regeneração periodontal é descrita como uma neoformação do cimento, ligamento periodontal, osso alveolar e gengiva, que foram perdidas, retornando a sua arquitetura e funções (CANTON et al., 1980). E essa depende da disponibilidade de células, fatores indutivos e matriz extracelular (AUKHIL, 2000).

Tentativas de restauração dos tecidos periodontais perdidos têm sido feitas através de diferentes abordagens regenerativas. Algumas destas abordagens incluem o emprego de enxertos e substitutos ósseos, técnicas de regeneração tecidual guiada (uso de membranas), aplicação de modificadores biológicos e fatores de crescimento. Devido à grande variabilidade e baixa previsibilidade de resultados, significância e efetividade clínica, bem como estabilidade ao longo do tempo, a aplicação clínica da maioria destas técnicas tem sido questionada (BARTOLD et al., 2000; GRONTHOS et al., 2006).

A evolução da Engenharia Tecidual tem emergido como uma alternativa a tratamentos convencionais. A célula – tronco (CT) é definida como a célula com capacidade de gerar diferentes tipos celulares e reconstituir diversos tecidos. Além disso, a CT apresenta propriedade de auto-renovação (N-H LIN et al., 2008). As CT estão sendo utilizadas no tratamento de várias doenças, como a doenças cardíacas, câncer, as degenerações neuronais, na recuperação de pacientes tetraplégicos e paraplégicos e outras (CUTLER & ANTIN, 2001).

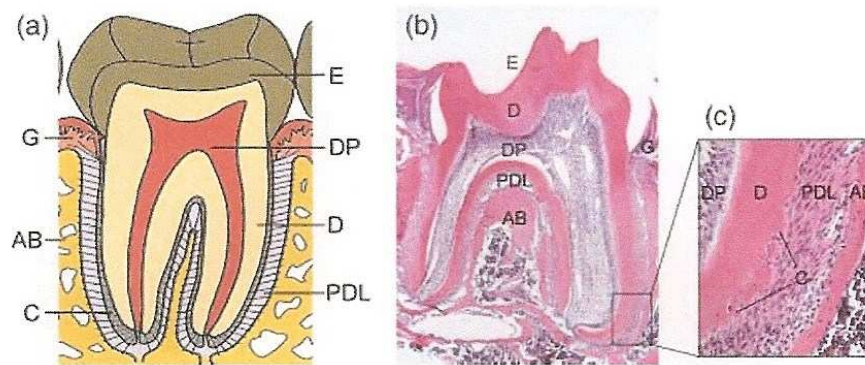
Na Odontologia, estudos recentes isolaram a CT do ligamento periodontal e da polpa dentária, e constatou-se que tais células são multipotentes e possuem capacidade de auto-renovação e de diferenciação em diversos tipos celulares. Pesquisa tem apontado a aplicação clínica da CT, principalmente, nas áreas de endodontia, periodontia e cirurgia (BARTOLD et al., 2000).

O objetivo do presente estudo é realizar uma revisão da literatura acerca do atual entendimento das células - tronco humana nos tecidos dentais, e seu potencial de aplicação na terapia de regeneração periodontal.

## 1. REVISÃO DA LITERATURA

### 1.1 FORMAÇÃO DO PERIODONTO

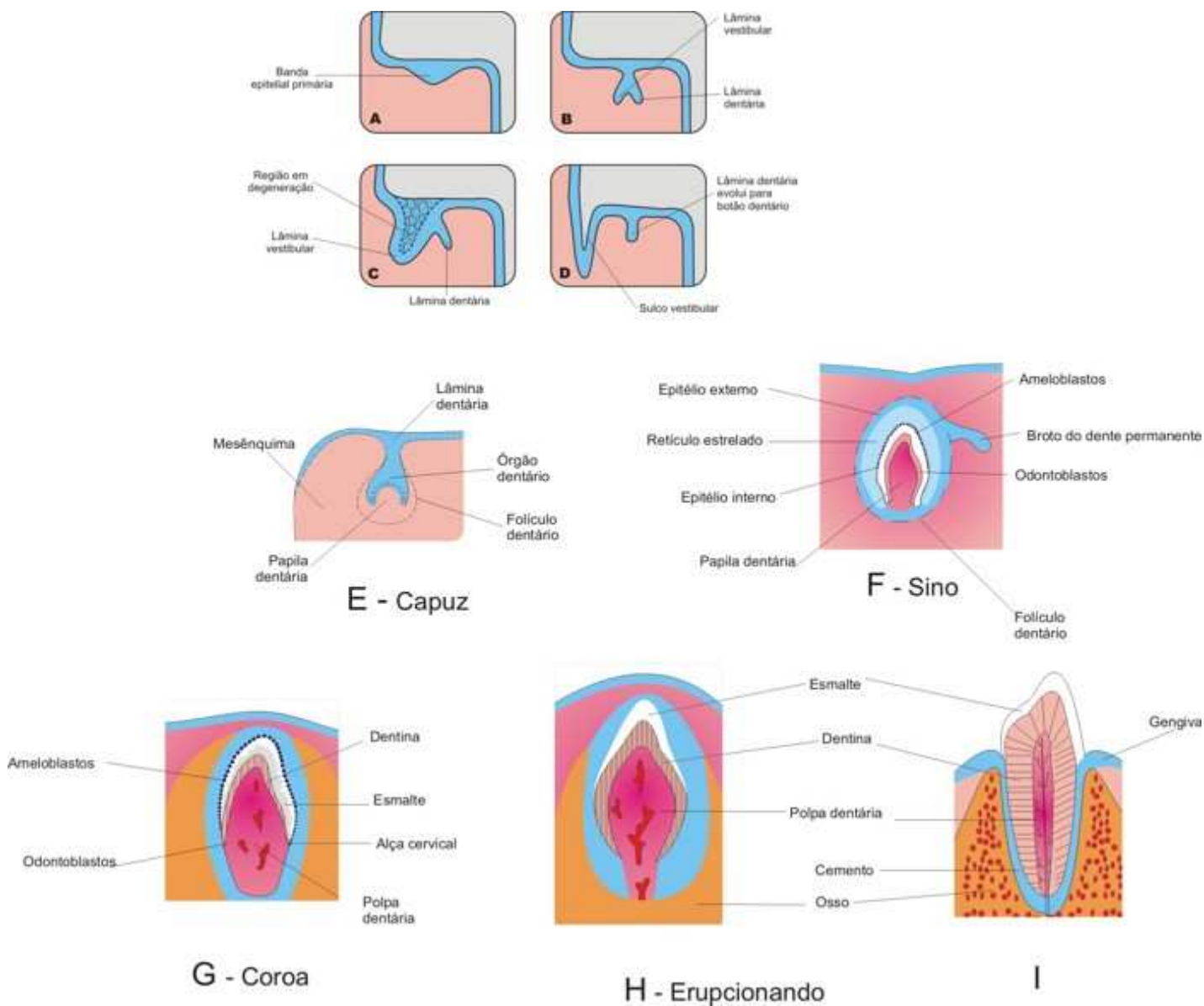
O periodonto (Peri = em torno de, odonto = dente), compreende as seguintes estruturas: a gengiva, o ligamento periodontal, o cemento e o osso alveolar – Figura 1. As principais funções do periodonto são inserir o dente no tecido ósseo da maxila e mandíbula e manter a integridade da superfície da mucosa mastigatória da cavidade bucal. O periodonto forma uma unidade de desenvolvimento, biológica e funcional, que sofre alterações com a idade, e também está sujeito a alterações morfológicas relacionadas a modificações funcionais e do meio bucal (LINDHE et al., 2005).



**Figura 1: Estrutura do dente e do periodonto (a) Representação esquemática (b) Micrografia de camundongo de 5 semanas corado com Hematoxilina e eosina, nenhuma estrutura de esmalte pode ser visualizada devido à descalcificação (c). Na figura (b), observa os componentes periodontais: AB osso alveolar, C cemento, D dentina, DP polpa dental, E esmalte, G gengiva, PDL ligamento periodontal**

**Fonte: Nakahara & Ide (2007).**

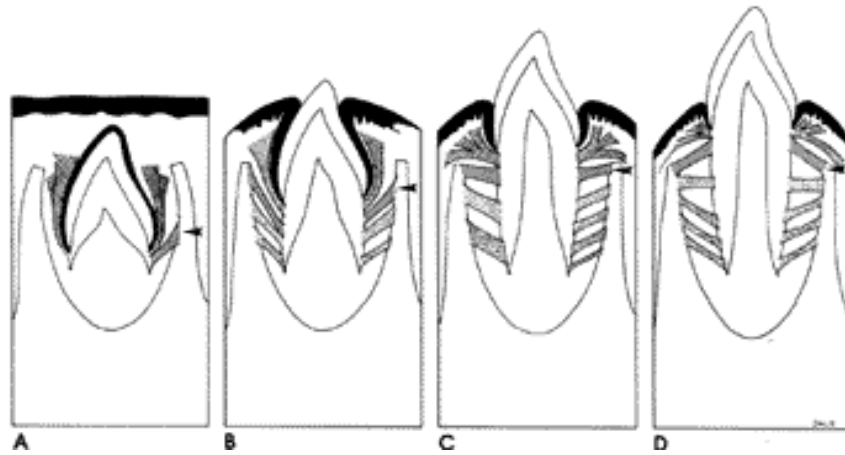
O desenvolvimento dental é baseado na interação do ectoderma e ectomesênquima, na fase embrionária quando as células da crista neural migram para o primeiro arco braquial. O tecido dental epitelial embrionário é capaz de induzir o desenvolvimento do germe dentário em combinação com os tecidos ectomesenquimais. Após a formação da lâmina dental, inicia-se uma série de estágios de histomorfodiferenciação (botão, capuz, campânula e desenvolvimento da raiz) que resultam na formação dentária e dos tecidos periodontais – Figura 2 (TEN CATE, 1996).



**Figura 2: Desenvolvimento dentário**  
**Fonte: [www.forp.usp.br/embriologia](http://www.forp.usp.br/embriologia)**

O início do desenvolvimento periodontal começa no final da formação da coroa, quando células no interior e fora do epitélio do esmalte proliferam da porção cervical do órgão do esmalte para formar a bainha epitelial de Hertwig. Essa bainha separa as células da papila dental do folículo, e inicia - se a diferenciação de odontoblastos da papila dental para formar a papila dental – Figura 3 (SLAVKIN, et al., 1989). O desenvolvimento apical da raiz continua com a contínua deposição de cimento, e a porção coronal é formada pelas fibras de Sharpey. Este processo inicia a formação do ligamento periodontal (LP) o qual é derivado do folículo dental. Neste estágio de desenvolvimento, parte do processo do osso alveolar também é formada, originada também do folículo dental. A inserção das fibras de Sharpey no osso neoformado completa o desenvolvimento do aparelho de inserção do periodonto. A formação do cimento, LP e osso alveolar são coordenadas espacialmente e temporalmente com a

transformação do epitélio reduzido do esmalte para junção sulcular e epitélio juncional, durante a erupção dentária ocasionando a completa formação do aparelho de inserção do periodonto (TEN CATE, 1996).



**Figura 3: Desenvolvimento do Periodonto: a – final da formação da coroa e proliferação celular para formar a bainha epitelial de Hertwig, b - desenvolvimento apical da raiz e deposição de cemento, e a porção coronal são formadas pelas fibras de Sharpey, c- nesse estágio ocorre o desenvolvimento de parte do osso alveolar, d - inserção das fibras de Sharpey no osso neoformado completa o desenvolvimento do aparelho de inserção do periodonto.**

Fonte: [www.odontologia.com.br/artigos=205](http://www.odontologia.com.br/artigos=205), 2002.

## ***1.2 DOENÇA PERIODONTAL***

Segundo a Associação Americana de Periodontia (AAP) (1992) a doença periodontal é uma infecção multifatorial, caracterizada pela inflamação dos tecidos de inserção dos dentes, que leva a uma mudança destrutiva destas estruturas e resulta em perda de tecido ósseo e do LP, em vários estágios de gravidade.

A doença periodontal inicia - se como uma gengivite, ocasionada pelo acúmulo de placa e é seguida por uma interação complexa entre bactérias periodontopatógenas, variações ambientais e susceptibilidade do hospedeiro. Estes fatores podem ou não envolver os tecidos de inserção periodontal, desenvolvendo então a Periodontite (BARTOLD et al., 2006).

A etiologia da doença periodontal é multifatorial, e em geral, está relacionada, ao acúmulo de microrganismos presentes no biofilme dental. Quanto à microbiota predominante no biofilme periodontopatogênico, tem - se mostrado a ocorrência se de diferentes espécies bacterianas com a predominância de alguns tipos como: *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (LINDHE et al., 2005).

Segundo Wilson e Korneman (2001), estudos sugerem que a placa bacteriana acumula – se nos dentes por períodos prolongados, e a doença manifesta, se o hospedeiro for susceptível.

O tratamento completo do paciente com tratamento periodontal pode ser dividido em três fases diferentes segundo Lindhe et al. (2005):

\* Fase inicial associada á causa: Consiste em raspagem e alisamento radicular, estas podem são realizadas em forma de procedimento fechados ou abertos (cirúrgicos), sob anestesia local. Com o objetivo de controlar e interromper a progressão da destruição subsequente dos tecidos periodontais.

\* Fase da terapia adicional: Tem por objetivo restabelecer a função e a estética.

\* Fase de terapia de suporte: Consiste em prevenir a recorrência da doença periodontal, por meio de um programa de cuidados de manutenção periódicos.

O periodonto uma vez agredido tem uma capacidade limite para regeneração. Mas quando a periodontite se estabelece várias técnicas de regenerativas, baseadas em diferentes princípios biológicos, estão sendo desenvolvidas na tentativa de regenerar o periodonto perdido (NYMAN et al., 1982; BARTOLD et al. 2000, 2006).

De acordo com Polson (1994), o tratamento das seqüelas envolve uma grande variedade de cirurgias para a modificação anatômica dos defeitos ocasionados por esta inflamação.

O tratamento da doença periodontal tem utilizado a implantação de várias estruturas. Em geral essa terapia tem se focado quase que exclusivamente na regeneração do osso alveolar perdido, incluindo os enxertos autógenos, alógenos, aloplásticos, as membranas (Regeneração Tecidual Guiada), os modificadores biológicos e os fatores de crescimentos. Porém devido à variabilidade de segurança, efetividade clínica e estabilidade pelo tempo, estes agentes tem sido questionados (BARTOLD et al., 2000).

Recentemente abordagens biológicas baseadas no princípio da engenharia dos tecidos tem emergido como alternativa prospectiva para o tratamento convencional. Essas abordagens incluem a terapia genética e a administração local de arcabouços com ou sem a presença de fatores de crescimento selecionados. A terapia baseada no entendimento da biologia celular e molecular de desenvolvimento e regeneração periodontal, oferece alternativas interessantes para o reparo e regeneração periodontal (DUAILIBI et al., 2004).

### ***1.3 REGENERAÇÃO PERIODONTAL***

#### ***1.3.1 Conceitos Gerais***

Segundo a AAP (1992), a regeneração periodontal pode ser definida como restauração do periodonto perdido. O reparo é o fechamento de um tecido que não recupera completamente a arquitetura ou a função da região.

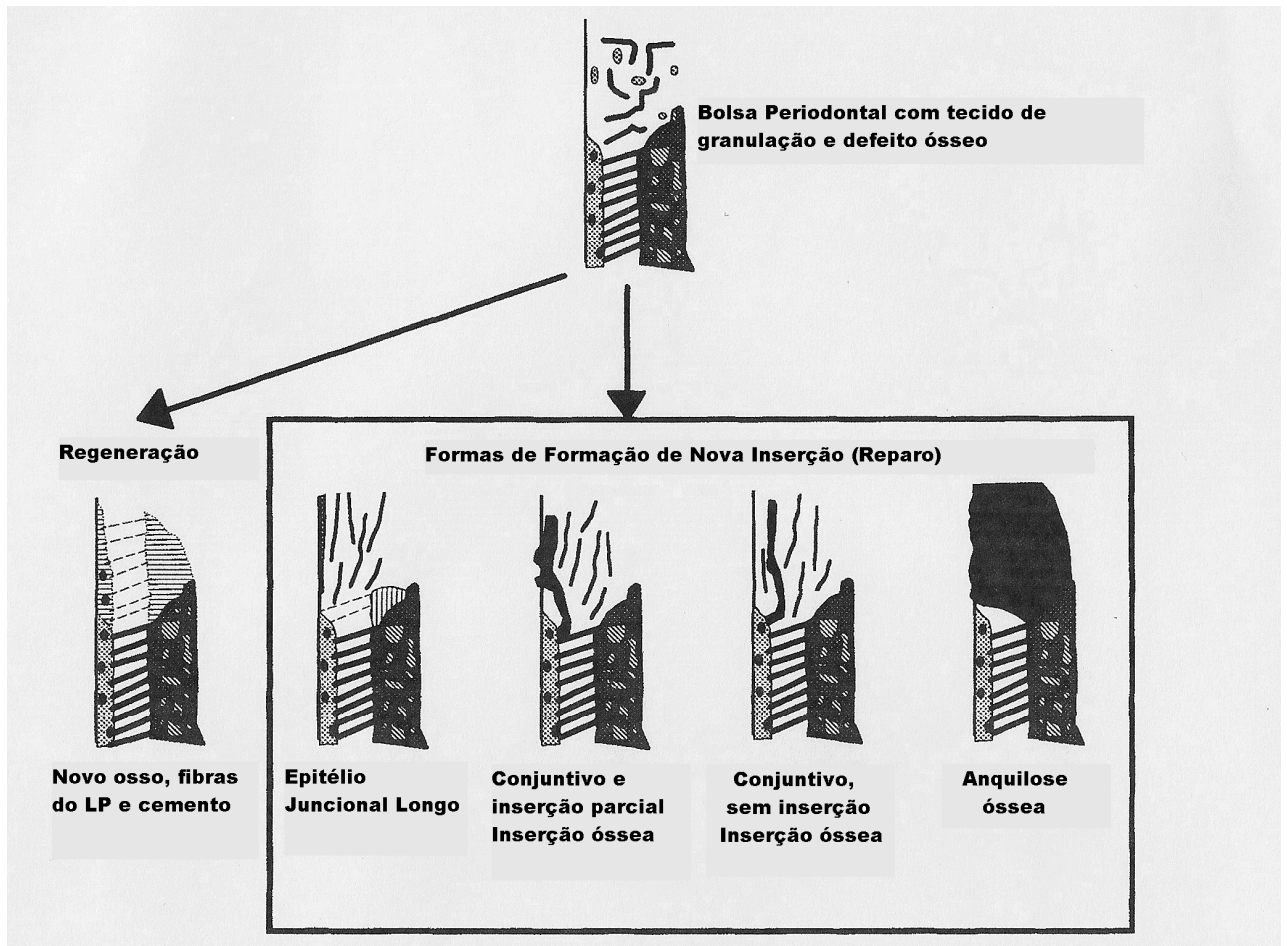
A regeneração periodontal pressupõe a reconstrução do LP com fibras colágenas, orientadas perpendicularmente de forma a estarem inseridas em novo cemento e novo osso (CORTELLINI & BOWERS, 1995; LINDHE et al., 2005).

Segundo Bartold e Narayanan (1998), após injúria aos tecidos, o organismo começa uma série de eventos biológicos na tentativa de conter os danos e reconstruir o tecido. A maneira pela qual o organismo tenta refazer o tecido e restaurar a sua função é conhecido como cicatrização. Este processo pode ocorrer por reparo, quando o tecido formado é diferente do original ou regeneração no qual o tecido perdido é substituído por um tecido idêntico ao original tanto na forma como em função.

De acordo com Canton et al. (1980) a cicatrização por reparo pode ser: pela formação do Epitélio Juncional Longo (EJL), que é um fino epitélio estendendo apicalmente interpondo-se entre a superfície da raiz e tecido conjuntivo da gengiva, o reparo por tecido conjuntivo é representado por fibras colágenas orientadas paralelas ou perpendiculares a superfície da raiz previamente a exposição da doença periodontal. Em contraste a regeneração é descrita pela neoformação do cemento, LP, osso alveolar e gengiva.

Polson (1994) descreveu que para que ocorra regeneração periodontal, as primeiras células a ocupar o defeito periodontal devem ser células progenitoras, provenientes do LP, as quais têm capacidade de formar cemento, osso e LP. O reparo leva a anquilose, quando células ósseas ocupam o defeito. Se o defeito for colonizado por células conjuntivas gengivais, ocorre reabsorção radicular. Entretanto, as células epiteliais são as mais ativas na fase inicial da cicatrização e migram rapidamente para a superfície radicular formando EJL.





**Figura 4:** Representação esquemática da histologia após o tratamento periodontal

Fonte: Amar (1996).

Mendes (1997) pesquisando vários tratamentos periodontais e seus diferentes tipos de cicatrização verificaram que clinicamente os resultados foram ganhos de inserção e diminuição na profundidade de sondagem. Radiograficamente, preenchimento ósseo. Entretanto nas avaliações histológicas foram feitas, verificou-se a formação de diferentes tipos de cicatrização. O EJL foi observado com frequência após cirurgia a retalho convencional (raspagem a campo aberto), enxerto ósseo, condicionamento radicular e regeneração tecidual guiada (RTG). Uma nova inserção foi obtida principalmente com terapia de enxerto ósseo e RTG. A regeneração periodontal resultou de terapias com fator de crescimento (rhBMP-2) e RTG. A inserção conjuntiva foi obtida depois de condicionamento radicular, cirurgia a retalho e RTG. A reabsorção radicular resultou principalmente de enxerto ósseo e condicionamento radicular, enquanto que a anquilose foi mais frequentemente observada após condicionamento radicular. A autora conclui que deve acontecer na maioria dos casos é o conjunto destas formas de cicatrização.

### ***1.3.2 Fatores Biológicos da Regeneração Periodontal***

Melcher (1976) postulou o conceito biológico à base da regeneração periodontal. De acordo com o autor as estruturas periodontais são divididas em: gengiva, LP, cemento e osso alveolar, a natureza desta nova ligação após a cirurgia é determinada pela repopulação células na superfície da raiz.

Polson e Proye (1983) em uma pesquisa utilizando macacos apontaram a importância de impedir a absorção, adesão e maturação do coágulo de fibrina na ferida periodontal, evitando desta forma a formação do tecido conectivo ao longo do EJL.

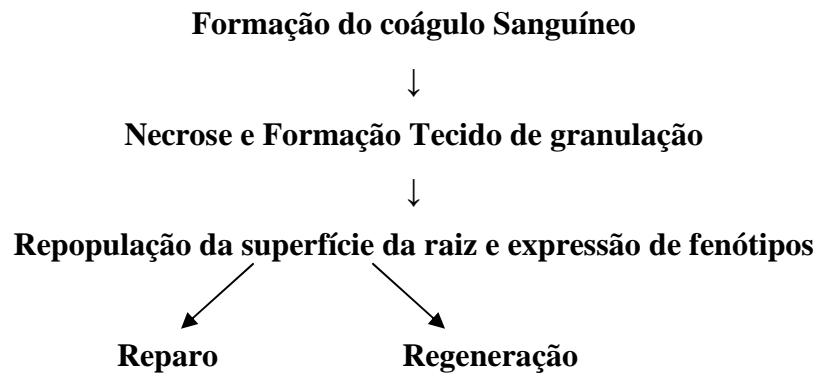
A estabilidade da ferida periodontal é essencial para estabelecer novo tecido conjuntivo de ligação na superfície da raiz, e os tecidos originados do LP representam a solução para a regeneração periodontal, pois estas células têm habilidade de se diferenciar em cementoblasto, fibroblastos e osteoblastos. Evidências científicas apontam que a presença de células originadas do LP, a estabilidade da ferida e cicatrização por primeira intenção são fatores clínicos e biológicos que devem ser os objetivos para se obter a regeneração periodontal. (HIATT et al., 1968; POLIMENI et al., 2006).

A injúria traumática da cirurgia periodontal, ocasiona uma cascata de eventos moleculares e celulares para iniciar a cicatrização. A resposta inflamatória imediata é a formação de um coágulo, o qual é a resposta a qualquer trauma. O coágulo tem duas funções: proteção ao tecido afetado e serve de matriz provisória a migração celular (CLARK, 1996; MARTIN, 1996; N-H LIN et al., 2008).

De acordo com Grzesik e Narayanan (2002) a regeneração do periodonto perdido depende da disponibilidade de células e presença ou ausência de sinais para recrutar ou estimular as mesmas. A matriz extracelular regula como as células respondem a estímulos. As células – tronco (CT) responsáveis pela regeneração periodontal residem no LP.

Polimeni et al. (2006), mostra que a formação do coágulo na interface dente e gengiva na superfície da raiz interposto durante a cirurgia periodontal representa o primeiro evento de cicatrização nesse local (absorção e adesão de proteínas plasmáticas na superfície da raiz). Em minutos o coágulo de fibrina ligada a esta superfície é desenvolvida. Após algumas horas verifica-se a fase inicial da inflamação com predomínio de células inflamatórias como neutrófilos e monócitos acumulando na superfície da raiz. Em três dias se estabelece a fase tardia da inflamação com a migração de macrófagos seguida da organização do coágulo de fibrina com a formação do tecido granulação, novos capilares e fibroblastos, que se diferencia em miofibroblastos para contrair a ferida. Em sete dias o tecido conjuntivo de ligação, se estabelece na superfície da raiz, porém áreas de coágulos de fibrinas podem ser

observados, dependendo do volume da ferida e recursos do tecido, podendo levar ao reparo ou a regeneração da ferida – Figura 5.



**Figura 5: Tempo de cicatrização após a injúria periodontal**

Fonte: Amar, 1996.

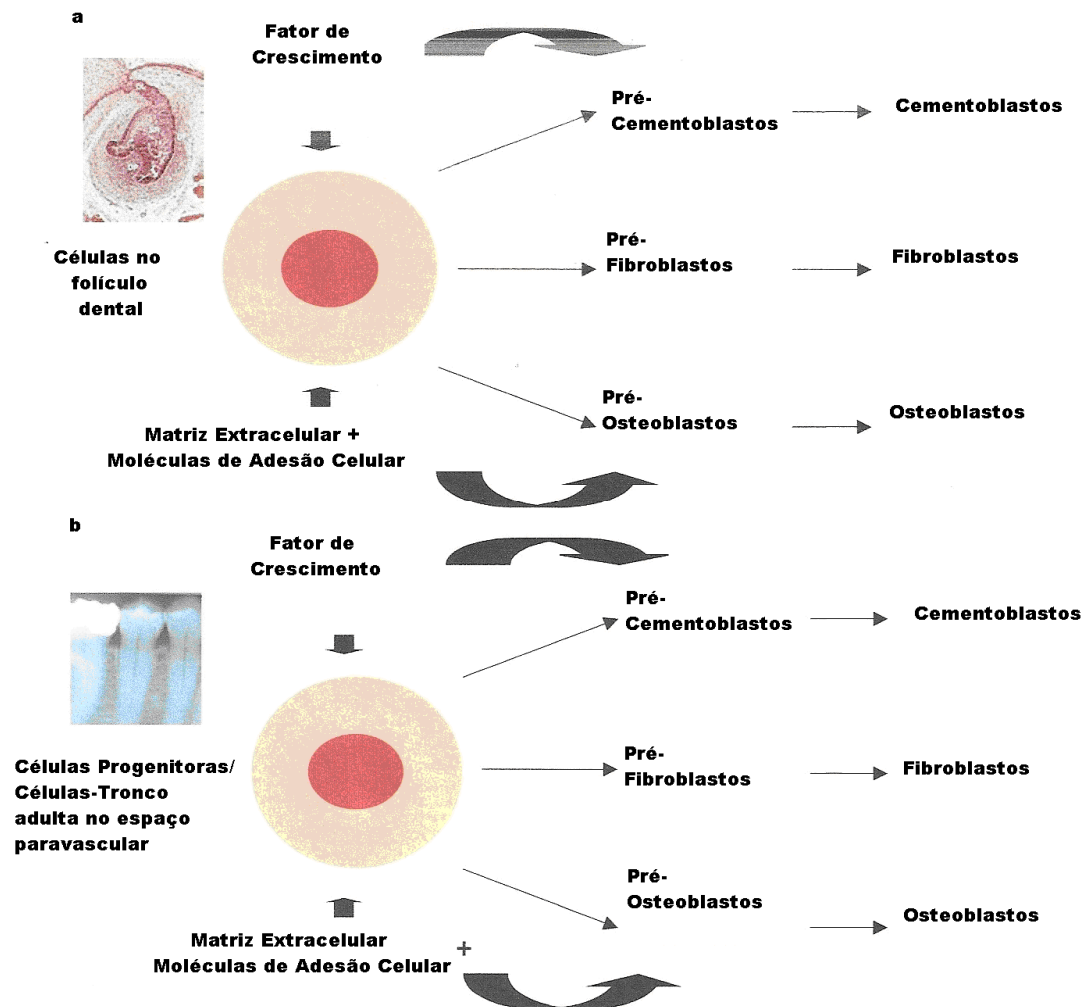
As configurações dos defeitos periodontais são fatores críticos que influenciam a terapia regenerativa. Defeitos profundos infra-ósseos e reduzidos são melhores candidatos quando comparados aos defeitos largos e rasos. A cicatrização do defeito de três paredes é facilitada pela presença de fontes vasculares, nutricionais e contém uma área circunscrita de LP que aumenta o potencial regenerativo (WIKESJÖ & SELVIG, 1999; WIKESJÖ et al., 2003).

Aukhil (2000), afirmou que para a regeneração ocorrer é preciso da viabilidade de células apropriadas, fatores indutivos e matriz extracelular secretadas por essas células. Entretanto, o exato evento é incerto, células progenitoras adequadas deveriam migrar e ligar na superfície da raiz danificada e aí proliferar e maturar. Estas células são dependentes da presença de fatores indutivos e contato com a matriz extracelular, controlando a expressão gênica e fatores específicos de indução.

As CT são particularmente interessantes na cicatrização da ferida periodontal e regeneração, uma vez que são susceptíveis a diferenciar em osteoblasto, cementoblasto e fibroblasto, os responsáveis pela restauração do tecido periodontal perdido – Figura 6 (BARTOLD et al., 2006; LIN et al., 1994 citado por N-H LIN et al., 2008).

N-H Lin et al., (2008) acrescenta que a forma que como as células progenitoras aparecem no vaso sanguíneo do LP ou rodeando o estroma ósseo ainda é incerto.

Segundo Bartold et al. (2006) com o uso da técnica de clonagem, um grande de números de células de diferentes fenótipos tem sido isolada do LP e regenerando o tecido periodontal.



**Figura 6:** Papel das células tronco no desenvolvimento periodontal (a) e regeneração periodontal (b). Células residentes no folículo dentário no desenvolvimento dental ou no espaço paravascular do ligamento periodontal tem o potencial de diferenciar em osteoblastos, ligamento periodontal, fibroblasto e cementoblasto maduros.

Fonte: Bartold et al. (2006).

Segundo McCulloch et al., (1987) culturas celulares do osso tem a capacidade de formar material semelhante à cimento *in vitro*. E estas células parecem ser transferidas para o ligamento periodontal via numerosos canais vasculares no osso alveolar.

A classificação de fatores que podem influenciar no sucesso do manejo do defeito ósseo periodontal que são:

- Contaminação Bacteriana;
- Características locais do sítio;
- Procedimentos e técnicas cirúrgicas;
- Potencial inato de cicatrização da ferida periodontal;
- Envolvimento fisiológico (variação de pH e temperatura);

- Múltiplas interações celulares: epitelial e dos tecidos conectivos;
- Interação da matriz celular;
- Considerações funcionais: forças oclusais deletérias podem afetar a estabilização da ferida durante o processo cicatricial (KORNMAN & ROBERTSON 2000).

## ***1.4 Terapias para Regeneração Periodontal***

### ***1.4.1 Condicionamento da Superfície da Raiz***

Smith et al. (1987) afirma que a superfície da raiz é condicionada por desmineralização de sua superfície ou na camada da superfície da raiz por agentes químicos como fibronectina ou ambos. Acreditava-se que o processo de desmineralização revertia o processo de periodontal da superfície da raiz hipermineralizada e exposição de fibras colágenas, na qual novas fibras poderiam interligar.

Entretanto, este procedimento não causa uma regeneração previsível, e em geral ocasiona anquilose e reabsorção da raiz (N-H Lin et al. 2008).

### ***1.4.2 Enxertos e Substitutos Ósseos***

Os enxertos e substitutos ósseos foram desenvolvidos na expectativa de promover a regeneração periodontal. Vários tipos de enxertos têm sido pesquisados para estimular a neoformação óssea como materiais sintéticos, alógenos e autógenos (N-H Lin et al. 2008).

O enxerto sintético ou inorgânico age quase exclusivamente como preenchedores biológicos, com preenchimento ósseo restrito e regeneração do tecido conjuntivo limitado. Os materiais podem ser classificados como: absorvíveis e não absorvíveis. Dentre os absorvíveis incluem hidroxiapatita, sulfato de cálcio e carbonato de cálcio, e não absorvíveis são hidroxiapatita porosa, hidroxiapatita densa, vidro bioativo e polímero ligado ao cálcio de hidroxietilmetacrilado e polimetilmetacrilato (STAHL & FROUM, 1991).

Os aloenxertos incluem osso ilíaco congelado poroso e medular, osso criopreservado da cabeça do fêmur, osso congelado seco e osso desmineralizado congelado seco. Embora os resultados clínicos do uso de aloenxertos sejam favoráveis (HIATT et al., 1978), a uma necessidade de extensa conservação para diminuir, tanto a rejeição como a transmissão de doenças, dificulta sua ampla utilização na periodontia (STAHL & FROUM, 1991).

Os enxertos autógenos são muito utilizados para o tratamento de lesões intra-ósseas e podem ser obtidos de sítios doadores intra ou extra – orais. Dentre os sítios intra-orais destacam-se tuberosidade maxilar, exostoses, sítios de extração, rebordo edêntulo, ramo mandibular e mento. E extra-oral incluem crista ilíaca e calota craniana (ZUBERY et al., 1993).

Garraway et al. (1998) afirmam que a colocação de materiais de enxertos no defeito periodontal pode resultar em algum ganho de inserção clínica e evidencia radiográfica de formação óssea. Entretanto, histologicamente o que se observa e que este material tem uma capacidade osteoindutiva pequena e em geral envolve o tecido conectivo fibroso.

### ***2.4.3 Regeneração Tecidual Guiada***

O conceito de Regeneração Tecidual Guiada (RTG) foi introduzido, por meio de observações histológicas a formação de novo: cemento, osso e fibras colágenas inseridas na superfície radicular perdidos pela doença periodontal. O princípio biológico da RTG baseiam-se na migração seletiva celular, células do ligamento periodontal e endósteo adjacente em direção a superfície radicular. Através da colocação de uma membrana que pode ser absorvível ou não absorvível no defeito periodontal da superfície da raiz. As células do ligamento periodontal repopulaciona o sítio, tornando possível a regeneração periodontal (NYMAN et al., 1982).

Entretanto de acordo com Needleman et al., (2006), análises histológicas da RTG apresentaram formação de novo tecido conectivo de ligação na superfície da raiz com pequena contribuição para formação de novo cemento e osso não apresentando portanto uma regeneração. A RTG apresenta limitações determinadas pela configuração do defeito periodontal, previsibilidade da técnica cirúrgica, disponibilidade de tecido doador e expectativa estética do paciente.

A concepção que somente células do ligamento periodontal têm o potencial de formar novo tecido conectivo tem sido bem investigada e a exclusão células epiteliais é aplicação básica da RTG - Tabela 1, entretanto os resultados obtidos são imprevisíveis e de pequena magnitude, possivelmente devido infecções pós operatórias e inabilidade de fechamento completo da área da ferida (PONTORIERO & LINDHE 1995; BRATTHALL et al., 1998).

**Tabela 1:** Tipos de membranas e seus respectivos materiais usado na Periodontia

<b>Tipo de Membrana</b>	<b>Material</b>
Não Reabsorvível	Celulose, Eptfe
Reabsorvível	Acido Poliático, Acido poliglicóide, poliglandina – 910 e poli (L-lactide)
Colágeno	Tendão bovino tipo I, Derme suína tipo I+II
Gesso Paris	Sulfeto de Cálcio

**Fonte:** Benatti et al., 2007

Caffesse e Quinones (1993) realizaram estudos associando Fatores de Crescimento e RTG para o desenvolvimento de um ambiente adequado e estímulos para migrações seletivas de células têm sido propostos. Entretanto, resultados promissores são observados *in vitro*, mas *in vivo* estes são insuficientes na regeneração periodontal.

#### **2.4.4 Proteínas da Matriz do Esmalte**

As proteínas da matriz do esmalte (EMD) são descritas como um extrato de proteína do esmalte purificado de suínos e foi introduzido dentro da prática clínica para obtenção da regeneração periodontal. Estas proteínas são compostas por amelogenina (90%) cerca de 6,5% de PGA (alginato de propilenoglicol) e água (PARKAR & TONETTI, 2004).

A amelogenina tem importante papel coadjuvante no desenvolvimento do cemento acelular, ligamento periodontal e osso alveolar. (HAMMARSTRÖM et al., 1997). Os outros compostos são proteínas do esmalte não amelogênicas da matriz como amelinas, proteases, albuminas (SHIMIZU et al, 2004).

Hammarström et al. (1997) verificaram que a bainha epitelial de Hertwig (BEH) constitui a extensão apical do órgão dentário e a camada interna desta bainha representa a extensão da camada ameloblástica na coroa. Tem sido proposto que proteínas dessa bainha epitelial estejam envolvidas na formação do cemento acelular. A amelogenina é uma proteína proveniente da bainha radicular epitelial de Hertwig, desempenha uma função chave na formação dos tecidos periodontais. O autor observou que uma preparação da matriz do esmalte suíno, colocada em cavidades preparadas nas raízes de incisivos de macacos, iniciou a formação de um tecido idêntico ao cemento acelular de fibras extrínsecas, concluindo dessa

forma que a matriz poderia ser utilizada como agente auxiliar na regeneração do cimento acelular.

Estudos *in vitro* têm demonstrado que a associação do EDM com culturas de fibroblastos periodontais resultam no aumento da proliferação deste, produção de colágenos e proteínas e promove mineralização, porém nenhum fator de crescimento tem sido identificado nas preparações de EDM (GESTRELIUS, et al., 1997)

O EDM atua como um fator de reforço a matriz, criando um ambiente positivo para a proliferação celular, diferenciação e síntese de matriz (HASSE & BARTOLD, 2001).

Sculean et al. (2003) aplicaram EDM em defeitos infra-ósseos subgingivalmente com perda óssea avançada para o tipo de resposta periodontal. A análise histológica desses defeitos indicou que, embora com melhoras clínicas, as EDM não foram capazes de promover regeneração periodontal completa, havendo uma pequena formação de cimento apenas na porção mais apical do defeito, sem diferença para os dentes que não receberam as proteínas derivadas da matriz do esmalte.

#### ***2.4.5 Fatores de Crescimento***

As substâncias indutoras do crescimento de ocorrência natural, comumente chamadas de fatores de crescimento, são moléculas de polipeptídios, semelhantes a hormônios em estrutura e função, mas com atividade local potente, ao invés de efeito sistêmico. São liberadas ou ativadas quando é necessária a divisão celular, ação que ocorre durante eventos, como a cicatrização de feridas ou regeneração tecidual. Dentro os fatores de crescimentos destacam-se: Fator de Crescimento Epidérmico (EGF), Fator de Crescimento de Fibroblastos (FGF), Fator de Crescimento semelhante a Insulina (IGF), Fator de Crescimento derivado de Plaquetas (PDGF) e Fator de Crescimento Transformador  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), Tabela 2, todos capazes de estimular células indiferenciadas para promover a regeneração periodontal ou a formação óssea. Estas moléculas têm sido propostas pelo seu uso potencial e regulatório nas funções imunes, nas células epiteliais, óssea e tecido conectivo (N-H LIN et al., 2008; REIS et al., 2009).



**Tabela 2: Efeito dos Fatores de Crescimento nas células derivadas do ligamento periodontal (PDL) e cementoblastos (CMs)**

Fator de Crescimento	Migração		Proliferação		Diferenciação		Expressão matriz genética	
	PDL	CM	PDL	CM	PDL	CM	PDL	CM
BMPs	—	—	0	↓	↓	↑	—	↑
EMD	↑	—	↑	↑	↑	↑↓	↑	↑↓
FGF – 2	↑	—	↑	—	↓	—	↑↓	—
PDGF	↑	—	↑	↑	↓	↓	↑	↑↓
IGF – 1	↑	—	↑	↑	↓	—	↑	↑↓
TGF – β	↑	—	↑	↑	↑	↓	↑	↑↓

—Efeito desconhecido; ↑ Aumento; ↓ Diminuição; 0 nenhum efeito; ↑↓ ambos efeitos verificados; BMP, proteína óssea morfogenética, EMD, derivado de matriz extracelular, FGF, fator de crescimento de fibroblasto, PDGF, Fator de crescimento derivado de plaqueta, IGF, Fator de crescimento semelhante a insulina, TGF, fator de crescimento transformador.

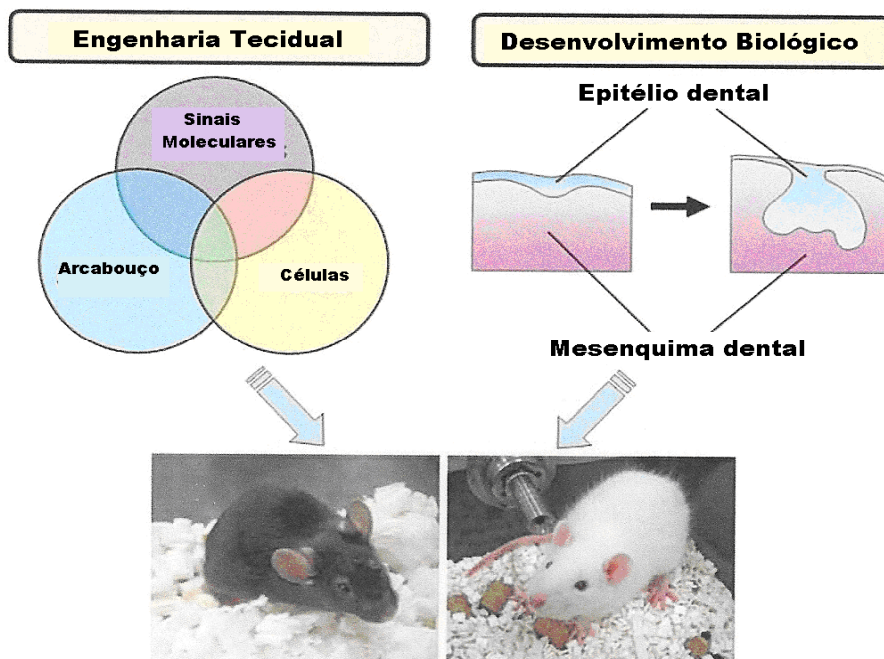
**Fonte:** Benatti et al., 2007.

As BMPs e OPs foram originalmente identificadas a partir de extrato de matriz óssea após um incisivo entrar em desenvolvimento em sítios subcutâneos de roedores (REDDI, 2001).

Ripamonti et al. (2006) afirmou que as BMPs e OPs estão envolvidas na morfogênese dentária em vários estágios de desenvolvimento. Durante a fase tardia da morfogênese dentária, a indução da cementogenese, ligamento periodontal e diferenciação do osso alveolar são regulados por expressão co-ordenada de membros da família de BMPs e OPs. A capacidade de BMPs e OPs em iniciar a cascata celular que resulta na indução de osso é conservada no processo funcional do desenvolvimento embrionário, recapitulado na osteogênese pós-fetal e pode ser explorada novamente para iniciação terapêutica da Regeneração Periodontal. O autor conclui que osteogenico solúvel e sinais moleculares recombinantes, quando combinadas com sinais insolúveis, engatilham a Regeneração Periodontal, com indução de cementogenese e inserção de fibras de Sharpey.

## 2.5 ENGENHARIA TECIDUAL X DESENVOLVIMENTO BIOLÓGICO

Nakahara & Ide (2007) afirmaram que atualmente há duas linhas de pesquisas que mais se aproximam da regeneração dentária. A primeira é baseada na Engenharia Tecidual, na qual o objetivo é a regeneração dentária baseada na cultura celular em um arcabouço de biomaterial. A segunda envolve a reprodução do processo do desenvolvimento embrionário da formação dentária. Isto requer um entendimento dos princípios básicos dos processos que regulam o desenvolvimento inicial do dente e o uso de tecido embrionário (epitélio dental e mesenquimal) colhida de fetos de ratos – Figura 7.



**Figura 7:** Experimentos da regeneração dentária. Representação da Engenharia Tecidual e reprodução do desenvolvimento biológico da formação embrionária do dente.

Fonte: Nakahara & Ide (2007).

### 2.5.1 Engenharia Tecidual

A Engenharia Tecidual é definida como uma ciência de fabricação de novos tecidos, com o objetivo de repor e regenerar o tecido destruído ou perdido. Esta tem desenvolvido técnicas para repor o tecido periodontal perdido ou danificado baseado nos princípios de biologia celular, molecular e de biomateriais (REDDI, 1994; REDDI, 2001; POLIMENI et al., 2006; NAKAHARA & IDE, 2007).

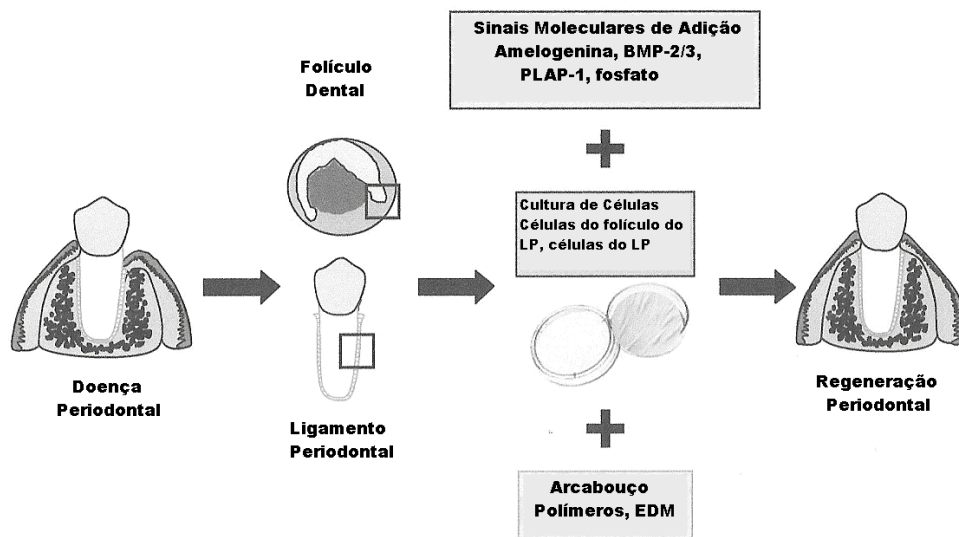
Polimeni et al. (2006) afirmam que recentes avanços no uso de fatores de crescimento biológico e polímeros biodegradáveis têm sido utilizados com sucesso na engenharia tecidual para recomposição de cartilagem, osso e outros tecidos, do qual o periodonto pode ser considerado grande candidato para este processo.

De acordo com Reddi (2001), há três requisitos básicos para melhorar a engenharia tecidual:

- Aspectos moleculares solúveis
- Componentes da matriz extracelular
- Respostas celulares associadas a receptores de superfície.

Progressos da engenharia tecidual têm possibilitado a regeneração de órgãos e tecidos prejudicados, sob determinadas condições necessárias, que suporte o potencial natural de cicatrização tecidual, na qual cada estágio funcional de reconstrução é baseada em processo biológico (BARTOLD et al., 2000).

Segundo Benatti et al. (2007) e Nakahara & Ide (2007), três componentes básicos devem ser considerados na engenharia dos tecidos periodontais, ou seja, sinais apropriados, células e arcabouço que é o objetivo dos defeitos teciduais - Figura 4. Cada um destes componentes desempenha um papel fundamental no processo de cicatrização no período de tempo e interconectado com a geração de novos tecidos.



**Figura 8:** Ilustração sistemática dos elementos necessários na Engenharia Tecidual. Células obtidas do folículo dentário e ligamento periodontal são cultivadas *in vitro*, e sinais moleculares da diferenciação celular em tecidos periodontais pode ser adicionado a cultura. Uma vez identificada, essas moléculas precisam migrar para ferida periodontal em arcabouço apropriado. Fonte: Nakahara & Ide (2007).

Young et al. (2005), sugerem que períodos distintos de desenvolvimento da bioengenharia do dente refletem no crescimento natural do dente, uma vez que leva cerca de 80 semanas e 7 semanas para erupção do 3º molar de suínos e 1º molar de ratos. Os germes dentários de mamíferos parecem conservar um programa distinto de desenvolvimento, mesmo quando são dissolvidos enzimaticamente dentro de células isoladas ou culturas *in vitro*.

### **2.5.2 Desenvolvimento Biológico**

Nakau et al. (2007), reportaram um método para regeneração dentária usando germes dos órgãos dentários (como dente). Estes autores focaram na célula extraída no dia embrionário (E) de E14 camundongos, o qual foi utilizado para formar dentes, células epiteliais e mesenquimais. Os pesquisadores dissociaram o germe dentário de incisivos embrionários em células isoladas e injetaram estas células em gotas de gel de colágeno. Estas gotas foram cultivadas *in vitro* por duas semanas ou implantadas debaixo da cápsula subrenal. Em todos os casos incisivos primórdios foram formados em uma frequência de 100%. Eles também transplantaram o germe dentário cultivado *em vitro* ou único dente regenerado *in vivo*, para o interior do alvéolo após a exodontia de incisivos de camundongos adultos. O desenvolvimento de incisivos normal com evidências de esmalte, polpa, vasos sanguíneos, fibras nervosas e início de raiz na frequência de 17 de 22 e 23 de 27 respectivamente. Entretanto, resta saber se perante o que foi demonstrando, se os dentes podem erupcionar a partir da gengiva e dos ossos maxilares.

O desenvolvimento biológico para a reconstrução dentária utilizando o desenvolvimento dos tecidos esta distante da aplicação clinica nos pacientes. Uma vez que é impraticável o uso de tecido embrionário humano (NAKARA & IDE, 2007).

## **2.6 Células – Tronco**

O termo célula tronco (CT) apareceu na literatura durante o século XIX. A CT refere-se a uma célula clone, indiferenciada, capaz de se auto - renovar e diferenciar em várias linhagens (SMITH, 2006).

Segundo Morscheck et al. (2008) o tecido humano complexo abriga CT ou células precursoras que são responsáveis pelo desenvolvimento ou reparo dos tecidos. E estas podem ser a ferramenta viável para a engenharia do tecido dental.

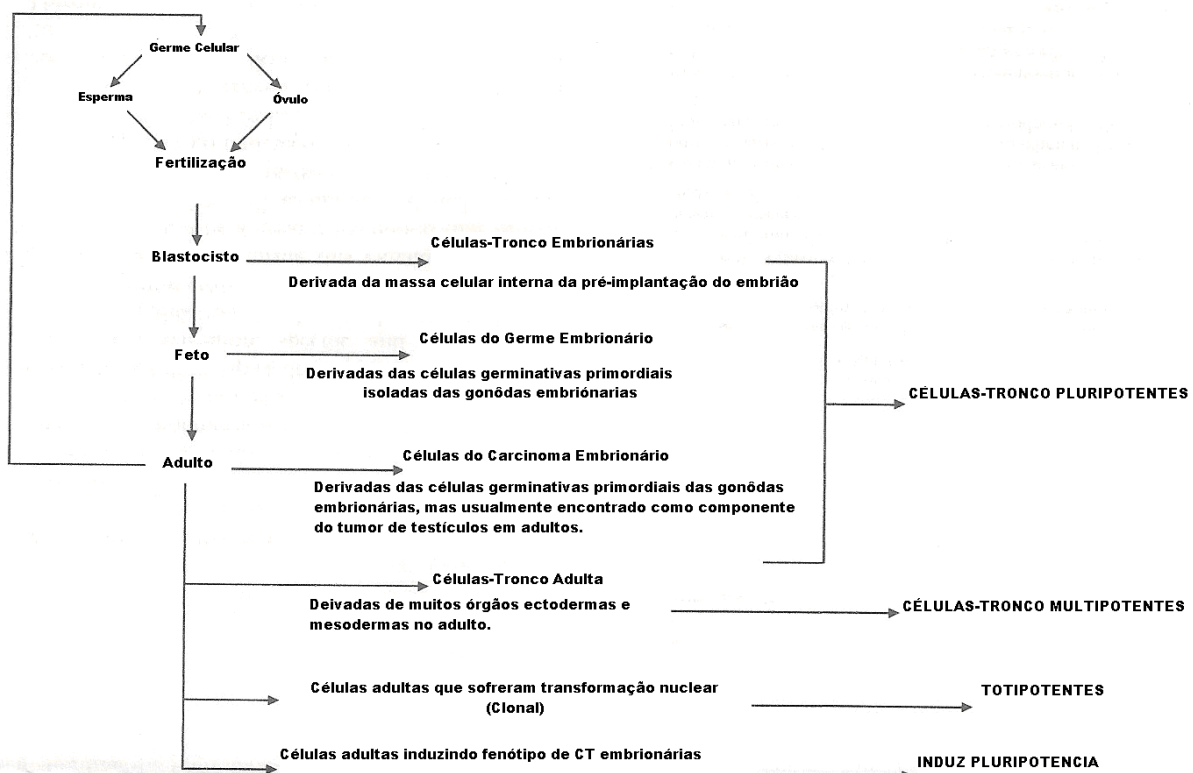
Morrison et al. (1997) afirma que as CT são capazes de se propagar e gerar mais CT, algumas destas podem se diferenciar e maturar em múltiplas linhagens. Dependendo do sinal intrínseco modulado por fatores extrínsecos o nicho de CT, pode prolongar sua renovação ou se diferenciar.

Em geral as populações de CT são classificadas, como derivadas dos tecidos embrionários e pós-natal. As CT embrionárias (CTE) são derivadas do blastocisto e teoricamente tem habilidade de gerar vários tipos celulares a partir do mesoderma, ectoderma e endoderma. Ao passo que as células pós natal são originadas teoricamente de um único tecido, e tem capacidade de desenvolver uma quantidade restrita de linhagens celulares (GRONTHOS et al., 2006).

As CT pluripotentes podem aumentar os três tipos celulares das três camadas de germes do corpo, ectoderma, mesoderma e endoderma (N-H Lin et al.,2008).

Friedenstein et al. (1966) foram os pioneiros a utilizar a cultura *in vitro* de células da medula óssea, identificando as CT, caracterizando-as quanto a capacidade de formarem tecido hematopoiético ou tecido ósseo e de realizarem transplante *in vivo*.

N-H LIN (2008) apresentou os seis tipos de CT em humanos e são classificadas como pluripotente, multipotente, totipotente ou induzir potencial pluripotente - Figura 9.



**Figura 9:** Fontes e derivação da população de CT. Dependendo do sítios, estágio de desenvolvimento ou ambiente de indução da cultura, as células tronco humanas podem ser classificadas como pluripotente, multipotente, totipotente ou induzir potencial pluripotente.

Fonte: N-H Lin et al (2008)

### **2.6.1 Células - Tronco Embrionárias**

As células – tronco embrionárias (CTE) são derivadas de embriões que têm aproximadamente de três a quatro dias de vida e são classificadas como totipotentes, ou seja, são capazes de se diferenciar em todos os 216 tecidos que formam o corpo humano, incluindo a placenta e anexos embrionários. Já o termo pluripotente é utilizado para descrever células – tronco derivadas das três camadas germinativas embrionárias – mesoderme, ectoderme e endoderme. Os diferentes tipos de células especializadas que compõem o corpo são originárias dessas três camadas, estas células tem capacidade de dar origem a qualquer tipo celular, excluindo a placenta e anexos embrionários (SLACK, 2000).

Thompson et al. (1998), obtiveram as primeiras CT embrionária humana, durante o 4 ao 7 dia do estágio de blastocisto, estes embriões foram submetidos a tratamento de fertilidade.

As CTE apresentam grande plasticidade, ou seja, possuem a capacidade da célula em originar diferentes tipos de tecidos. Esta plasticidade se deve ao fato do blastocisto ser capaz de originar todos os órgãos do corpo humano. Após a fecundação, o zigoto se divide e diferencia até produzir um organismo adulto que consiste em mais de 200 tipos de células. Entre esses, neurônios, células musculares (miócitos), células epiteliais, células sanguíneas, células ósseas (osteócito), cartilagem (condrócitos) e outras (SLACK, 2000).

Thompson e colaboradores relataram o isolamento de células em primatas em 1995 e em humanos em 1998.

As CTE são as que apresentam as melhores características de todas as CT cultivadas. As propriedades dessas células são: pluripotência, imortalidade, mantém o cariótipo normal (não há grandes alterações estruturais nos cromossomos) e apresentam marcadores únicos nas superfícies celulares (SLACK, 2000).

O uso de CTE é etnicamente controverso, porém foram primeiras evoluções para terapias atuais (MORSCZECK et al. 2008; N-H Lin et al.,2008).

### **2.6.2 Células – Tronco do Cordão Umbilical e Sangue da Placenta**

Laughlin (2001), afirma que o cordão umbilical e a placenta são ricas fontes de CT. Esse estudo sugere que o sangue do cordão umbilical contém células capazes de desenvolver células de camadas germinativas múltiplas (multipotentes) ou mesmo todas as camadas germinativas: endoderme, ectoderme e mesoderme (pluripotentes).

### 2.6.3 Células - Tronco Adulto e Mesenquimal

AS células - tronco não embrionária (CTNE) são conhecidas como CT adultas uma vez que são obtidas de indivíduos adultos e célula tronco somática. São células indiferenciadas, encontradas em tecidos especializados e em vários órgãos (SMITH, 2006). Essas são divididas em hematopoiéticas (CD34 positivas), que se diferenciam em células sanguíneas, e em CT mesenquimais (CTM) que são menos diferenciadas (THOMPSON et al., 1998).

De acordo com Morszeck et al. (2008), há uma abundância de CT adultos com possibilidade de servir de base para diversas terapias. Hoje se sabe há varias fontes destas CT adultas, tais como medula óssea, sangue, córnea, pâncreas e polpa dental (SLACK, 2000).

Comprando a pluripotencia e natureza imortal da CTE, a célula adulta apresenta um tempo de vida finita e somente uma capacidade de diferenciação multipotente (N-H Lin et al., 2008).

Segundo Friendenstein et al. (1968) a CT do osso medular foi o primeiro de tipo de CT adulta identificada. As CT mesenquimais não hematopoiética, são outra população de célula tronco adulta residente no microambiente do osso medular, são conhecidas como célula do estroma do osso medular (BMSCs).

As BMSCs podem ser isoladas de uma única célula suspensa do osso medular aspirado e ela adere a placa de cultura celular e exhibe características de clonogenicidade devido a sua habilidade de produzir colônias em condições adequadas (PITTENGER, 1999).

Atualmente, sabe-se que existe várias fontes de CT adultas, tais como medula óssea, sangue, córnea e retina. A medula óssea parece conter três populações de CT: hematopoiéticas – Figura 10, células estromais e células progenitoras endoteliais (JACKSON et al., 2001; ORLIC et al., 2001). A existência de CT hematopoiéticas foi descoberta na década de 1960, seguida pela descoberta de células do estroma (células mesenquimais). São células isoladas do sangue e da medula óssea que podem renovar – se e diferenciar – se em uma variedade de células especializadas e sofrer apoptose. As células do estroma são uma população mista que pode gerar osso, cartilagem, gordura e tecido fibroso e conjuntivo (TILL & McCULLOUGH, 1961). As células progenitoras endoteliais podem formar novos vasos por três mecanismos: angiogênese – capilares que resultam de brotos originados de vasos já existentes, arteriogênese – aparecimento de vasos que estariam “adormecidos”, embora alguns acreditam na possibilidade de neoformação e vasculogênese – formação de novos vasos ou remodelação dos já existentes (SCHAPER & SECHOLZ, 2003).

De acordo com Gronthos et al., (2003), a CT mesenquimal tem sido caracterizada por sua morfologia e imunofenotipo usando vários marcadores de superfície. A morfologia pode ser de dois tipos: larga e achatada ou alongada e fibroblástica, mas isso não define ou distingue os aspectos dessas células. É mais importante a identificação da expressão de fenótipos característicos de células: osteoblastos, endotelial, perivascular, neural ou muscular e numerosos marcadores de superfície (incluindo CD49a/CD29, CD44, STRO-1, CD90, CD105, CD106, CD146, CD140b, CD166, CD271). Esta larga expressão moleculares na superfície da célula sugere a ligação entres diferentes tipos celulares desde que a maioria deste marcadores são expressos pela CT mesenquimal.

Grothos et al., (2006) e N-H Lin (2008) e acrescentam que em condições adequadas as CT podem se diferenciar em numerosas linhagens de células, incluindo, osteoblastos, adipócitos, estroma mieolopótável, condrócitos e células neurais. Esta habilidade de elevar múltiplos tipos celulares e sua extensa distribuição em vários tecidos humanos (incluindo os de origem dental), as torna atrativas para a Regeneração Periodontal.

Pesquisas apontam que o papel das CT adultas é a substituição de tecidos danificados e feridos (FORBES et al., 2002). A regeneração dos tecidos é obtida por dois mecanismos: (1) células – troncos circulantes em condições adequadas e mediante a sinalização de citosinas e fatores de crescimentos, se dividem e diferenciam e (2) As células diferenciadas também são capazes de se auto-reparar, por exemplo, hepatócitos, células endoteliais, células musculares lisas, queratinócitos e fibroblastos. Estas células totalmente diferenciadas são limitadas a reparação local. Para reparo mais extenso, as CT são mantidas no estado inativo, e pode ser ativada e mobilizada para o local necessário (ASAHARA & ISNER, 2004).

Durante anos estas células têm sido estudadas e utilizadas na terapêutica clínica. Recentes estudos de CT mesenquimais em adultos têm sido identificados em toda parte do corpo humano. E tem sido verificada também em outros tecidos como adiposo, muscular, vasos sanguíneos periféricos, pâncreas e fígado (ZANNETTINO et al., 2008).

## ***2.7 Células - Tronco na Medicina***

As primeiras aplicações terapêuticas das CT ocorreram com o uso de células multipotentes derivadas de tecidos adultos, tanto em transplante autólogo como em autógenos, ao passo que o uso de CTE é limitado devido às questões éticas. A maior experiência é a utilização da CT derivada do tecido hematopoiético, e essas são amplamente



utilizada como alternativa no tratamento de Leucemia – Aguda e Mieloide. As CT também estão sendo utilizadas no tratamento de várias doenças como: doenças cardíacas, câncer, degeneração neuronal, na recuperação de pacientes tetraplégicos e paraplégicos e outras (CUTLER & ANTIN, 2001).

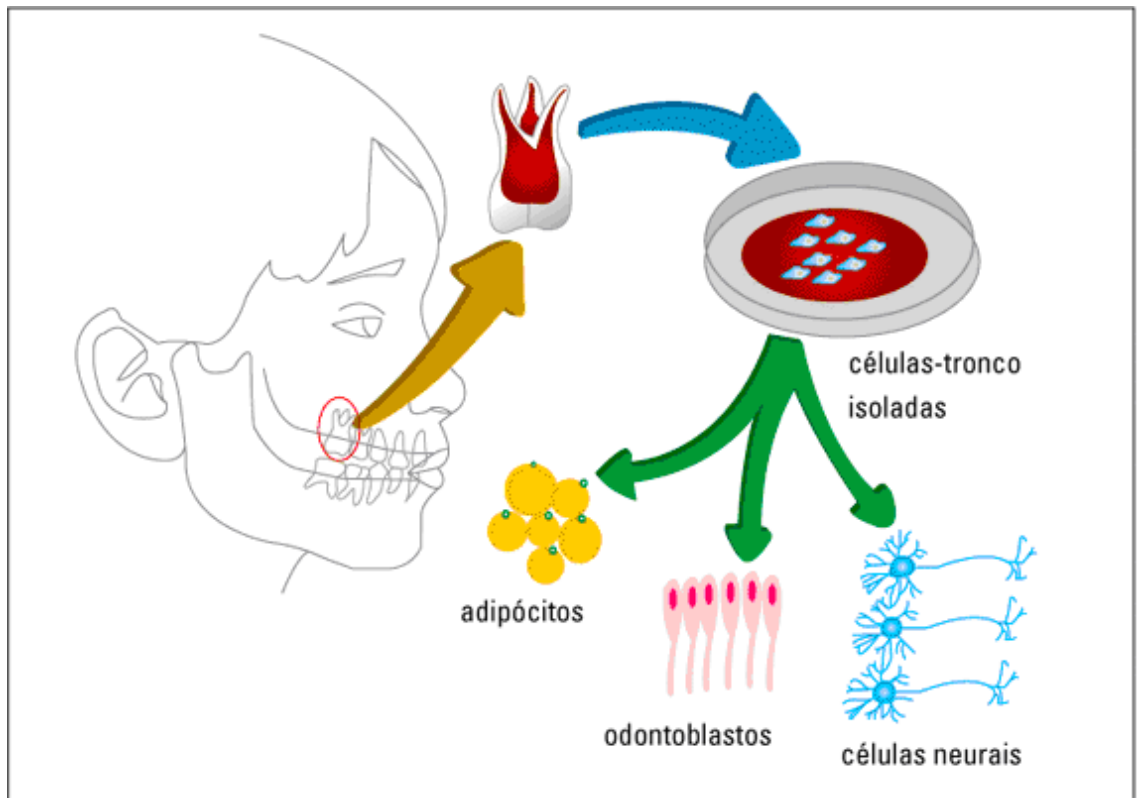
A identificação das CT hematopoiéticas em camundongos por Till e McCulloch em 1961, anunciou o uso da terapia com essas células. Em 1999, 50 doenças tinham sido tratadas com terapia com CT com diferentes graus de sucesso, entre elas leucemia, câncer de mama, doença inflamatória intestinal e osteogênese imperfeita em seres humanos. As CT adultas já oferecem esperança para a reversão dos sintomas de muitas doenças e condições, incluindo o câncer, doenças neurodegenerativas, lesão na medula espinhal e doenças cardíacas.

## **2.8 Células - Tronco na Odontologia**

### **2.8.1 Células – Tronco da polpa dentária**

Estudos têm isolado células altamente proliferativas da polpa dentária, e constatou-se que estas células são multipotentes e possuem capacidade de auto-renovação e diferenciação em diversos tipos celulares. Foi observada uma conversão fenotípica destas células por meio da expressão de proteínas adiposas (PPAR 2, sigla do inglês peroxisome proliferator activated receptor 2, e a lipoproteína lipase), após o estímulo por um meio de cultura com alto potencial indutivo adipogênico. Ademais, as CT da polpa dentária expressaram nestina e proteína glial fibrilar ácida (GFAP, sigla do inglês glial fibrillar acid protein), que são marcadores de precursores neurais e células gliais, respectivamente.

Miura et al. (2003), mostram que há evidência da presença de CT no remanescente da polpa dental de dentes decíduos esfoliados e na polpa dental de dentes permanentes. As CT de dentes decíduos são similares às aquelas encontradas no cordão umbilical, ou seja, apresentam maior potencial de proliferação quando comparada a CT encontradas na medula óssea e na polpa de dente permanente. Pesquisas mostram que CT presentes nos dentes decíduos possuem capacidade osteoindutora *in vivo*, mostrando que estes dentes, podem estar conectados com a indução de formação óssea durante a erupção dos dentes permanentes. Estas células expressam marcadores de células neuronais e gliais pelo fato da polpa ter como origem as células da crista neural, além disso, tem capacidade de se diferenciarem em células odontoblásticas funcionais, adipócitos e células neurais, além de estimularem a osteogênese após transplantação *in vivo* – Figura 10.



**Figura 10: Células – tronco isoladas do tecido pulpar de dente decíduo**

**Fonte: [www.scielo.com.br](http://www.scielo.com.br)**

Shi e Gronthos (2003) verificaram a falta de informação a respeito da localização anatômica precisa das CT da medula óssea e da polpa dental em seus respectivos tecidos. Isto se deve a raridade das CT e a ausência de marcadores específicos que identifiquem os diferentes estágios de desenvolvimento durante a osteogênese e a odontogênese. Uma das hipóteses que explicam estes acontecimentos é a possibilidade da CT da polpa dental e do LP estejam associadas a rede de microvascularização da medula óssea e da polpa dental serem nichos para precursores de osteoblastos e odontoblastos. Os marcadores de CT são de extrema importância, pois estas células residem em diferentes locais dentro do tecido. Os marcadores microvasculares utilizados para localização de tais células são: STRO – 1, marcador de célula do estroma, Fator Von Willebrand e CD146, molécula da superfície de células endoteliais (SHI et al., 2005). HARADA et al. (2002) acrescenta que a expressão de telomerase celular em tecidos normais parece estar associada a presença de CT.

### **2.8.2 Células – Tronco do Ligamento Periodontal**

A concepção que a CT reside no ligamento periodontal foi primeiramente proposta por Melcher há 23 anos, que afirmou que as três populações de células: cimento, osso

alveolar e fibroblastos eram derivados de uma única população células ancestrais ou tronco (BARTOLD et al., 2006).

McCulloch et al. (1987), descreveu que o periodonto tem capacidade de se auto renovar, evidenciado pelo seu rápido turnover. E eles apresentaram a evidência mais persuasiva que as CT estão presentes no ligamento periodontal, por meio de um estudo *in vivo* e histológico.

O LP com grande número de fibras e tecidos vasculares tem um dos maiores índices de turnover do corpo. Varias células estão presente no LP: cementoblastos, osteoblastos, fibroblastos, miofibroblastos, células endoteliais, epiteliais e nervosas. Em adição a estas tem sido identificada *in vivo* uma pequena população de células progenitoras. Estas aparecem para enriquecer os locais adjacentes a vasos sanguíneos, e apresenta alguns traços clássicos de células troncos, incluindo pequeno tamanho, responde a fatores estimulantes e tempo de ciclo lento (BARTOLD et al., 2006).

Chen et al. (2006), utilizando a presença de antígenos de superfície como o STRO – 1, o CD – 146 e o CD – 44, identificaram a presença de CT mesenquimal no periodonto e pesquisaram a distribuição destas células pelo LP humano saudável e em presença de periodontite. As CT mesenquimais foram encontradas dispersas, muitas vezes ao redor de áreas paravasculares e também próximas ao cimento.

Seo et al. (2004) isolaram a população de CT humana multipotente derivada do LP (PDLSCs), em uma cultura única adequada para reconstrução tecidual. As CT mulipotentes exibiram características de CT mesenquimais como: clonogenicidade, grande proliferação e expressão de níveis de marcadores celulares STRO – 1 e marcador perivascular CD146. *In vitro*, PDLSCs pode formar fibras colágenas, gerar cimento e estruturas semelhantes ao LP.

No estágio no qual o folículo dentário desaparece e tem-se a formação dentária, células pluripotentes (possivelmente as PDLSCs descrita por SEO et al., 2004) são hábeis para se diferenciar em células do ligamento periodontal, osso alveolar, cementoblastos presentes no ligamento. Para a formação do LP, a inclusão da bainha epitelial da raiz é essencial, estabelecendo uma interação epitélio-mesenquimal necessária para formação da raiz (THESLEFF, 2003).

Kawanabe et al. (2006) demonstraram que as PDLSCs exibem o perfil de CT e expressão ABCG-2 (marcador usual de célula tronco) e Oct – 4 (fator de transcrição para manter a pluripotência), entretanto, somente 3,9% todas as células derivadas do LP possuem essas características.

Lossdorfer et al (2006), pesquisaram que as células derivadas do LP responde a exposição intermitente dos hormônios da paratireóide, e estes hormônios estão envolvidos na regulação e remodelação óssea, essencial para manutenção da homeostase de fosfato e cálcio.

Vários estudos têm sugerido o uso de CT em várias áreas da odontologia. Alhadlaq & Mao (2003) realizaram um estudo in vitro com CT mesenquimais obtidas da medula óssea de ratos. Estas células foram isoladas e induzidas a se diferenciarem em células condrogênicas e osteogênicas por meio de estímulo do fator de crescimento tumoral. As células foram encapsuladas em duas camadas de matriz composta por hidrogel de polietilenoglicol, moldadas em forma de côndilo de humanos. Esses moldes de acrílico foram implantados em dorsos de ratos imunodeficientes. Foi observada a formação de uma estrutura condilar após 8 semanas da implantação. Este resultado representa uma aplicação clínica útil para desenvolvimento de côndilos mandibulares através da engenharia tecidual.

Gronthos et al. (2000) isolaram CT da polpa dentária a partir de terceiros molares humanos impactados. Em meio de cultura composta por L-ascorbato-2-fosfato, glicorticóide e fosfato inorgânico, e foi observada a capacidade de tais células formar em depósitos cálcicos in vitro. Após transplantação em ratos imunocomprometidos, as CT pulparem exibiram habilidade de formar uma estrutura semelhante ao complexo dentina-polpa, composto de uma matriz de colágeno tipo I altamente organizada, perpendicular à camada tipo odontoblástica, e tecido fibroso contendo vasos sanguíneos, análogo à polpa encontrada em dentes humanos normais.

Em outro estudo, CT mesenquimais provenientes de porcos foram isoladas, cultivadas em matriz de ácido – poli – dl – láctico – coglicólico e incubadas por 10 dias em meio de cultura com suplemento osteogênico. Após esse período, as amostras foram transplantadas para defeitos ósseos mandibulares induzidos cirurgicamente e seis semanas depois procedeu-se a análise histológica e radiográfica. Verificou-se que os defeitos foram preenchidos com um tecido denso semelhante ao osso, apresentando osteoblastos, osteócitos, vasos sanguíneos e osso trabeculado (ABUKAWA et al., 2004).

Na área da endodontia, foi proposto por Nakashima (2005), baseado no cultivo, proliferação e diferenciação de CT pulparem em odontoblastos, sua inserção em uma matriz moldada do preparo cavitário que apresente exposição pulpar e o posicionamento da matriz no dente. Assim haveria proliferação dos odontoblastos e formação de dentina tubular funcional.

## 2.9 Uso de Células – Tronco na Regeneração Periodontal

Song et al., (2001) descreveram que a terapia de combinação de CT mesequimal com CT dental, demonstrando efeitos positivos na proteína da matriz do esmalte e na diferenciação em cementoblastos. Pesquisa mais recente apresentou que a combinação de CT mesenquimal com o plasma rico em plaquetas favoreceu aumento da profundidade de sondagem, ganho clínico de inserção e desaparecimento do sangramento e mobilidade (YAMADA et al., 2006).

Devido ao fato das células do LP serem de origem mesenquimal, é esperado que as CT mesenquimal se diferenciem em LP. Foi realizada uma hibridização em co-cultura de CT mesenquimal e de LP por meio de análise imunohistoquímica verificou-se um significativo aumento na expressão de sialoproteína óssea, o que é uma característica do LP *in vivo*. Conclui-se, então, que o contato ou fatores do LP induziram as CT mesenquimal a obter características semelhantes as dele (KRAMER et al., 2004).

Em uma pesquisa do tipo caso – controle, Kawaguchi et al. (2004) isolaram CT mesenquimal da medula óssea de cães da raça beagle que foram cultivadas *in vitro* usando o fator de crescimento para fibroblastos 2 (FGF - 2). No grupo caso as CT mesenquimais foram misturadas com atenocolágeno (2% de colágeno tipo I) e transplantadas para o interior de defeitos de furca classe III que foram criados para o experimento e no grupo controle foi introduzido somente o atenocolágeno. Após um mês, a cicatrização dos tecidos periodontais foi avaliada por análises morfométricas e histológicas, e verificou-se a regeneração dos defeitos contendo cimento, ligamento periodontal e osso alveolar no grupo caso e uma regeneração significativamente menos foi observada no grupo controle. Esses resultados sugerem que o autotransplante de CT mesenquimal da medula óssea pode ser uma opção para regeneração dos tecidos periodontais.

Seo et al. (2004) realizou uma pesquisa sobre a presença de CT no LP, para esse estudo eles utilizaram uma amostra de 16 indivíduos com a faixa etária entre 19 e 29 anos, foram utilizados 25 3º molares humanos inclusos, dos quais foram isoladas CT do ligamento periodontal. Utilizou-se análise imunohistoquímica, RT – 18, para identificar as CT que apresentavam marcadores STRO – 1 e CD – 146/MUC – 18. Em determinadas condições de cultura, as CT do LP se diferenciam em adipócitos, células formadoras de colágeno e células semelhantes à cementoblastos. Estas células foram transplantadas para ratos imunocomprometidos para avaliar a capacidade de regeneração e reparo periodontal, os resultados mostraram uma habilidade de gerar estrutura semelhante ao cimento, contribuindo para o reparo do tecido periodontal.

Laino et al. (2005) demonstraram a presença de CT adultas no LP, com propriedade clonogênica e alta taxa proliferativa. Essas células foram estimuladas *in vitro* a diferenciarem – se em células tipo cementoblastos, através de um meio rico em L-ascorbato-2-fosfato, dexametasona e fosfato inorgânico, após quatro semanas verificou-se acumulação cálcica, embora em menor proporção quando comparada com CT provenientes da medula óssea e polpa dentária. A análise imunohistoquímica demonstrou que as CT do LP expressaram uma variedade de marcadores cementoblásticos/osteoblásticos. Ao serem transplantadas para ratos imunocomprometidos as células formaram uma estrutura semelhante ao cimento/LP. Em defeitos criados cirurgicamente na área periodontal dos molares inferiores dos ratos, as células se integraram ao ligamento periodontal em duas das seis amostras e, ocasionalmente, uniram a superfície do osso alveolar ao dente. Esses achados implicam em uma possível função das CT na regeneração tecidual periodontal, sendo necessários mais estudos.

Bartold et al. (2006) mostraram que a incidência de unidades formadoras de colônia de fibroblastos (agregados de 50 ou mais células), derivadas do LP foi maior do que as encontradas na medula óssea (170 para CT do LP e 14 para CT da medula óssea por  $10^5$  células), criando as suposições de que estes resultados poderiam estabelecer definitivamente a presença de CT neste tecido ou de refletir uma diferença de turnover entre o estroma do LP e o da medula óssea.

Segundo os estudos de HU et al. (2006) demonstraram diferenciação do osso medular derivado de células ricas em c-Kit<sup>+</sup> em células semelhantes à ameloblastos. E ainda acrescentaram que culturas de células do osso medular com células epiteliais dentais mesenquimais em uma re-associação experimental, após vinte dias, as células derivadas do osso medular adquiriu a morfologia polarizada e expressaram marcas específicas para a amelogenina e ameloblastina. Esta pesquisa mostrou pela primeira vez que células derivadas do osso medular podem ser reprogramadas para aumentar o número de células como ameloblastos oferecendo novas possibilidades de regeneração.

Hasegawa et al. (2006), isolaram CT mesenquimal da medula óssea de cães da raça beagle e utilizaram proteínas verdes fluorescentes (PVF) como marcadoras. As CT mesenquimais foram misturadas com atelocolágeno (2% colágeno tipo I) e transplantadas no interior de defeitos de furca classe III criadas para o experimento. No grupo controle foi inserido nos defeitos somente atelocolágeno. A localização de PVF e das células positivas para o PCNA (proliferating cell nuclear antigen), foram avaliadas por análises imunohistoquímica. Quatro semanas após o transplante, os danos periodontais estavam quase regenerados no grupo caso, entretanto no grupo controle, a regeneração verificada no tecido periodontal foi menor.

## 2. DISCUSSÃO

O periodonto é composto pela gengiva, ligamento periodontal, cimento e osso alveolar. O conhecimento adequado da estrutura periodontal saudável, incluindo sua anatomia, fisiologia e constituição celular e molecular é primordial para a obtenção da Regeneração Periodontal (LINDHE et al., 2005).

A estrutura periodontal uma vez agredida tem uma capacidade limite de regeneração. Entretanto, essa capacidade depende da quantidade de tecido perdido, tipo de defeito ósseo e do nível da seqüela da doença (POLSON, 1994; BARTOLD & NARAYANAN, 1998; WIKESSJO & SELVING, 1999; WIKESJO et al., 2003).

O trabalho de Auklil (2000) mostra que para a regeneração ocorrer é necessário viabilidade de células adequadas, fatores indutivos e matriz extracelular. Essa tríade faz com que ocorra a diferenciação de células específicas e síntese de nova matriz para a restauração da arquitetura e da função do periodonto. Hiatt et al., 1968; Grzesik e Narayanan (2002); Polimeni et al. (2006) ainda acrescentam que a estabilidade da ferida, cicatrização por primeira intenção e presença de células originadas do Ligamento Periodontal são fatores clínicos e biológicos que devem ser objetivos a serem atingidos para a obtenção da Regeneração Periodontal.

Há vários tratamentos que visam a Regeneração Periodontal com diferentes tipos de resultados: 1) condicionamento da superfície da raiz (SMITH et al., 1987), porém esse condicionamento leva em geral a anquilose ou reabsorção dentária (DREYER & HEERDEN, 1986); 2) enxertos e substitutos ósseos com o uso de materiais aloplásticos, autógenos e xenogénos (GARRAWAY et al., 1998), mas N-H Lin et al. (2008) mostram que esses tratamentos levam na maioria dos casos a somente obtenção de osso; 3) Regeneração Tecidual Guiada que se baseia na colocação de barreiras para guiar a migração seletiva de células (NYMAN et al., 1982), sendo que autores como Pontoriero & Lindhe (1995) e Needleman et al., (2006) mostram em suas pesquisas que a RTG apresenta limitações dependendo do tipo de defeito periodontal; 4) o uso de proteínas da matriz do esmalte (PARKAR & TONETTI, 2004), porém estudo tem demonstrado que EDM não foram capazes de promover regeneração periodontal completa; 5) aplicação de Fatores de Crescimento (N-H LIN et al., 2008; REIS et al., 2009) com resultados iniciais promissores, porém com limitada disponibilidade comercial para aplicação clínica.

Entretanto, apesar deste acervo de materiais e técnicas com o objetivo de promover a regeneração periodontal, estes apresentam diversas variáveis que limitam seu uso clínico.

Assim, faz-se necessário mais estudo para aprimoramento, e técnicas direcionadas para a obtenção da regeneração periodontal. A Engenharia Tecidual é definida como uma ciência de fabricação de novos tecidos, com o intuito de repor e regenerar o tecido destruído ou perdido. A engenharia tecidual tem desenvolvido técnicas para repor o tecido periodontal perdido ou danificado baseado nos princípios de biologia celular, molecular e de biomateriais (REDD 1994; REDD, 2001; POLIMENI et al., 2006; NAKAHARY & IDE, 2007).

O termo célula tronco apareceu na literatura no século XIX e refere-se a uma célula clone, indiferenciada, capaz de auto-renovar e diferenciar em várias linhagens celulares (SMITH, 2006), fato também relatado por Morrison et al., 1997, Gronthos et al., 2006 e Morsscket et al., 2008.

Friednstein et al. (1966) foram os pioneiros no uso de cultura *in vitro* de células da medula óssea, identificando as CT, caracterizando – as quanto a capacidade de formarem tecido hematopoiético ou ósseo. Fato também posteriormente confirmado por Jackson et al., 2001 e Orlic et al., 2001, e ainda acrescentam que a medula óssea parece conter mais de duas populações de CT além da hematopoiética, as células estromais e progenitoras endoteliais.

Gronthos et al. 2006 acrescentam que em condições adequadas as CT podem se diferenciar em numerosas linhagens celulares incluindo osteoblasto, adipócitos, estroma mielosuportável, condrocitos, e neurais. Tal fato também confirmado pelo trabalho de N-HLin et al. (2008) que coloca como uma condição para uma célula ser classificada como CT a capacidade de dar origem a tecidos diferentes de onde foi encontrada.

As CT podem ser classificadas como embrionárias ou não embrionárias conhecidas também como CT adultas, uma vez que são obtidas de indivíduos adultos e estas são divididas em hematopoiéticas e CT mesenquimais. As CT embrionárias são derivadas de embriões que tem aproximadamente de 3 a 4 dias de vida, e são classificadas como totipotentes, sendo portando capazes de se diferenciar em todos os tecidos que formam o corpo e se propagam indefinitivamente mantendo o estado indiferenciado. Já as CT não embrionária são pluripotentes e possuem um potencial de diferenciação menos que as CT embrionária (MORSCKET, et al.; GRONTHOS et al., 2006; N-H LIN et al. 2008).

A aplicação do CT vem sendo utilizada como alternativa para tratamento de diversas doenças, tanto no campo da Medicina como da Odontologia.

Devido à necessidade de isolamento dessas células, marcadores de superfície têm sido estudados como mostra Gronthos *et al.*(2003), ao apresentar numerosos marcadores de superfície como CD-49a, CD-44, STRO-1, CD-90, CD-105, CD-106, CD-146, CD-140b, CD-166, CD-271. Shi e Gronthos (2003) identificaram outro marcador de superfície o Fator Von



Willebrand e Harada et al. (2002) acrescenta que a expressão de Telomerase celular em tecidos normais parece estar associada à presença de CT.

A presença de CT no ligamento periodontal tem sido verificada como mostra o trabalho de Seo et al. (2004) que isolaram as CT derivadas do ligamento periodontal e essas exibiram características de clonogenicidade, grande proliferação e expressão de níveis de marcadores celulares STRO – 1 e CD – 146. Chen e al. (2006), utilizando esses mesmos marcadores, identificaram a presença de CT mesenquimal no periodonto saudável e na presença de periodontite. O estudo de Nagatomo et al. (2006), caracterizou quantitativamente as células do LP de acordo com as propriedades das CT, como auto-renovação, multipotencialidade e expressão de marcadores de superfície e mostraram que 30% das células apresentavam potencial de proliferação e formação de colônias, sendo que 30% dessas colônias eram positivas para marcadores como STRO-1, CD – 105, CD – 166 e 30% se diferenciavam em osteoblastos.

As pesquisas com o uso de CT para a Regeneração Periodontal mostraram resultados promissores como os de Kawaguchi et al. (2004) e Hasegawa et al. (2006) que isolaram CT mesenquimal da medula óssea de cães beagle cultivadas *in vitro* e transplantaram para o interior dos defeitos ósseos, verificando-se a regeneração dos defeitos com formação cemento, ligamento periodontal e osso alveolar. É importante ressaltar que uma regeneração menos significativa foi observada no grupo controle.

Laino et al. (2005), demonstrou a presença de CT adultas no Ligamento periodontal, estimulando essas células *in vitro*, através de um meio rico em L-ascorbato, dexametasona e fosfato inorgânico a se diferenciarem em cementoblastos. Ao transplantarem essas CT para ratos imunocomprometidos as células formaram estudos semelhantes ao cemento e ligamento periodontal. Bartold et al. (2006) mostraram que a incidência de unidades formadoras de colônia de fibroblastos (agregados de 50 ou mais células), derivadas do ligamento periodontal foi maior que as encontradas na medula óssea (170 para CT do LP e 14 para CT da medula óssea), criando suposição de que esses resultados poderiam estabelecer definitivamente a presença de CT nesses tecidos.

A regeneração periodontal é um campo da periodontia onde existe ainda muita controvérsia a respeito do melhor meio a ser utilizado para que se obtenha a regeneração periodontal. A descoberta da CT e de sua utilização no reparo de tecidos e órgãos é um grande marco para a ciência. Pesquisas que investigam a presença de CT no LP e a sua capacidade de formarem osso alveolar, cemento e LP vêm aumentando. Esses avanços da bioengenharia abrem caminho para o desenvolvimento de novas terapias para obtenção de um sucesso definitivo para a regeneração dos tecidos periodontais.

### 3. CONCLUSÃO

A terapia periodontal ideal é aquela que visa obter a Regeneração Periodontal. Durante anos várias técnicas e métodos têm sido propostas para atingir tal finalidade. Entretanto, de acordo com a literatura pesquisada, verifica-se que a maioria destas terapias apresenta variação em relação à previsibilidade, efetividade clínica e estabilidade. Além disso, os estudos mostram que a verdadeira regeneração não é alcançada.

O conhecimento da biologia das células – tronco e da regulação molecular da morfogênese dental, esta contribuindo para o estabelecimento de estratégias futuras na engenharia de tecidos aplicados a Odontologia, com o desenvolvimento de novas terapias que visam à regeneração dos tecidos dentários.

Pesquisas recentes investigam a capacidade das CT presentes no ligamento periodontal e sua potencialidade de formar osso alveolar, cemento e ligamento periodontal, por meio de transplante destas células para a área afetada.

A bioengenharia associada aos conhecimentos sobre as CT e a morfogênese dental, sinaliza um futuro promissor. Porém muito estudo ainda deverá ser realizado para que o uso de CT na Regeneração Periodontal obtenha o desempenho esperado e que seu uso clínico seja viável.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ABUKAWA, H., SHIN, M., WILLIAMS, W.B., VACANTI, J.P., KABAN, L.B., TROULIS, M.J. Reconstruction of mandibular defects with autologous tissue – engineered bone. **Journal Oral Maxillofacial Surgery**, Filadelfia, v. 62, n. 5, p. 601-606, 2004.

AFFESSE, R., QUINONES, C. Polypeptide growth factors and attachment proteins in periodontal wound healing and regeneration. **Periodontology 2000**, Copenhagen, v. 1, p. 69-79, 1993.

ALHADLAQ, A., MAO J.J. Tissue – engineered neogenesis of human-shaped mandibular condyle from rat mesenchymal stem cells. **Journal Dental Research**. Alexandria, v. 82, n. 12, p. 951-956, 2003.

AMAR, S. Implications of cellular and molecular biology advances in periodontal regeneration. **The Anatomical Record**. V. 245, p. 361-373, 1996.

AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY. Glossary of periodontal terms. 3<sup>a</sup> ed. Chicago: American Academy of Periodontology, 1992 apud KARRING, T., LINDHE, J., CORTELLINI, P. **Terapia periodontal regenerativa**. In LINDHE, J. Tratado de periodontia e implantologia oral. 4<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. cap. 28, p. 630-683.

ASAHARA T., ISNER, JM. Endothelial Progenitor Cells. **Stem Cell Handbook** p. 221-227, 2004.

AUKHIL, I. Biology of wound healing. **Periodontology 2000**, Copenhagen, v. 22, p. 44-50, 2000.

BARTOLD, P.M., NARAYANAN, A.S. Periodontal Regeneration, In: **Biology of the periodontal connective tissues**. Cap. 11, Chicago: Quintessence, 1998.

BARTOLD, P.M., McCULLOCH, C.A.G., NARAYANAN, A.S. PITARU, S. Tissue engineering: a new paradigm for periodontal regeneration based on molecular and cell biology. **Periodontology 2000**, Copenhagen, v. 24, p. 253 – 269, Oct 2000.

BARTOLD, P.M., SHI, S., GRONTHOS, S. Stem cells and periodontal regeneration. **Periodontology 2000**, Copenhagen, v. 40, p. 164-172, Feb. 2006.

BECKER, W., BECKER, B.E., Periodontal regeneration: a contemporary evaluation. **Periodontology 2000**, Copenhagen, v.19, p. 104-114, 1999.

BENATTI, BB., SILVÉRIO, KG., CASATI, MZ., SALLUM, EA., NOCITI, FH. Physiological features of periodontal regeneration and approaches for periodontal tissue engineering utilizing periodontal ligament cells. **Journal of Biosc. And Bioeng.** v. 103. p. 1-6. 2007.

BOABAID, F., GIBSON, C.W., KUEHL, M.A., BERRY, J.E., SNEAD, M.L., NOCITI, F.H., KATCHBURIAN, E.,M SOMERMAN, M.J. Leucine – rich amelogenin peptide: a candidate signaling molecule during cementogenesis. **Journal of Periodontology.** Indianapolis, v. 75, p. 1126 – 1136, 2004.

BRATTHALL, G., SODERHOLM, G., NEIDERUD, A., KULLENDORFF, B., EDWARDSSON, S., ATTSTROM, R. Guided tissue regeneration in the treatment of human infrabody defects - Clinical, Radiographical and Microbiological results: a pilot study. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhage, v. 25, p. 908-914, 1998.

CANTON, J., NYMAN, S., ZANDE, R. Histometric evaluation of periodontal surgery II: connective tissue attachment levels after four regenerative producers. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhage, v. 7, p. 224-231, 1980.

CHEN S.C., MARINO, V., GRONTHOS, S., BARTOLD, P.M. Location of putative stem cells in human periodontal ligament. **Journal of Periodontal Research.** Copenhage, v. 41, n. 6, p. 547-553, Dec.2006.

CLARK, R. **The molecular and cellular biology of wound repair**. 2<sup>a</sup> ed. Nova York: Plenum, 1996.

CORTELLINI, P., BOWERS, G.M. Periodontal regeneration of intrabony defects: an evidence-based treatment approach. **International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry**, Chicago, v. 15, n.2, p. 128-145, Apr. 1995.

CUTLER, C., ANTIN, J.H. Peripheral blood stem cells for allogeneic transplantation: a review. **Stem Cells**, Dayton, v. 19, n. 2. p. 108-117, 2001.

DUAILIBI, M.T., et al. Bioengineered teeth from cultures rat tooth bud cells. . **Journal of Dental Research**, Washington, v. 83 n.7, p. 523 – 528, 2004.

FORBES, SJ, VIG, P., POULSOM, R., WRIGHT, NA, ALISON, MR. Adult Stem Cell Plasticidade: Novos Caminhos da Regeneração Tecidual tornam-se visíveis. **Clinical Science** v. 103. p. 355-369, 2002.

FRIEDENSTEIN, A.J., PIATETZKY – SHAPIRO, I.I., PETRAKOVA, K.V. Osteogenesis in transplants of bone marrow cells. **Journal of Embriology and Experimental Morphology**, Cambridge, v. 16, n.3, p. 381-390, Dec 1966.

GARRAWAY, R., YOUNG, W.G., DALEY, T., HARBROW, D., BARTOLD, P.M., Ann Assesment of the osteoinductive potential of commercial demineralized freeze-dried bone in the murine thigh muscle implantation model. **Journal of Periodontology**. Indianapolis v.69, p. 1325-1336, 1998.

GESTRELIUS, S., ANDERSSON, C., LIDSTRÖM., HAMMARSTRÖM, L., SO MERMAN, M. In vitro studies on periodontal ligament cells and enamel matrix derivative. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhage, v. 24, n. 9, p. 685-692, Sept. 1997.

GRONTHOS, S., AKINTOYE, S.O., WANG, C., SHI, S. Bone marrow stromal stem cells for tissue engineering. **Periodontology 2000**, Copenhagen, v. 41, p. 188-195, Feb. 2006.

GRONTHOS, S., MANKANI, M., BRAHIM, J., GEHRON ROBEY,P., SHI, S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. **Proc Natl Acad Sci USA**, Washington, v.97, n25, p. 13625-13630, 2000.

GRONTHOS, S., ZANNETINO, A.C., HAY, S.J., et al. Molecular and cellular characterization of highly purified stromal stem cells derived from human bone marrow. **Journal Cell Science**, v. 116, p. 1827-1835, 2003.

GRZESIK, W.J., NARAYNAN, A.S. Cementum and periodontal wound healing and regeneration. **Crit Rev Oral Biol Med**, v. 13, p. 474-484, 2002.

HAASE, H.R., BARTOLD, P.M. Enamel matrix derivative induces matrix synthesis by cultured human periodontal fibroblast. **Journal of Periodontology**. Indianapolis, v. 72, p. 341-348, 2001.

HAMMARSTRÖM, L. Enamel matrix cementum development and regeneration. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhage, v. 24, p. 658- 668, 1997.

HARADA, H., MITSYASU, T., TOYONO, T., TOYOSHIMO, K. Epithelial stem cell in teeth. **Odontology**, p. 90-91, 2002.

HASEGAWA, N., KAWAGUCHI, H., HIRACHI, A., TAKEDA, K., MIZUNO, N., NISHIMURA, M., KOIKE, C., TSUJI, K., IBA, H., KATO, Y., KURIHARA, H. Behavior of transplanted bone marrow – derives mesenchymal stem cells in periodontal defects. **Journal of Periodontology**. Indianapolis, v. 77, n. 6, p. 1003-1007, June 2006.

HIATT, W.H., STLLARD, R.E., BUTLER, E.D., BOUDGETT, B. Repair following mucoperiosteal flap surgery with full gingival retention. **Journal of Periodontology**. Indianapolis, v. 39, p. 11-16, 1968.

HIATT, W.H., SCHALLHORN, R.G., AARONIAN, A.J. The induction of new bone and cementum formation. IV. Microscope examination of the periodontium following human bone and marrow allograft, autograft and nongraft periodontal regenerative procedures. **Journal of Periodontology**. Indianapolis, v. 49, p. 495-512, 1978.

HU, L., CHENG, L., WANG, J., ZHAO, H., DUAN, H. Effects of human yolk sac endothelial cells on supporting expansion of hematopoietic stem/progenitor cells from cord blood. **Cell Biology International**. Inlaterra, v. 30, n. 11, p. 879-884, Nov 2006.

JACKSON, K., MAJIKA, S.M., WANG, H., POCIUS, J., HARTLEY, C.J., MAJESKY, M., ENTMAN. M.L., MICHAEL, L.H., HIRCHI, K.K., GOODELL, M.A. Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. **Journal Clinical Invest.** v. 107. p. 1-8, 2001.

KARRING, T., NYMAN, S., GOTTLow, J., LAURELL, L. Development of the biological concept of guided tissue regeneration – animal and human studies. **Periodontology 2000**, Copenhagen, v.1, p. 26-35, 1993.

KAWANABE, N., MURAKAMI, K., TAKANO-YAMAMOTO, T. The presence of ABCG2-dependet side population cells in human periodontal ligament. **Biochem Biophys Res commun**, v. 344, p. 1278-1283, 2006.

KAWAGUCHI, H., HIRACHI, A., HASEGAWA, N., IWATA, T., HAMAGUCHI, H., SHIBA, H., TAKATA, T., KATO, Y., KURIHARA, H. Enhancement of periodontal tissue regeneration by transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells. **Journal of Periodontology**. Indianapolis, v. 75, n. 9, p. 1281-1294, Sept. 2004.

KORNMAN, K.S., ROBERTSON, P.B. Fundamental principles affecting the outcomes of therapy for osseous lesions. **Periodontology 2000**, Copenhagen, v.22, p. 22-43, 2000.

KRAMER, P., NARES, S., KRAMER, S.F., GROGAN, D., KAISER, M. Mesenchymal stem cells acquire characteristics of cells in periodontal ligament in vitro. **Journal of Dental Research**, Washington, v. 83, n.1, p. 27-34, Jan.2004.

LAINO, G.M, D'AQUINO, R., GRAZIANO, A., LANZA, V., CARINCI, F., PIROZZI, G., PAPACCIO, G. A new population of human adult dental pulp stem cells: a useful source of living autologous fibrous bone tissue. **Journal of Bone Mineral Research**. Estados Unidos, V. 20, n. 8, p. 1394-1402, Aug. 2005.

LAUGHLIN, M.J. Umbilical cord blood for allogenic transplantation in children and adults. **Bone Marrow Transplants**. v. 27, p. 1-6, 2001.

LINDBLAD, WJ. Stem cells in Dermal Wound Healing. **Stem Cell Handbook**. p. 101-105, 2004.

LINDHE, J. et al. Tratado de periodontologia clínica e implantologia oral, 4<sup>o</sup> ed., Ed. **Guanabara Koogan**, Rio de Janeiro 2005

LOSSDORFER, S., GOTZ, W., JAGER, A. PTH (1-34) affects osteoprotegerin production in human PDL cells *in vitro*. **Journal of Dental Research**, Washington v. 84. p. 634-38. 2005.

MARTIN, P. Wound healing-aiming for perfect skin regeneration. **Science**, Washington, v. 276, p. 75-81, 1996.

McCULLOCH, C., NEMETH, E., LOWENBERG, B., MELCHER, A. Paravascular cells in endosteal spaces of alveolar bone contribute to periodontal ligament cells populations. **The Anatomical Record**. v 219, 233-242, 1987.

MELCHER, A.H. On the repair potential of periodontal tissue. **Journal of Periodontology**. Indianapolis, v. 47, p. 256-260, 1976.

MIURA, M., GRONTHOS, S., ZHAO, M., LU, B., FISHR, L.W., ROBEY, P.G., SHI, S. Stem cells from human exfoliated deciduous teeth. **Proceedings of the National Academy of Science of United States of America**, Washington, V. 100, n. 10, p. 5807 – 2812, May, 2003.

MORRISON, S., SHAH, N., ANDERSON, D. Regulatory mechanisms in stem cell biology cell, v. 88, p. 287-298, 1997.

MORSCZECK, C., SCHMALZ, G., REICHERT, T.E., VOLLNER, F., GALLER, K., DRIEMEL, O. Somatic stem cells for regenerative dentistry. **Clinical Oral Invest**. V. 12, p. 113-118, Jan 2008.



NAKAHARA, T., IDE, Y. Tooth regeneration: Implications for the use of bioengineered organs in first – wave organ replacement. **Human Cell**, v.20, p. 63-70, Apr. 2007.

NAKASHIMA, M. Bone morphogenetic proteins in dentin regeneration for potential use in endodontic therapy. **Cytokine Factor Rev**, Oxford, v. 16, n. 3, p. 369-376, 2005.

NAKAU, K., MORITA, R., SAJI, Y. et al. The development of a bioengineered organ germ method. **Nat Meth**, v. 4, p. 227-230, 2007.

NEEDLEMAN, I.G., WORTHINGTONM, H.V., GIERDRYS-LEEPER, E., TUCKER, R.J. Guided tissue regeneration for periodontal infra-body defects. **Cochrane Database Sys Rev**, CD001724, 2006.

N-H LIN, GRONTHOS, S., BARTOLD, P. Stem cells and periodontal regeneration. **Australian Dental Journal**, Australia, v. 53, p. 108-121, 2008.

NYMAN S, LINDHE J; KARRING T; RYLANDER H. New attachment following surgical treatment of human periodontal disease. **Journal Clinical Periodontology**, Indianapolis, v. 9. p. 290-296. 1982.

ORLIC, D., KAJSTURA, J., CHIMENTI, S., JAKONIUK, I., ANDERSON, S.M., LI, B., MCKAY, R., NADAL – GINARD, B., BODINE, D.M., LERI, A., ANVERSA, P. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. **Nature**. V. 410. P. 701 – 705, 2001.

PARKAR MH, TONETTI M . Gene expression profiles of periodontal ligament cells treated with enamel matrix proteins in vitro: analysis using cDNA arrays. **Journal of Periodontology**. Indianapolis v.75.p. 1539–1546. 2004.

PITTENGER, M.F., MACKAY, A.M., BECK, S.C., et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. **Science**, Washington V. 284, p. 143-147, 1999.

POLIMENI, G., XIROPAIDIS, A., WIKESJÖ, U.M.E. Biology and principles of periodontal wound healing/regeneration. **Periodontology 2000**, Copenhagen, V. 41, p. 30-47, Feb. 2006.

POLSON, A. **Periodontal Regeneration**. Chicago: Quintessence, 1994.

POLSON, A., PROYE, M. Fibrin linkage: A precursor for new attachment. **Journal of Periodontology**. Indianapolis, v. 54, p. 141-147, 1983.

PONTORIERO, R., LINDHE, J. Guided tissue regeneration in the treatment of degree III furcation defects in maxillary molars. **Journal Clinical Periodontology**, Indianapolis, v.22, p. 810-812, 1995.

REDDI, A.H. Symbiosis of biotechnology and biomaterials: applications in tissue engineering of bone and cartilage. **Journal Cell Biochem**, v. 56, p. 192-195, 1994.

REDDI, A.H. Morphogenesis and tissue engineering of bone and cartilage: inductive signals, stem cells, and biomimetic biomaterials. **Tissue Eng**, v, 6, p. 351-359, 2001.

RIPAMONTI, U., TEARE, J., PTIT, J-C. Pleiotropism of bone morphogenetic proteins: from bone induction to cementogenesis and periodontal ligament regeneration. **Journal International Acad Periodontol**, v. 8, p. 23-32, 2006.

SCHAPER, W., SECHOLZ, D. Factors regulating arteriogenesis. **Tromb Vascular. Biol.** v. 23, p. 1143-1151, 2003.

SCULEAN A, WINDISCH P, KEGLEVICH T, GERA I. Histologic evaluation of human intrabony defects following non-surgical periodontal therapy with and without application of an enamel matrix protein derivative **Journal of Periodontology**. Indianapolis. v. 74, n. 2, p. 153-60, 2003.

SEO, BM., MIURA, M., GRONTHOS, S., BARTOLD, PM., BATOULI, S. BRAHIM, J., YOUNG, M., ROBEY, PG., WANG, CY., SHI, S. Investigation of multipotent postnatal cells from human periodontal ligament. **Lancet**, London, v. 364. n. 9429, p. 149-55, July 2004.

SHI, S., GRONTHOS, S. Perivascular niche of postnatal mesenchymal stem cells in human bone marrow and dental pulp. **Journal of Bone and Mineral Research**, Nova York, v. 18, n. 4, p. 696 – 704, Apr.2003.

SHIMIZU E, NAKAJIMA Y, KATO N et al. . Regulation of rat bone sialoprotein gene transcription by enamel matrix derivative. **Journal of Periodontology**. Indianapolis v.75,p. 260–267. 2004.

SLACK, J.M. Stem cells in epithelial tissues. **Science**, Washington, v. 287, n. 5457, p. 1431 – 33, 2000.

SLAVKIN, H., BRINGAS, P., BESSEM, C., SANTOS, V., NAKAMURA, M., HSUM, Y., SNEAD, M., ZEICHNER-DAVID, M., FINCHAM, A. Hertwig's epithelial root sheath differentiation and initial cementum and bone formation during long-term organ culture of mouse mandibular first molars using serumless chemically defined medium. **Journal of Periodontal Research**. Copenhagen, v. 24, p. 28-40, 1989.

SMITH, B., CATESSE, R., NASJLETI, C., KON, S., CASTELLI, W. Effects of citric acid and fibronectin and laminin applications in treating periodontites. **Journal Clinical Periodontology**, Indianapolis, v.14, p. 396-402, 1987.

SMITH, A. A glossary for stem cell. **Biology Nature**, p. 441-1060, 2006.

SONG, A.M., SHU, R., XIE, Y.F., SONG, Z.C., LI, H.Y, LIU, X. F., ZHANG, X.L. A study of enamel matrix proteins on differentiation of porcine bone marrow stromal cells into cementoblasts. **Cell Proliferation**, v. 40, p. 381-396, 2007.

STAHL, S.S., FROUM, S.J., TARNOW, D. Human clinical and histologic responses to the placement of HTR polymer particles in 11 intrabony lesions. **Journal of Periodontology**. Indianapolis, v. 61, p. 269-274, 1990.

TEN CATE, A.R. Desenvolvimento do Periodonto. In: \_\_\_\_\_. **Histologia bucal: desenvolvimento, estrutura e função**. 5ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001, cap. 12, p. 222-237.

THESLEFF, I. Epithelial – msenchymal signaling regulating tooth morphogenesis. **Journal Cellular Science**, v. 166. p. 1647-48. 2003.

THOMPSON, J.A., ELDOR, J.I., SHAPIRO, S.S., WAKNITZ, M.A., SWIERGIEL, J.J., MARSHALL, V.S., JONES, J.M. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. **Science**, Washington, V. 282, n. 5391, p. 1145-1147, Nov. 1998.

TILL, J.E., McCULLOUGH, E.A. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cell. **Radat. Res.** V. 14, p. 213-22, 1961.

WIKESJÖ, U.M., LIM, W.H., RAZI, S.S., SIGURDSSON, T.J., LEE, M.B., TATAKES, D.N., HARDWICK, W.R. Periodontal repair in dogs: a bioresorbable calcium carbonate coral implant enhances space provision for alveolar bone regeneration in conjunction with guide tissue regeneration. **Journal of Periodontology**. Indianapolis, v. 74, p. 956-962, 2003.

WIKESJÖ, U.M., SELVING, K.A., Periodontal wound healing and regeneration. **Periodontology 2000**, Copenhagen, v. 19, p. 21-39, 1999.

YAMADA, Y., UEDA, M., HIBI, H., BABA, S., A novel approach to periodontal tissue regeneration with mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma using tissue engineering technology: a clinical case report. **International Journal Periodontics Restorative Dent**, v. 26, p. 363-369, 2006.

YOUNG, C., ABUKAWA, H., ASRICAN, R., et al. Tissue – engineered hybrid tooth and bone. **Tissue Eng.** V. 11, p. 1599-1610, 2005.

ZANNETTINO, A.C., PATON, S., ARTHUR, A., et al. Multipotential human adipose-derived stromal stem cells exhibit a perivascular phenotype *in vitro* and *in vivo*. **Journal Cell Physiol**, v. 214, p. 413-421, 2008.

ZHAO, M., BERRY, JE., SOMERMAN, MJ. Bone morphogenetic protein – 2 inhibits differentiation and mineralization of cementoblasts *in vitro*. **Journal of Dental Research**, Washington, v. 82, p. 23-27. 2003.

ZUBERY, Y., KOZLOVSKY, A., TAL, H. Histologic assessment of a contiguous autogenous transplant in a human intra-bony defect. A case report. **Journal of Periodontology**. Indianapolis, v. 64, p. 66-71, 1993.

