O TECIDO DA POLPA DENTARIA COMO FONTE DE CÉLULAS-TRONCO.

Carolina Nogueira Silva; Mayara Bueno Rocha; Melissa Cristina Inácio, Isabela Bacelar de Assis, Clauden Jose Chaib Zanolli Junior, Lívia Penna

RESUMO

A terapia com células-tronco tem despertado muito interesse pelo público científico, devido ao potencial dessas células indiferenciadas de preservar sua própria população e de se diferenciar em células de diversos tecidos. Este artigo trata-se de uma revisão bibliográfica sobre a descoberta de células-tronco na polpa dentária, um tecido de fácil acesso, podendo ser retirado de crianças, sem muitas questões éticas. Além de ser uma célula com capacidade de autorrenovação e diferenciação em diversos tipos celulares, podendo ser criopreservados por um longo período de tempo, com estudos já comprovados por pesquisadores, sendo assim um grande atrativo para utilização em terapia celular.

Palavras-chave: terapia celular, células tronco, polpa dentária.

ABSTRACT

Stem cell therapy has attracted a lot of interest from the target audience because of the potential of undifferentiated cells to preserve their own mean and to differentiate into cells from various tissues. This article deals with a literature review on the discovery of stem cells in the dental pulp, an easily accessible tissue that can be removed from children without the latest ethical questions. In addition, cells with autonomy and differentiation ability may be able to make the so-called cells, which can be cryopreserved for a long period of time, with results already proven by researchers, and thus a great use for use in cell therapy.

Keywords: cell therapy, stem cells, dental pulp.

INTRODUÇÃO

Terapia celular é um conjunto de métodos e abordagens clínicas na utilização de células-tronco para substituir ou reparar células ou tecidos danificados de um paciente. As células-tronco podem ser inseridas no sangue ou transplantadas diretamente para o tecido afetado, ou ainda retiradas do tecido do próprio paciente, a fim de que ocorra a regeneração. Sabendo que essas células são capazes de se diferenciar em células de diversos tecidos, a terapia celular tem despertado muito interesse no meio científico (ZAGO, 2006).

As células-tronco são extraídas de muitos tecidos do corpo humano, e podem ser classificadas, quanto à sua natureza, em adultas e embrionárias. As células-tronco adultas têm sido isoladas de vários tecidos, incluindo diferentes porções da polpa do dente, que são tecidos menos invasivos e de fácil acesso (MIURA, 2003).

O uso de tecido pulpar de dentes humanos como fonte de células-tronco tem sido amplamente investigado, já que estudos demonstram eficiência na formação tanto de tecidos relacionados às estruturas dentárias, como de tecidos para outras estratégias e terapias celulares (GRONTHOS et al, 2000; GRONTHOS et al, 2002; MIURA et al, 2003).

Desta forma, o objetivo do presente artigo foi realizar pesquisas bibliográficas que mostrem a importância da descoberta de uma nova fonte de células-tronco, sendo extraídas da polpa dentária de dentes permanentes e decíduos (dentes de leite). O tecido da polpa dentária é altamente eficiente, o local de coleta é de fácil acesso e sua extração é minimamente invasiva, podendo ser retiradas sem traumas e ainda na infância. Sendo assim, é uma alternativa simples e razoável quando comparada com células tronco de outras fontes, tornando ideal para reconstrução de tecidos.

JUSTIFICATIVA

Pesquisas com células-tronco é uma das áreas em que o biomédico pode atuar, realizando estudos pré-clinicos em laboratórios. Desta forma o tema deste artigo nos chama muito a atenção, pois existem diversos estudos em que biomédicos brasileiros participam. Como a pesquisa da biomédica Ba'byla Geraldes Monteiro e colaboradores, apoiado pela FAPESP. Nesse estudo foram isoladas células-tronco da polpa dentária, transplantando-as de forma autóloga (células do próprio paciente) em animais para a reconstrução da córnea, assim substituindo os aloenxertos. É uma pesquisa muito promissora, que juntamente com outras citadas neste artigo comprovam a eficácia desta nova fonte de células-tronco, além de ser um tecido de fácil acesso e extração, não se envolvendo em questões polêmicas que envolvem autoridades e membros eclesiásticos.

O dente é um órgão do corpo humano e, como tal, está submetido à Lei 9.434/97 (Lei de Transplantes), que dispõe sobre a remoção de órgãos, tecidos e partes do corpo humano para fins de transplante e tratamento. Portanto pode ser doado através do consentimento por escrito do doador ou responsável e no caso de dentes decíduos, a importância das doações não reside apenas no fator científico-terapêutico, mas na formação de uma nova geração que valorize a doação de órgãos.

METODOLOGIA

Este artigo constitui-se de uma revisão bibliográfica, realizada no ano de 2018, utilizando a consulta em livros de biologia molecular e odontologia, artigos científicos da Scielo, Pubmed, National Center for Biotechnology Information (NCBI), entre outros. Consultamos mais de 30 artigos, escolhidos por critério de qualidade, veracidade, estudos recentes e assuntos que tratassem do tema proposto.

CÉLULAS-TRONCO

Células-tronco são as células com capacidade de autorreplicação, isto é, com capacidade de gerar uma cópia idêntica a si mesma e com potencial de diferenciar-se em vários tecidos (ZATZ, 2012).

São células indiferenciadas e não especializadas, podem se multiplicar mantendo-se indiferenciadas por longo período (tanto *in vivo* quanto *in vitro*), e diante de estímulos específicos, possuem a capacidade de se diferenciar em células maduras e funcionais de um tecido particular. Elas possuem a propriedade de divisão assimétrica, ou seja, originam células precursoras com capacidade restrita de diferenciação a um determinado tecido, ao mesmo tempo em que repõem a população de células-tronco com a produção de células indiferenciadas (ZAGO, 2006).

São classificadas em totipotentes, pluripotentes, oligotentes e unipotentes. Totipotentes são aquelas capazes de diferenciar-se em todos os 216 tecidos que formam o corpo humano incluindo a placenta e anexos embrionários. Pluripotentes são aquelas capazes de diferenciar-se em quase todos os tecidos humanos, excluindo a placenta e anexos embrionários. Oligotentes são aquelas que se diferenciam em poucos tecidos, enquanto as unipotentes são aquelas que se diferenciam em um único tecido (ZATZ, 2012).

Quanto à sua natureza são classificadas em células tronco embrionárias e adultas. As células-tronco embrionárias são encontradas nos embriões humanos, têm alto poder de diferenciação, são pluripotentes e potencialmente capazes de regenerar tecidos lesados (PAU & WOLF, 2014). As células-tronco adultas possuem a propriedade de autorrenovação e podem dar origem a tipos de células maduras com morfologia características e funções especializadas; são células autogênicas e responsivas aos fatores de crescimento (BAKSH; SONG; TUAN, 2004).

Dentro os principais tipos de células-tronco adultas identificadas, temos as células-tronco mesenquimais, que atuam no reparo e homeostase em vários tecidos do corpo. Estas são células multipotentes capazes de originar células mesodérmicas que irão fazer parte da estrutura óssea, da cartilagem, do tendão, do tecido adiposo e muscular, fazendo com que seja candidata a terapia celular.

As células-tronco mesenquimais podem ser extraídas de diversos órgãos, induzidas a se diferenciar em múltiplos tipos celulares. A princípio a primeira fonte de células mesenquimais

identificadas foi à medula óssea, mas recentemente propuseram que poderiam ser encontradas em uma grande variedade de tecidos.

Já existem relatos de isolamentos de células mesenquimais de sangue do cordão umbilical, do subendotélio da veia umbilical, da veia safena, da carótida fetal, da artéria umbilical, do fígado e do pâncreas fetais, das gônadas, das fáscias musculares, da pele, dos pericitos retinianos, da placenta, do tecido adiposo e da polpa dentaria, dentre outras fontes (COVAS, 2006).

CÉLULAS-TRONCO DA POLPA DENTÁRIA

O dente se desenvolve nos maxilares superior (maxila) e inferior (mandíbula), sendo formado por: esmalte, cemento, dentina, polpa e periodonto. (YEN & SHARPE, 2008), como mostra a FIGURA 1:

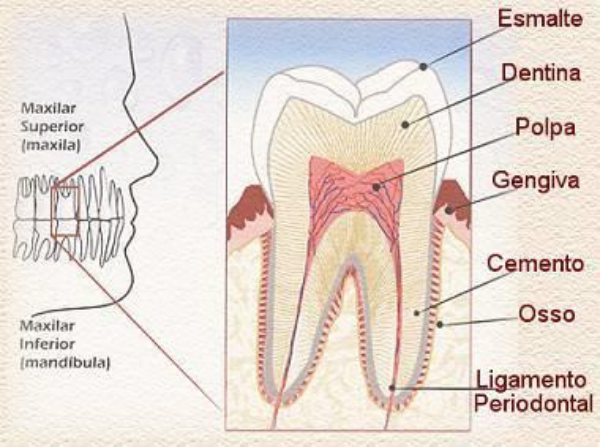

FIGURA 1.

Fonte: Teleodontologia UEA.

A polpa dentária apresenta funções importantes para a manutenção de um dente. São eles: inervação, formação de dentina, resposta imunológica e suprimentos de nutrientes e oxigênio (NAKASHIMA, IOHARA, SUGIYAMA, 2009). É constituída por um tecido conjuntivo frouxo, dividida em quatro camadas: a primeira, mais externa, composta por odontoblastos produzindo dentina; a segunda camada, pobre em células e rica em matriz extracelular; a terceira camada contém células progenitoras com plasticidade e pluripotência; e a quarta camada, que compreende a área vascular e plexo nervoso (D'AQUINO et al, 2008).

A polpa dental adulta contém uma mistura de células, e entre elas estão: os fibroblastos (as células mais numerosas da polpa dentária); células de defesa (macrófagos, linfócitos e células

dendríticas); células neurais; células vasculares e perivasculares; e células mesenquimais indiferenciadas (NAKASHIMA, IOHARA, SUGIYAMA, 2009).

Essa população de células foi primeiramente isolada na década de 1990 (STANISLAWSKI et al, 1997), mas somente na década seguinte, no ano 2000, foi possível comprovar a existência de células-tronco na polpa dentária, quando Gronthos e colaboradores isolaram células da polpa de dente humano, retiradas do terceiro molar, e que comparadas com as células-tronco da medula óssea, apresentaram heterogeneidade, multipotencialidade, capacidade de proliferação e de formação de colônias *in vitro* (MIURA et al., 2003).

As células-tronco de origem dental são células indiferenciadas caracterizadas pela sua ilimitada capacidade de autorrenovação, formação de colônias e diferenciação multipotentes. Células-tronco dentais exibem multidiferenciação potencial com a capacidade de dar origem a linhagens distintas de células (SOUZA LM, 2008; KOLYA CL, CASTANHO FL, 2007).

São consideradas como células-tronco mesenquimais e possuem diferentes níveis de capacidade para se tornar um determinado tecido, além de serem facilmente acessíveis e oferecerem uma maneira fácil e minimamente invasiva para sua obtenção e armazenamento para uso futuro (CHEN, JIN, 2010).

Várias populações de células com as propriedades de células-tronco têm sido isolados a partir de diferentes partes do dente. Até agora, cinco tipos dessas células foram identificadas: células-tronco da polpa de dentes permanentes (DPSC), células-tronco de dentes decíduos esfoliados (SHED), células-tronco da papila apical (SCAP), células-tronco do ligamento periodontal (PDLSC), e células progenitoras do folículo dental (DFPC) (PETROVIC & STEFANOVIC, 2009).

As células progenitoras do folículo dental (DFPC) são originárias do tecido que envolve o germe dentário em desenvolvimento. As células progenitoras do folículo dentário surgem, também com grande potencial terapêutico de apresentar diferenciação devido ao tecido periodontal. Estudos recentes mostram que essas células são capazes de promover regeneração tecidual óssea e periodontal (ESTRELA et al., 2011).

As células-tronco do ligamento periodontal (PDLSC) são obtidas do ligamento periodontal, possuindo grande capacidade de diferenciação em tecidos do periodonto de suporte e demonstraram potencial para se diferenciar em condrócitos, adipócitos e osteoblastos (RAI et al., 2014).

As células-tronco da papila apical (SCAP) são obtidas da papila dentária. Esse tecido pode ser encontrado, também em dentes saudáveis que ainda não possuem a formação completa da raiz. Por ser ainda um tecido não diferenciado, acredita-se que as SCAP possuíam um potencial de diferenciação e regeneração maior que as DPSC e SHED (HUANG et al., 2014).

As células-tronco da polpa de dentes permanentes (DPSC) representam menos que 1% da população de células presentes na polpa dental. Acredita-se que essas células residem em várias regiões no interior da polpa sendo que nos tecidos dentais adultos estão em repouso, sendo ativadas após agressão (PETROVIC & STEFANOVIC, 2009).

As DPSC demonstraram possuir maior potencial de proliferação e maior capacidade clonogênica comparadas com aquelas encontradas nas células da medula óssea (GRONTHOS et al., 2000).

Koyoma e colaboradores (2009) e D'Aquino e equipe (2007), demonstraram em estudos que as DPSCs foram capazes de diferenciar-se em linhagem condrogênica, miogênica e neuronal, além das osteoblásticas e adipogênicas.

Um estudo *in vivo* demonstrou que DPSCs produziram osso quando implantadas em locais subcutânceos em ratos imunossuprimidos com pó de HA/TCP (hidroxiapatita/fosfato tricálcico) como transportador. Em outro estudo, mais recente, DPSC foram implantadas no líquido cefalorraquidiano de ratos em que foi induzida uma lesão cortical. Essas células migraram como células individuais em uma variedade de regiões cerebrais e foram detectadas no córtex expressando marcadores específicos de neurônios lesionados. Isso mostrou que as células derivadas de DPSC integram no cérebro hospedeiro e podem servir como fontes úteis de neurônios e células da glia *in vivo*, especialmente quando o cérebro é lesado. O potencial de diferenciação espontânea destas células sugere fortemente suas possíveis aplicações na medicina regenerativa (CORDEIRO, 2008; VOLPONI, 2010).

Outro tipo de células-tronco dentária muito promissora são as células-tronco de dentes decíduos esfoliados (SHED), que têm a capacidade de induzir a formação do osso, da dentina e gerar diferenciação em outros derivados de células mesenquimais não dentária *in vitro* (COBOURNE et al, 2001; AINO et al, 2005). Elas apresentam taxas mais elevadas de proliferação, aumento e duplicações da população, além de capacidade ósteo-indutiva *in vivo* e uma alta plasticidade (MIURA et al, 2003).

As SHEDs aparecem por volta da sexta semana do desenvolvimento pré-natal humano. Pesquisadores acreditam que estas células-tronco se comportam diferentemente das células-tronco adultas (pós-natal) por se multiplicarem rapidamente e se diferenciam muito mais rápido do que as células estaminais adultas, sugerindo que elas são menos diferenciadas, e então com potencial para se diferenciar em uma ampla variedade de tipos teciduais (MIURA et al, 2003; SEO et al, 2008; ARORA et al, 2009).

Estudos concluíram que SHED tem origem na crista neural. As células da crista neural são células multipotentes que apresentam potencial de autorrenovação e de diferenciação em várias linhagens de células. Os pesquisadores verificaram que as SHED's são uma população heterogênea e

que apresentam características moleculares *in vitro* semelhantes às demais células tronco adultas e células da crista neural (VOLPONI, PANG, SHARPE, 2010).

As SHED's são altamente proliferativas, cronogênicas e multipotentes, com forte potencial osteogênico, adipogênico e neurogênese.

TAGHIPOUR et al. (2010), demonstraram o potencial neuronal das SHED's em experimento que promoveu a recuperação da medula espinhal de ratos, confirmando a aplicação destas células como candidatas no tratamento de doenças neurodegenerativas. Em outra aplicação, COSTA (2009) teve sucesso com o uso destas células na construção de defeitos ósseos cranianos de ratos, mostrando um promissor modelo nas cirurgias reconstrutivas craniofaciais.

SHI et al. (2005) realizaram um estudo utilizando células-tronco adultas da polpa dentária humana (DPSC), polpa de dentes decíduos esfoliados (SHED) e do ligamento periodontal (PDLSC) devido às suas capacidades de gerar grupos de células clonogênicas em cultura. O experimento *in vitro* demonstrou que as três linhagens celulares expressaram uma variedade de tecidos associados ao complexo dentina/polpa, osso, músculo liso, tecido neural, e endotélio.

Existem diversas oportunidades de obter células-tronco da polpa dentaria em diferentes estágios da vida, mas o melhor momento seria na infância, período da dentição decídua (dentes de leite), em cuja época as células se mostram mais fortes, saudáveis e proliferativas (ARORA, ARORA, MUNSHI, 2009).

A obtenção dessas células é um processo simples, conveniente e com pouco ou nenhum trauma. Toda criança perde os dentes decíduos (dentes de leite), sendo esta uma oportunidade perfeita para recuperar e armazenar células-tronco para tratar doenças ou lesões futuras. Além disso, o uso autógeno destas células reduz o risco de reações imunológicas ou rejeição de transplantes e também elimina a possibilidade de contrair doenças de outro doador (ARORA, ARORA, MUNSHI, 2009).

CRIOPRESERVAÇÃO E BANCO DE DENTES

A criopreservação compreende uma técnica existente há várias décadas, com objetivo de cessar reversivelmente, de forma controlada, todas as funções biológicas dos tecidos vivos em uma temperatura ultrabaixa (MARTIN et al., 2004).

A viabilidade das células submetidas a criopreservação depende basicamente de sua capacidade de resistir a dois tipos de lesões: a desidratação e o dano mecânico decorrente da formação de cristais de gelo no seu interior (MAZUR, 1963). Portanto, o processo de congelamento ideal deve evitar a

formação de cristais de gelo no interior das células, a fim de evitar lesões celulares, devendo-se aplicar uma velocidade de congelamento ideal e controlada (HUBEL, 2010).

Em estudo, para verificar se as células-tronco de polpa dentária de ratos e sua linhagem de osteoblastos, diferenciados em cultura *in vitro*, mantinham suas propriedades morfofuncionais e de diferenciação após serem criopreservadas por um período de dois anos, PAPACCIO et al. (2006) observaram que as células-tronco descongeladas voltaram a formar colônias aderentes após 12 horas de cultivo e recomeçaram a proliferar após 48 horas.

Portanto, as células-tronco da polpa dentária podem ser criopreservadas por longos períodos e surgiram propostas de criopreservação do tecido pulpar ou da unidade dentária trazendo opções para criação de criobancos de células o que favoreceria sua utilização clínica (D`AQUINO *et al*., 2008; PERRY *et al*., 2008; WOODS *et al.*, 2009).

São considerados dentes viáveis para obtenção de CT aqueles que têm polpa vermelha. Se o dente estiver acinzentado é sinal de polpa necrosada. Dentes que apresentam abscessos periapicais, cistos e tumores, assim como, que apresentem mobilidade acentuada oriundos de traumas ou doenças, não são candidatos ao armazenamento (ARORA, 2009).

A coleta e preservação de dentes pode ser feita pelos Bancos de Dentes Humanos (BDH) e pelos Biobancos ou Biorrepositórios. Estas diversas denominações, diferem no tipo de aproveitamento e uso que prestarão aos dentes, cuja finalidade pode ser científica, didática ou reabilitação. No Brasil, os BDH guardam dentes para uso de seu material inorgânico, já os biobancos e biorrepositórios manipulam os tecidos orgânicos, como a polpa (NASSIF, 2003).

De forma geral, um BDH é uma instituição sem fins lucrativos, que deve estar vinculada a uma instituição de ensino. Tem o propósito de suprir as necessidades acadêmicas, fornecendo dentes humanos para a pesquisa ou para treinamento pré-clínico dos alunos (BRASIL, 2011). A arrecadação pode ser feita a partir de clínicas particulares, postos de saúde, clínicas escola, hospitais, alunos, pesquisadores e população em geral. O dente por ser um órgão humano, deve ser doado através de consentimento por escrito do doador ou responsável. Assim, para uso em pesquisa, deve ser feita uma Declaração de Doação de Dentes que acompanha um projeto de pesquisa com parecer favorável do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) (NASSIF, 2003).

O BDH tem como papel social, repassar informações a população e promover campanhas de conscientização a fim de estimular a doação de dentes. No caso de dentes decíduos, a importância das doações não reside apenas no fator científico-terapêutico, mas na formação de uma nova geração que valorize a doação de órgãos (VANZELLI, 2003).

Segundo ARORA *et al*. (2009), os biobancos de células-tronco de dentes decíduos esfoliados apresentam diversas vantagem: garantia de doador compatível, já que se trata de transplante autógeno, consequentemente sem rejeição tecidual, além da redução de riscos de doenças; as células são obtidas antes do aparecimento de danos naturais; procedimento mais simples e menos doloroso para pais e filhos; em torno de 1/3 mais barato que o congelamento de cordões umbilicais; não perpassam pelos dilemas éticos que circundam a obtenção de CTA; podem regenerar células de diferentes tecidos; são possíveis de doação para parentes próximos do doador. Seguem informações pertinentes sobre o assunto na figura 2.

FIGURA 2.
Fonte: Centro de Criogenia Brasil.

Nos Estados Unidos, a Academia de Odontopediatria (American Academy of Pediatric Dentistry), reconhece o crescimento da área da medicina regenerativa e vem incentivando os dentistas a conscientizarem os pais de pacientes sobre a importância da estocagem dos dentes decíduos e molares permanentes inclusos como fontes de células-tronco adultas, desde que isto seja feito dentro dos princípios éticos e legais (AAPD, 2012). No Brasil, alguns biobancos, como o da FOUSP, Instituto Butantan e UFRJ, já aderiram às novas normatizações e trabalham em pesquisas na área.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Vários estudos têm demonstrado que os tecidos dentais e periodontais podem ser uma fonte fácil e eficiente de células-tronco, com capacidade de expansão e de diferenciação em diversas células. Evidenciamos alguns estudos que demonstram a eficácia dessas células e possíveis tratamentos com células tronco da polpa dentária.

As células-tronco isoladas de várias porções do dente, principalmente da polpa dentária, de dentes permanentes e decíduos, poderão ser usadas para diversas aplicações clínicas. Não somente no reparo de tecido dentário, como no reparo de defeitos ósseos, tratamento de lesões do tecido neural e doenças degenerativas.

Além disso, elas estão prontamente acessíveis de forma minimamente invasiva. Sendo assim, guardar suas próprias células-tronco de origem dentária é uma alternativa simples e razoável quando comparadas com células-tronco de outras fontes.

Contudo, os estudos são principalmente com experimentos em animais, por essa razão há a importância de estudos mais avançados nesta área, desde que, já apresentou um diferencial muito promissor na terapia celular.

REFERÊNCIAS

AAPD-American Academy of Pediatric Dentistry. **Policy on Stem Cells**. Oral Health Policies, 2012. Disponível em: <http://www.aapd.org/media/Policies_Guidelines/P_StemCells.pdf>. Acesso em: 09 fevereiro 2018.

AINO, G.; D’ AQUINO, R.; GRAZIANO, A.; LANZA, V.; CARINCI, F.; NARO, F.; PIROZZI, G.; PAPACCIO, G. **A new population of human adult dental pulp stem cells: a useful source of living autologous fibrous bone tissue (LAB).** J Bone Miner Res, Washington, D. C., v. 20, no. 8, p. 1394-402, 2005.

ARORA, VIPIN; ARORA, POOJA; MUNSHI A.K. **Banking stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED): Saving for the future.** J Clin Pediatr Dent., 33(4), p. 289-294, 2009.

BRASIL. **Resolução CNS nº 441, de 12 de maio de 2011**. Disponível em: <conselho.saude.gov.br/resolucoes/2011/Reso441.pdf> Acesso em: 26 abril 2018.

BAKSH, D.; SONG, L.; TUAN, R.S. **Adult mesenchymal stem cells: characterization, differentiation, and application in cell and gene therapy.** J. Cell. Mol. Med., v. 8, n. 3, p. 301-316, 2004.

CHEN FM, JIN Y. **Periodontal tissue engineering and regeneration: current approaches and expanding opportunities**. Tissue Eng Part B Rev,16(2):219-55, 2010.

COBOURNE, M. T.; HARDCASTLE, Z.; SHARPE, P. T. **Sonic hedgehog regulates epithelial proliferation and cell survival in the developing tooth germ**. J Dent Res, Alexandria, v. 80, no. 11, p. 1974-1979, 2001.

CORDEIRO MM, DONG Z, KANEKO T, ZHANG Z, MIYAZAWA M, SHI S, et al. **Dental pulp tissue engineering with stem cells from exfoliated deciduous teeth.** J Endod, 2008.

COSTA, ANDRE DE MENDONÇA. **Reconstrução de defeitos ósseos cranianos em ratos com células-tronco com polpa dentária humana: estudo experimental de neoformação óssea.** São Paulo, 2009. 96 f. Tese (Doutorado em Ciências)- Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

COVAS, D. T. Células-tronco mesenquimais *in*: ZAGO, M. A.; COVAS, D. T. **Células tronco: A nova fronteira da medicina**. São Paulo: Atheneu, cap 3. p.35-48, 2006.

D'AQUINO, R.; PAPACCIO, G.; LAINO, G.; et al. **Dental Pulp Stem Cells: A Promising Tool for Bone Regeneration**. Stem Cell, 2008.

ESTRELA C, ALENCAR AHG, KITTEN GT, VENCIO EF, GAVA E. **Mesenchymal stem cell in the dental tissue: perspectives for tissue regeneration**. Braz Dent J. 2011.

GRONTHOS, S.; BRAHIM, J.; LI, W.; et al. **Stem cell properties of human dental pulp stem cells.** J. Dent. Res., 81(8): 531-535, 2002.

GRONTHOS, S; MANKANI, M. BRAHIM, J.; et al. **Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) *in vitro* and *in vivo*.** Proc. Natl. Acad. Sci. U S A., 97 (25): 13625-13630, 2000.

HUANG GTJ, GARCIA-GODOY**. Missing concepts in de novo pulp regeneration.** J Dent Res, 2014.

HUBEL, A. **Parameters of cells freezing: Implications for the cryopreservation of stem cells.** Transfus Med Rev, v. 11, n. 3, p. 73-78, 2010.

KOLYA CL, CASTANHO FL. **Células-tronco e a odontologia**. ConScientae Saúde 2007; 6(1): 165-171. 8.

KOYAMA N et al, **Evaluation of pluripotency in human dental pulp cells**. J Oral Maxillofac Surg. 2009 Mar;67(3):501-6. doi: 10.1016/j.joms.09.011. 2008.

LEI 9.434/97: **Lei de Transplantes.** Presidência da República. Planalto. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l9434.htm. Acesso: 21/10/2018

MARTIN, G. et al. **Cryopreservation induces na apoptosis-like mechanism in bull sperm**. Biol Reprod, v. 71, n. 1, p. 28-37, 2004.

MAZUR, P. **Kinetics of water loss from cells at subzero temperatures and the likelihood of intracelular freezing.** J Gen Physiol, v. 47, p.347-369, 1963.

MONTEIRO, B. **Corneal Reconstruction with Tissue-Engineered Cell**

Sheets Composed of Human Immature Dental Pulp Stem Cells. Investigative Ophthalmology & Visual Science, March, Vol. 51, No. 3. 2010

MIURA, MASAKO et al. SHED: **Stem cells in human exfoliated deciduous teeth.** Proc Natl Acad Sci USA., v.100, n.10, p.5807-5812, 2003.

NASSIF et al. **Estruturação de um banco de dentes humanos**. Pesqui Odontol Bras., 17(Supl 1), p.70-4, 2003.

NAKASHIMA M, IOHARA K, SUGIYAMA M. **Human dental pulp stem cells with highly angiogenic and neurogenic potential for possible use in pulp regeneration**. Cytokine Growth Factor Rev, 20(5-6):435-40, 2009.

PAU, K-Y. F.; WOLF, D. P. **Derivation and characterization of monkey embryonic stem cells. Reproductive Biology and Endocrinology**. v.2, n.41, 2004.

PAPACCIO, G. et al. **Long-term cryopreservation of dental pulp stem cells and their differentiated osteoblasts: a cell source for tissue repair.** J Cell Physiol, v. 208, n. 2, p. 319-325, 2006.

PETROVIC,V.; STEFANOVIC, V. **Dental Tissue – New Source for Stem Cells.** The scientific World Journal, v.9, p.1167-1177, September-October. 2009.

PERRY, B. C.; ZHOU, D.; WU, X. *et al.* **Collection, cryopreservation, and characterization of human dental pulp–derived mesenchymal stem cells for banking and clinical use.** Tissue Engineering: Part C, 14(2): 146-156, 2008.

RAI S, KAUR M, KAUR S. **Applications of Stem Cells in Interdisciplinary**. Dentistry and Beyond: An Overview. Annals of Medical and Health Sciences Research, 2014.

SEO et al, **SHED repair critical-size calvarial defects in mice.** Mar 9. Published in final edited form as: Oral Dis.; 14(5): 428–434; Jul 2008.

SHI, S.; GRONTHOS, S**. Perivascular niche of postnatal mesenchymal stem cells in human bone marrow and dental pulp.** Journal of bone and mineral research, 18(4): 696-704, 2003.

SOUZA LM. **Caracterização de células-tronco de polpa dental humana obtida de dentes decíduos e permanentes**. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade de Brasília, Brasília, 71p, 2008.

STANISLAWSKI L, CARREAU JP, POUCHELET M, CHENZH, GOLDBERG M. ***In vitro* culture of human dental pulp cells: some aspects of cells emerging early from the explant.** Clin Oral Investig, 1(3):131-40, 1997.

TAGHIPOUR, ZAHRA, et al. **Transplantation of undifferentiated and induced human exfoliated deciduous teeth-derived stem cells promote functional recovery of rat spinal.** Cord contusion injury model. Stem Cells and Development, v.21, n.10, p.1794-1802, 2012.

VOLPONI, A. A; PANG, Y.; SHARPE, P. T. **Stem cell-based biological tooth repair and regeneration.** Trend Cell Biol, v. 20, n. 12, p. 715-722, 2010.

WOODS, E. J.; PERRY, B. C.; HOCKEMA, J. J. *et al.* **Optimized cryopreservation method for human dental pulp-derived stem cells and their tissues of origin for banking and clinical use.** Cryobiology, 59(2): 150–157, 2009.

YEN, A. H-H.; SHARPE, P.T. **Stem cells and tooth tissue engineering**. Cell Tissue Res, 331: 359-372, 2008.

ZAGO, M.A.; COVAS, D.T. **Células-tronco: A nova fronteira da medicina.** São Paulo: Atheneu; cap 1, p. 3-20, 2006.

ZATZ, MAYANA. **Celulas-tronco. Conceitos e linguagem.** Disponível em:<www.ghente.org >. Acesso em: 28 ago. 2012. Geneticista da USP.

VANZELLI, M; IMPARATO, J. C. **Banco de dentes: uma ideia promissora.** Stomatos. 9(16), p.59-60, 2003.