



ATUALIZAÇÃO

Células-tronco e engenharia tecidual: perspectivas de aplicação em odontologia

Stem cells and tissue engineering: application's perspectives in dentistry

Airton Vieira LEITE SEGUNDO¹

Belmiro Cavalcanti do Egito VASCONCELOS²

RESUMO

As células-tronco, também conhecidas como células fonte ou *stem cells*, são definidas como células com baixo grau de diferenciação, que possuem a capacidade de se auto-reproduzirem, bem como gerar células diferenciadas de tipos especializados de tecidos. Inúmeros trabalhos relatam a utilização da terapia celular por meio de transplantes de células progenitoras em humanos no tratamento de doenças degenerativas, em alterações do desenvolvimento humano e na regeneração de tecidos. Em Odontologia, a expectativa é de novas alternativas na regeneração dentinopulpar, regeneração do tecido periodontal, regeneração óssea e na regeneração da cartilagem da articulação temporomandibular. O objetivo do presente trabalho é descrever perspectivas da engenharia tecidual, envolvendo a participação de células-tronco e sua aplicabilidade no estágio atual da Odontologia.

Termos de indexação: Células-tronco. Odontologia. Proteínas morfogenéticas ósseas.

¹ Doutorando em Odontologia, Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, PB, Brasil.

² Universidade de Pernambuco, Faculdade de Odontologia. Av. General Newton Cavalcanti, 1650, Tabatinga, 54753-220, Caramagibe, PE, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: B.C.E. VASCONCELOS

ABSTRACT

Stem cells, also known as font cells may be defined as low differentiation grade cells that have the ability of self-reproduction, as well as generate differentiated cells of specialized tissue types. Cellular therapy has been suggested, through the transplant of progenitor cells in humans for the treatment of degenerative diseases, development alterations and tissue regeneration. In dentistry, it is expected new alternatives for the regeneration of the complex dentin-pulp, periodontal tissue, bone and temporomandibular joint regeneration. The aim of the present report is to describe future perspectives in tissue engineering using stem cells and its applicability in the current stage of dentistry.

Indexing terms: *Stem cells. Dentistry. Bone morphogenetic proteins.*

INTRODUÇÃO

No início de 2002, foi publicado na revista *Proceedings of the National Academy of Sciences*, o transplante bem-sucedido de células progenitoras embrionárias que se diferenciaram em células nervosas dopaminérgicas em um modelo animal com doença de Parkinson¹. Esse feito abriu um questionamento sobre a utilização de transplantes de células progenitoras em humanos para o tratamento de doenças degenerativas, alterações do desenvolvimento humano e para o conhecimento dos fenômenos biológicos proliferativos de diferenciação celular, assim como da morfogênese embrionária².

Numerosas investigações, como o isolamento de células progenitoras embrionárias humanas e o descobrimento da reprogramação genética para diferenciação de células progenitoras adultas, foram posteriormente descritas³⁻⁷ fazendo surgir a hipótese de novas estratégias de tratamento com terapia celular, para uma variedade de enfermidades que incluem a doença de Parkinson, a esclerose múltipla, o *diabetes*, as lesões raquimedulares, infartos cardíacos e câncer².

Entretanto, até que ponto os progressos recentes em pesquisas com células-tronco e engenharia tecidual podem trazer novas perspectivas para regeneração tecidual para a prática da

odontologia? Poderíamos, um dia, utilizar esses procedimentos na regeneração óssea e dentária? Objetivando buscar respostas a essas perguntas, foi realizada uma revisão da literatura, bem como uma análise crítica sobre o tema.

A possibilidade de serem criadas novas técnicas para o cultivo de tecido e órgãos em seres humanos parece ser uma possibilidade concreta. Muitos avanços têm causado expectativas de que tecidos adultos poderiam ser replicados por métodos biológicos, sendo utilizados na regeneração de tecidos destruídos. Em Odontologia, a esperança é de regenerar os tecidos ósseo e dentário, incluindo ligamento periodontal, polpa, dentina e esmalte; e, talvez, também, criar novos dentes².

Engenharia tecidual é definida como o campo da ciência que estuda a restauração funcional e fisiológica de estruturas teciduais deterioradas ou perdas teciduais decorrentes de doenças como o câncer ou trauma. A tríade da engenharia tecidual é baseada em três princípios básicos da biologia tecidual: as células-tronco progenitoras, o *scaffold* que representa uma matriz extracelular que mantém o contorno do tecido e as substâncias indutoras do crescimento e diferenciação celular, como as *Bone Morphogenetic Proteins* (BMPs), os fatores de crescimento de fibroblasto (FGFs) e as proteínas *hedgehog* (Hhs)^{3,8}.

CÉLULAS-TRONCO

As células-tronco, também conhecidas como células fonte ou *stem cells*, são definidas como células com baixo grau de diferenciação, que têm a capacidade de se auto-reproduzirem, bem como gerar células diferenciadas de tipos especializados de tecidos. Sendo assim, o papel principal das células-tronco é manter uma reserva constante de células que se podem diferenciar em células especializadas, de acordo com o tecido considerado, além de produzirem células maduras e especializadas^{9,10}.

Células-tronco pluripotentes podem ser isoladas utilizando a técnica de transferência nuclear a partir de tecidos embrionários¹¹. Acredita-se que as células-tronco de embriões humanos seriam uma alternativa na terapia celular para regeneração tecidual, haja vista tratar-se de células totipotentes, ou seja, serem capazes de gerar qualquer tecido. É evidente que para tanto se faz necessário um grande empenho e muito esforço para desvendar os mecanismos moleculares de diferenciação celular¹¹. No entanto, as questões éticas e religiosas sobre pesquisas envolvendo oócitos humanos não fertilizados e o perigo potencial de formação de teratomas têm contribuído para limitar as pesquisas desse tipo de células, concentrando os estudos em células-tronco adultas⁴.

Por outro lado, as células-tronco adultas estão presentes em tecidos de renovação, como o tecido hematopoiético, pele, osso e epitélio intestinal^{12,13}. Acredita-se ainda que as células-tronco devam estar presentes em tecidos que se regeneram após injúrias como fígado e músculo. Vale ressaltar que evidências recentes indicam que as células-tronco estão mais presentes do que se acreditava anteriormente². Em particular, a identificação de células-tronco no cérebro adulto tem levado ao aumento de pesquisas no campo da neurociência; acredita-se que a terapia com células-tronco possa ser usada no tratamento de lesões cerebrais, como por exemplo nas doenças de Alzheimer e Parkinson².

Estudos indicam que essas células se concentram em localizações específicas caracteriza-

das como nichos de células-tronco. O meio ambiente desses nichos seriam responsáveis pela manutenção dos caracteres das células-tronco, bem como sua auto-renovação. Acredita-se que a formação das células diferenciadas é estimulada por moléculas específicas chamadas fatores de crescimento e diferenciação^{5,14,15}.

Entretanto relatos sugerem que o transplante de células-tronco para tecidos diferentes a seus nichos possa resultar em formação de um ou poucos tipos de células. Por exemplo, células-tronco do folículo capilar resultariam em células da matriz do cabelo, células de glândulas sebáceas ou células epiteliais da pele¹³.

Evidências comprovam que células-tronco de tecidos adultos têm o potencial de produzir uma variedade de tipos celulares, como foi demonstrado quando células-tronco foram transplantadas para localidades diferentes de seu nichos^{16,17}. Aparentemente quando células-tronco são removidas de seus nichos originais e transplantadas para uma nova região, elas podem se reprogramar e mudar sua linha de produção. Por exemplo, células-tronco do cérebro podem produzir células hematopoiéticas, e células-tronco da medula óssea podem produzir células epiteliais^{16,17}. Essas novas descobertas sobre a capacidade de plasticidade de células-tronco adultas abrem novos horizontes e estratégias terapêuticas na engenharia tecidual^{16,18}.

Uma outra aplicação da terapia celular com células-tronco seria nos casos de regeneração tecidual. Células-tronco poderiam ser isoladas e expostas a combinações específicas de fatores de crescimento e diferenciação *in vitro*, que induziriam a formação dos tecidos desejados, os quais poderiam ser cultivados e transplantados para o paciente. O mecanismo que regula a morfogênese e diferenciação celular no desenvolvimento embrionário tem sido tema de inúmeras pesquisas^{2,3,10}. Sabe-se que esses mediadores, chamados fatores de diferenciação e crescimento, funcionam como hormônios que atuam em receptores específicos ativando determinados genes e conseqüentemente induzindo a diferenciação celular².

Nos dentes, as células-tronco foram identificadas na polpa dental adulta^{19,20}, as quais possuem a capacidade de proliferar e diferenciar em odontoblastos formadores de dentina^{21,22}. Um trabalho recente também relatou a presença de células-tronco em dentes humanos esfoliados⁷. Foram também encontradas no ligamento periodontal células-tronco que tem a capacidade de migrarem para defeitos periodontais, proliferar e diferenciar em fibras periodontais²³.

Scaffold

O *scaffold* representa uma "armação" que tem a função básica de determinar o contorno do tecido^{3,4}. A interação entre as substâncias indutoras do crescimento e diferenciação celular com as células-tronco é modulada pela matriz extracelular²³.

Nos tecidos dentais e periodontais, essa matriz extracelular é composta por colágeno, proteoglicanas e várias glicoproteínas não-colagenosas. Esses substratos têm mostrado um papel importante na indução óssea pelas BMPs²⁴⁻²⁶, bem como na adesão, proliferação e diferenciação dos odontoblastos⁴. A arquitetura da matriz extracelular biomimética deve permitir transporte efetivo de nutrientes, oxigenação e drenagem de metabólicos, além de serem biocompatíveis, não-tóxica e possuir propriedades físicas e mecânicas⁴.

Scaffolds pré-fabricados podem ser produzidos a partir de polímeros naturais ou sintéticos. Polímeros naturais, como colágeno ou fibronectina, têm a vantagem de possuírem boa citocompatibilidade e bioatividade, enquanto os polímeros sintéticos permitem controle preciso das propriedades físico-químicas, como a taxa de degradação, porosidade, microestrutura e propriedades mecânicas²⁷.

Proteínas morfogenéticas do osso

O osso é um tipo muito especial de tecido, pois sofre constantes alterações resultantes da aposição por osteoblastos e reabsorção por

osteoclastos, como também tem uma fantástica capacidade de se regenerar após injúrias². Enxertos ósseos têm sido utilizados há muito por cirurgiões ortopédicos como auxílio na reparação de uniões ósseas. Em 1965, Urist²⁸ descobriu que segmentos desmineralizados e liofilizados de osso de coelho teria a capacidade de induzir a formação de osso em sítios intramusculares. Subseqüentemente, após décadas de intensas pesquisas no campo da bioquímica foi identificada uma molécula denominada proteína morfogenética do osso (*bone morphogenetic protein* - BMP), que funcionaria como fator de diferenciação e crescimento²⁹.

Há mais de 30 BMPs conhecidas até o presente e muitas induzem a formação de osso e cartilagem quando transplantadas, inclusive nos ossos maxilares. As BMPs estimulam a formação do osso alveolar circundante ao dentes, assim como a regeneração do tecido periodontal^{30,31}. Essas proteínas estão envolvidas com o crescimento dentário, haja vista pesquisas demonstrarem que a BMP 2 está relacionada com a diferenciação dos odontoblastos^{3,21}. A família de BMPs pode ser dividida em quatro subfamílias: primeira - BMP 2 e 4; segunda - BMP 3 e BMP 3B, a última também conhecida como fator de crescimento e diferenciação 10 (GDF10); terceira - BMPs 5,6,7 e 8; e quarta - GDFs 5,6 e 7, também conhecidas como proteínas morfogenéticas indutoras de cartilagem 1, 2 e 3³. Pesquisas demonstram que células-tronco pulpare se diferenciam em odontoblastos formadores de dentina em resposta à ação de BMP 2 e BMP 4 humana recombinante³².

Regeneração dentino-pulpar

O tecido pulpar tem funções importantes no metabolismo dentário, como fornecer nutrição para o metabolismo dentino-pulpar, prover inervação servindo como órgão sensorial na prevenção de cáries, atuar na reação e reparação dentinária após estímulos nocivos como cárie, agentes físicos, atrição, abrasão, trauma e prover resposta imunológica à infiltração bacteriana²². A regeneração

do complexo dentino-pulpar é uma busca incansável da odontologia e sua resposta pode estar no advento da engenharia tecidual e células-tronco⁴.

A terapia ideal para reparação pulpar deveria ser antiinflamatória e antibacteriana, além de estimular a proliferação de células-tronco pulpare, bem como induzir sua diferenciação em odontoblastos, aumentando o potencial de cicatrização e formação de dentina³.

Pesquisa realizada por Gronthos et al.^{19,20} estudou células-tronco pulpare adultas de humanos e descreveu suas particularidades, demonstrando a capacidade de auto-renovação e sua diferenciação em odontoblastos formando dentina tubular *in vivo* quando transplantadas com hidroxiapatita/fosfato tricálcio em ratos. Em pesquisa similar, foi demonstrado que medula contendo estroma de células-tronco se diferencia em osteoblastos e forma osso após o transplante³³.

A terapia celular utilizando células-tronco progenitoras pulpar poderia melhorar o capeamento pulpar convencional com hidróxido de cálcio ou outro material artificial capaz de induzir apenas uma pequena quantidade de reparação dentinária abaixo do local da exposição ou amputação da polpa³⁴. Com base nesses princípios, a terapia celular com células-tronco da polpa poderia representar um método alternativo ao capeamento pulpar ou tratamento endodôntico³.

Regeneração periodontal

O periodonto é constituído pelo ligamento periodontal, o cemento e o osso alveolar, tendo como principal função de atuar como receptáculo dos dentes³. Uma aplicação da engenharia tecidual em odontologia clínica seria a utilização de células-tronco na regeneração dos tecidos periodontais.

O objetivo da regeneração tecidual seria restaurar a ancoragem funcional dos dentes pela seqüência dos seguintes passos: restauração do ligamento periodontal, incluindo-a orientação e inserção das fibras de Sharpey entre o osso e a

superfície radicular; formação de novo cemento por cementoblastos na superfície radicular e restauração na altura óssea da junção amelo-cementária. Atualmente as técnicas utilizadas são as curetagens e alisamentos radiculares, desbridamentos com retalhos e enxertos ósseos, entretanto os resultados nem sempre são satisfatórios³⁵.

A técnica de regeneração tecidual guiada em que membranas são utilizadas como barreiras, sendo inseridas entre o enxerto periodontal e a superfície radicular, tem sido a chave na prevenção da migração epitelial, mesmo assim nem sempre são obtidos resultados positivos³⁶. Trabalhos descrevem a utilização de *scaffolds* biomiméticos e BMPs recombinantes na regeneração tecidual em lesões de furca em molares de primatas. Nesses estudos os pesquisadores relataram a formação de osso alveolar, bem como cemento e fibras de Sharpey^{37,38}.

O padrão ouro na regeneração periodontal poderia ser obtido com a combinação da terapia com células-tronco e barreiras de membranas. Além disso, o potencial morfogenético das BMPs fariam delas fortes candidatas a serem utilizadas na regeneração periodontal, otimizando a resposta às células-tronco³.

Regeneração óssea e cartilágnea

A incrível capacidade das BMPs de induzirem a formação óssea justificaria suas aplicações nas cirurgias craniofaciais para correção de anormalidades congênitas e adquiridas decorrentes de trauma e tumores. Autores defendem que a simples administração de BMPs recombinantes, como as BMPs 2, 4 e 7, podem desencadear a cascata da osteogênese⁸. Em estudos realizados com roedores e primatas observou-se que defeitos ósseos produzidos na calvária dos espécimes sofreram regeneração após administração de BMPs em dose de 100µg/g matrix³⁹. Entretanto quando as concentrações de BMP 7 foram aumentadas para 1.000µg/g, observaram-se aumento de osteoclastos e conseqüentemente reabsorção óssea. Conclui-se que quando se utiliza doses supra fisiológicas de BMPs o resultado obtido é a estimulação da reabsorção óssea⁴⁰.

As BMPs também poderiam ser usadas na regeneração tecidual em extrações dentárias e levantamento de assoalho de seio maxilar⁴¹. Implantes dentários poderiam ser beneficiados com a aplicação de BMPs que estimulariam o crescimento ósseo ao redor dos implantes metálicos, aumentando a capacidade de osteointegração e estabilidade óssea^{42,43}.

As seqüelas resultantes da osteoartrite, bem como outras injúrias articulares, têm motivado pesquisadores a desenvolverem técnicas com o objetivo de regenerar a cartilagem das articulações sinoviais, como também de reconstrução total dos côndilos, utilizando as células-tronco. Estudos já demonstram a possibilidade da regeneração de côndilo da articulação sinovial com ambos componentes ósseo e cartilágneo, derivados de uma simples população de células-tronco mesenquimais de ratos⁴⁴.

Pesquisa publicada descreveu a reparação e a regeneração tecidual em articulações com osteoartrite, utilizando células-tronco autólogas em articulações do joelho de caprinos. A osteoartrite foi induzida na articulação do joelho dos animais através da incisão completa do menisco medial e ressecção do ligamento anterior. Após seis semanas, células-tronco adultas da medula óssea foram isoladas e cultivadas e uma dose de 10 milhões de células diluídas em solução de hialuron sódico que foi administrada por injeção intra-articular no grupo experimental, enquanto o grupo-controle recebeu apenas o hialuron sódico. Foram observadas nas articulações tratadas com células-tronco evidências de regeneração do menisco medial e células implantadas foram detectadas promovendo neoformação tecidual, além de diminuição da degeneração da cartilagem articular, remodelação osteofítica e esclerose subcondral quando comparada com as articulações tratadas apenas com o veículo⁴⁵.

Outra tecnologia de terapia celular seria a produção de cartilagem através do cultivo *in vitro*, utilizando-se *scaffolds* biodegradáveis que forneceriam uma estrutura tridimensional para o crescimento tecidual⁴⁶.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

É observável que os conhecimentos no campo da Biologia desenvolvimental e medicina regenerativa estão gradativamente aumentando. Em odontologia, estratégias de engenharia tecidual dentária poderão, no futuro, ser usadas no tratamento de cáries, periodontites, tratamentos endodônticos, reparação alveolar, em fraturas faciais, implantes dentários, no aumento da altura do osso alveolar e reparação da cartilagem da articulação temporomandibular. Em particular, são necessários maiores conhecimentos sobre isolamento de células-tronco, seus nichos, bem como os mecanismos moleculares de crescimento e diferenciação celular para que seja possível utilizar a terapia celular na odontologia. Na revisão realizada, não foram encontrados trabalhos que descrevam técnicas que possibilitem a formação de dentes. Acreditamos que isso representaria, por enquanto, uma limitação da utilização das células-tronco devido ao dente ser constituído por vários tecidos, assim como a variedade de sua morfologia. Vale ressaltar que atualmente não há pesquisas publicadas envolvendo células-tronco na regeneração de tecidos dentários em seres humanos.

REFERÊNCIAS

1. Freed CR. Will embryonic stem cells be a useful source of dopamine neurons for transplant into patients with Parkinson's disease? Proc Natl Acad Sci USA. 2002; 99(4):1755-7.
2. Thesleff I, Tummers M. Stem cells and tissue engineering: prospects for regenerating tissues in dental practice. Med Princ Pract. 2003; 12(Suppl 1):43-50.
3. Nakashima M, Reddi AH. The application of bone morphogenetic proteins to dental tissue engineering. Nat Biotechnol. 2003; 21(9):1025-32.
4. Nakashima M. Bone morphogenetic proteins in dentin regeneration for potential use in endodontic therapy. Cytokine Growth Factor Reviews. 2005; 16(3):369-76.
5. Doetsch F. A niche for adult neural stem cells. Curr Opin Genet Dev. 2003; 13(5):543-50.

6. Wagers AJ, Weissman IL. Plasticity of adult stem cells. *Cell*. 2004; 116(5):639-48.
7. Miura M, Gronthos S, Zhao M, Lu B, Fisher LW, Robey PG, et al. SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003; 100(10):5807-12.
8. Reddi AH. Role of morphogenetic proteins in skeletal tissue engineering and regeneration. *Nat Biotech*. 1998; 16(3):247-52.
9. Morrison SJ, Shah NM, Anderson DJ. Regulatory mechanisms in stem cell biology. *Cell*. 1997; 88(3):287-98.
10. Junqueira LC, Carneiro J. *Biologia celular e molecular 7a. ed.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000. p.227.
11. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*. 1998; 282(5391):1145-7.
12. Weissman IL. Stem cells: units of development, units of regeneration and units in evolution. *Cell*. 2000; 100(1):157-68.
13. Fuchs E, Segre JA. Stem cells: a new lease on life. *Cell*. 2000; 100(1):143-55.
14. Watt FM, Hogan BL. Out of Eden: stem cells and their niches. *Science*. 2000; 287(5457):1427-30.
15. Spradling A, Drummond-Barbosa D, Kai T. Stem cells find their niches. *Nature*. 2001; 414(6859):98-104.
16. Bjornson CR, Rietze RL, Reynolds BA, Magli MC, Vescovi AL. Turning brain into blood: a hematopoietic fate adopted by adult neural stem cells *in vivo*. *Science*. 1999; 283(5401):534-7.
17. Anderson DJ, Gage FH, Weissman IL. Can stem cells cross lineage boundaries? *Nat Med*. 2000; 7(4):393-5.
18. Camargo FD, Chambres SM, Goodell MA. Stem cells plasticity: from transdifferentiation to macrophage fusion. *Cell Prolif*. 2004; 37(1):55-65.
19. Gronthos S, Mankani M, Brahimi J, Robey PG, Shi S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) *in vitro* and *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000; 97(25):13625-30.
20. Gronthos S, Brahimi J, Li W, Fisher LW, Cherman N, Boyde A, et al. Stem cell properties of human dental pulp stem cells. *J Dent Res*. 2002; 81(8):531-5.
21. Nakashima M, Nagasawa H, Yamada Y, Reddi AH. Regulatory role of transforming growth factor- β , bone morphogenetic protein-2 and protein 4 on gene expression of extracellular matrix protein and differentiation of dental pulp cells. *Dev Biol*. 1994; 162(1):18-28.
22. Tziafas D, Smith AJ, Lesot H. Designing new treatment strategies in vital pulp therapy. *J Dent*. 2000; 28(2):77-92.
23. Reddi AH. Interplay between bone morphogenetic proteins and cognate binding protein in bone and cartilage development: noggin, chordin and DNA. *Arthritis Res*. 2001; 3(1):1-5.
24. Reddi AH. Bone matrix in the solid state: geometric influence on differentiation of fibroblasts. *Adv Biol Med Phys*. 1974; 15(0):1-18.
25. Reddi AH, Huggins CB. Cyclic electrochemical inactivation and restoration of competence of bone matrix to transform fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1974; 71(5):1648-52.
26. Sampath TK, Reddi AH. Importance of geometry of the extracellular matrix in endochondral bone differentiation. *J Cell Biol*. 1984; 98(6):2192-7.
27. Sharma B, Elisseeff JH. Engineering structurally organized cartilage and bone tissues. *Ann Biomed Eng*. 2004; 32(1):148-59.
28. Urist MR. Bone: formation by autoinduction. *Science*. 1965; 150(698):893-9.
29. Wozney JM, Rosen V, Celeste AJ, Mittleman LM, Whitters MJ, Kriz RW, et al. Novel regulators of bone formation: molecular clones and activities. *Science*. 1998; 242:1528-34.
30. Talwar R, Di Silvio L, Hughes FJ, King GN. Effects of carrier release kinetics on bone morphogenetic protein-2-induced periodontal regeneration *in vivo*. *J Clin Periodontol*. 2001; 28(4):340-7.
31. Ripamonti U, Van Den Heever B, Sampath TK, Tucker MM, Rueger DC, Reddi AH. Complete regeneration of bone in the baboon by recombinant human osteogenic protein-1 (hOP-1, bone morphogenetic protein-7). *Growth factors*. 1996; 13(3-4):273-89.
32. Nakashima M. Induction of dentin formation on canine amputated pulp by recombinant human bone morphogenetic proteins (BMP)-2 e -4. *J Dent Res*. 1994; 73(9):1515-22.
33. Bianco P, Robey PG. Stem cell in tissue engineering. *Nature*. 2001; 414(6859):118-21.
34. Iohara K, Nakashima M, Ito M, Ishikawa M, Nakashima A, Akamine A. Dentin regeneration by dental pulp stem cell therapy with recombinant human bone morphogenetic protein 2. *J Dent Res*. 2004; 83(8):590-5.
35. Polson AM, Proye MP. Fibrin linkage: a precursor for a new attachment. *J Periodontol*. 1983; 54(3):141-7.
36. Gottlow J, Nyman S, Lindhe J, Karring T, Wennstrom J. New attachment formation in the human periodontium by guided tissue regeneration. Case report. *J Clin Periodontol*. 1986; 13(6):604-16.

37. Ripamonti U, Heliotis M, Rueger DC, Sampath TK. Induction of cementogenesis by recombinant human osteogenic protein-1 (hOP-1/BMP-7) in the baboon. *Arch Oral Biol.* 1996; 41(1):121-6.
38. Ripamonti U, Duneas N. Tissue morphogenesis and regeneration by bone morphogenetic proteins. *Plast Reconstr Surg.* 1998; 101(1):227-39.
39. Ripamonti U, Reddi AH. Tissue engineering, morphogenesis and regeneration of the periodontal tissues by bone morphogenetic proteins. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1997; 8(2):154-63.
40. Sun Y, Ma G, Li D. Repair of large cranial defect using allogeneic cranial bone and bone morphogenetic protein. *Zhonghua Zheng Xing Shao Shang Wai Ke Za Zhi.* 1995; 11(1):8-9.
41. Boyne PJ. Application of bone morphogenetic proteins in the treatment of clinical oral and maxillofacial osseous defect. *J Bone Joint Surg Am.* 2001; 83(Suppl 1):146-50.
42. Cook SD, Salkeld SL, Rueger DC. Evaluation of recombinant human osteogenic protein-1 (rhOP-1) placed with dental implants in fresh extraction sites. *J Oral Implantol.* 1995; 21(4):281-9.
43. Sykaras N, Triplett RG, Nunn ME, Iacopino AM, Opperman LA. Effects of recombinant human bone morphogenetic protein-2 on bone regeneration and osteointegration of dental implants. *Clin Oral Implants Res.* 2001; 12(4):339-49.
44. Mao JJ. Stem-cell-driven regeneration of synovial joints. *Biol Cell.* 2005; 97(5):289-301.
45. Murphy JM, Fink DJ, Hunziker EB, Barry FP. Stem cell therapy in a caprine model of osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 2003; 48(12):3464-74.
46. Lee JW, Kim YH, Kim SH, Han SH, Hahn SB. Chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells and its clinical applications. *Yonsei Med J.* 2004; 45(Suppl):41-7.

Recebido em: 22/11/2005

Versão rerepresentada em: 9/5/2006

Aprovado em: 7/6/2006