

# Aplicação de células-tronco na terapia periodontal

*Stem cells in periodontal therapy*

**Eliza Ferreira Costa**

DDS

Especialista em Periodontia pela PUC-RJ

**Ricardo Guimarães Fischer**

MD, DDS, MDS, PhD

PhD em Periodontia pela Universidade de Lund (Suécia)

Professor Titular de Periodontia da Uerj

Diretor do Instituto de Odontologia da PUC-RJ

**Carlos Marcelo da Silva Figueredo**

DDS, MDS, PhD

Professor Adjunto de Periodontia da Uerj e da PUC-RJ

Pesquisador Convidado do Instituto Karolinska (Suécia)

## Resumo

Tecidos periodontais de proteção e sustentação, quando sofrem alguma lesão, têm capacidade regenerativa durante as fases iniciais da inflamação periodontal. O objetivo desta revisão foi avaliar estudos sobre regeneração periodontal através de terapia celular baseada em células-tronco. Autores citaram a presença de células-tronco no ligamento periodontal que podem ser utilizadas para desenvolvimento de técnicas regenerativas. A terapia com células-tronco mesenquimais em Periodontia regenerativa têm tido resultados experimentais satisfatórios quando estas são transplantadas em defeitos periodontais. Concluiu-se que a Periodontia regenerativa poderá ter um grande avanço no tratamento de seqüelas de algumas doenças periodontais.

**Palavras-chave:** células-tronco; Periodontia; regeneração periodontal.

## Abstract

*Periodontal tissues have regenerative capacity during initial phases of periodontal inflammation. Once established the periodontitis, it seems that only therapeutic intervention has the potential of inducing regeneration. The aim of this study was to review the literature about periodontal regeneration using stem cells therapy. Studies mentioned the presence of stem cells in the periodontal ligament that can be used in the development of regenerative techniques. Stem cell therapy in the periodontal regenerative field showed satisfactory experimental results when applied to periodontal defects. We conclude that cell therapy in periodontal regeneration will benefit the treatment for some periodontal diseases.*

**Keywords:** stem cells; Periodontal; periodontal regeneration.

## Introdução

Estudos sobre células-tronco estão ampliando os conhecimentos sobre como o organismo se desenvolve a partir de uma única célula e como células saudáveis substituem células com danos em organismo adultos. Dessa forma, surge a possibilidade de terapias baseadas em células para o tratamento de diversas doenças sistêmicas como diabetes, doenças degenerativas entre outras. As células-tronco também podem ser denominadas células estaminais ou células-mãe. São células indiferenciadas que possuem propriedades de serem precursoras e capazes de originar vários tipos celulares e também de auto-renovação ilimitada (10, 16, 22).

A legislação brasileira para estudos com células-tronco é rígida e limitada, só podem ser feitos apenas em células-tronco obtidas a partir de sangue do cordão umbilical ou da medula óssea, estudos com célula-tronco de origem embrionária não são permitidos segundo a Lei de Biossegurança de nº 11.105. Esta lei que em 24/03/2005 foi aprovada pelo Senado e possuía um artigo que permitia a pesquisa em células-tronco de embriões obtidos por fertilização *in vitro* e congelados há mais de três anos ou também embriões inviáveis. Mas, para que o estudo fosse feito, os pais deveriam autorizar a pesquisa expressamente e também ser aprovado pelo comitê de ética caso fosse realizado em instituições. Também dizia que fica vedada a comercialização do material biológico (Lei de Biossegurança de nº 11.105, Código Civil, 2002).

Considerando a área de Odontologia de uma forma mais ampla, existem diversos estudos que apontam para a possibilidade de formação de uma nova estrutura dentária a partir de células-tronco ou de células do germe dentário. (5, 15, 21).

Já em estudos na área da Periodontia propriamente dita, alguns estudos mostram que as células do ligamento periodontal possuem propriedades semelhantes a células-tronco, como auto-renovação e multipotencialidade e também expressam alguns marcadores para células-tronco mesenquimais, portanto tais células do ligamento podem ser usadas para procedimentos regenerativos periodontais (8, 9, 12, 17). Células-tronco mesenquimais transplantadas podem sobreviver e se diferenciar em células-tronco do tecido periodontal, resultando numa melhora na regeneração tecidual (8).

Com o desenvolvimento de técnicas de identificação e isolamento de células-tronco viáveis no próprio ligamento periodontal (4), a Odontologia regenerativa sofreu um grande avanço e já é possível considerar o uso das células-tronco como um novo tratamento para as seqüelas em conseqüência de algumas doenças periodontais.

O objetivo desta revisão foi avaliar resultados de estudos sobre as células-tronco do ligamento periodontal humano e da regeneração periodontal a partir de terapia celular.

## Classificação de Células-tronco

Células-tronco ou estaminais são células indiferenciadas ou com baixo grau de diferenciação que têm capacidade de auto-renovação ilimitada e que podem originar diversos tecidos sob condições experimentais ou fisiológicas. São responsáveis por manter a homeostasia dos tecidos em resposta a uma injúria ou mesmo de forma fisiológica na renovação dos tecidos (10, 22).

Se classificadas por potencialidade podemos dividi-las em três grupos: totipotentes, pluripotentes e multipotentes. Por origem podem ser classificadas como embrionárias ou adultas (10, 16, 22).

## Células-tronco no Ligamento Periodontal

Ao longo dos anos, diversos estudos apontam para a possível presença de células no ligamento periodontal. Foi demonstrado que somente o ligamento periodontal e não os tecidos conectivos gengivais ou ósseos têm células capazes de estabelecer nova inserção de fibras entre cemento e osso (11, 18). A capacidade de *turnover* do ligamento periodontal sugere a existência de populações de células progenitoras/células-tronco (13).

Em estudos recentes foram identificadas células com características de células-tronco no ligamento periodontal humano (4, 9, 17) e relatado que tais células podem ter um bom resultado em regeneração (20). Tais células encontram-se em subpopulações heterogêneas (9), que incluem fibroblastos, células-tronco

mesênquimais e células progenitoras de osteoblastos ou cementoblastos. Foi relatada a utilização de marcadores moleculares e também genéticos (7) para identificar e diferenciar estes tipos celulares.

SEO *et al.* (20) avaliaram o transplante de células-tronco isoladas do ligamento periodontal de 25 terceiros molares humanos extraídos em camundongos (n = 12) e ratos (n = 6) imunossuprimidos para avaliar a capacidade de regeneração tecidual e reparo. As células-tronco do ligamento periodontal (CTLP) expressaram os marcadores de células-tronco mesênquimais STRO-1 e CD146/MUC18. Sob certas condições de cultura, as CTLP se diferenciaram em células do tipo cementoblastos, adipócitos e células formadoras de colágeno. Quando transplantadas nos roedores imunossuprimidos, as CTLP demonstraram a capacidade de gerar a estrutura do tipo cemento/ligamento periodontal *in vivo* e contribuir para o reparo do tecido periodontal. O transplante dessas células, que podem ser facilmente obtidas e expandidas *ex vivo*, é uma promessa terapêutica para reconstrução de tecidos destruídos por doenças periodontais (20).

HASEGAWA *et al.* (8) demonstraram em um estudo feito em animais que células-tronco do ligamento periodontal humano cultivadas *in vitro* podem ser reimplantadas em defeitos periodontais para promover regeneração periodontal. Recentemente foi citado que esferas derivadas do ligamento periodontal continham células-tronco adultas multipotentes capazes de se diferenciarem em progênies neurais e mesodérmicas. Esse foi o primeiro relato de isolamento de células-tronco derivadas do ligamento periodontal com características de células-tronco da crista neural primitiva. Tais células foram isoladas do ligamen-

to periodontal de ratos usando sistema de cultura de formação de neuroesfera. O estudo sugeriu que dentes extraídos com ligamento periodontal saudável podem ser usados como uma nova fonte de células-tronco adulta multipotentes. Essas células podem ser usadas no tratamento de várias doenças degenerativas neurais e distrofias musculares. Sendo essa uma fonte alternativa de células-tronco precursoras primitivas para terapia celular (23).

## Regeneração Tecidual Periodontal

Os tecidos periodontais mais críticos que necessitam de regeneração são de origem ectomesenquimal: ligamento periodontal, cemento e osso. As células-tronco de origem mesenquimal são provenientes da medula óssea e têm sido freqüentemente usadas em estudos de regeneração periodontal (14).

Na medula óssea encontramos células-tronco de diversas linhagens, mais freqüentemente células-tronco hematopoiéticas e mesênquimais. Para identificá-las é utilizada a técnica de citometria de fluxo, que utiliza raio laser para separar frações de células de populações grandes pela utilização de propriedades de diferenças de absorção de luz ou fluorescência de certas subpopulações (9). Diversos estudos demonstraram que células-tronco mesênquimais e hematopoiéticas possuem muitas similaridades pela técnica de citometria de fluxo, portanto há a necessidade de utilizar marcadores celulares de superfície específicos para células-tronco mesênquimais, como STRO-1, que é uma imunoglobulina de ratos associada a diferentes marcadores celulares antigênicos (CD146/MUC-18, CD106 (3G5), CD-44, VCAM-1).

Após a obtenção das células-tronco da linhagem específica, é feita a sua cultura em meio apropriado com diferentes fatores de crescimento e, posteriormente, é feita sua propagação para utilização em terapia celular. No caso de células-tronco se diferenciando em células do periodonto, teríamos pré-cementoblastos, pré-fibroblastos e pré-osteoblastos, que seriam células progenitoras se diferenciando em cementoblastos, fibroblastos e osteoblastos, respectivamente de acordo com a demanda (Figura 1).

Para se alcançar regeneração periodontal, é necessária a presença de três fatores conjugados: fatores de crescimento, diferenciação e angiogênese, células do ligamento periodontal e espaço celular. Caso algum destes não esteja presente o resultado será apenas um reparo tecidual (Figura 2).

Diversos estudos ao longo dos anos sobre regeneração tecidual guiada e também mais recentemente sobre a aplicação tópica de proteínas derivadas da matriz do esmalte demonstraram sucesso em regeneração periodontal, porém tais técnicas apresentam limitações em suas indicações, tendo sucesso em casos de lesões de furcas classe II e de defeitos ósseos de duas ou três paredes (3, 6, 19).

Em um estudo realizado em cães, foi proposta a criação de defeitos de furca classe III que posteriormente foram regenerados com autotransplante de células-tronco mesênquimais provenientes da medula óssea associados a atelocolágeno no grupo experimental e somente atelocolágeno no grupo controle. O resultado obtido foi altamente satisfatório, no grupo tratado com o autotransplante e atelocolágeno os defeitos foram regenerados com quantidades significantes de cimento, ligamento periodontal e osso alveolar. A super-

fície da raiz que havia sido exposta foi quase completamente coberta por novo cimento e ligamento periodontal regenerado separava novo osso do cimento. Na área de furca foi observada também a presença de novo cimento na superfície e inserção de fibras de Sharpey. Não foi observada a completa reconstrução de osso alveolar. Já no grupo controle, células epiteliais invadiram a área de furca, não foi observada nova formação de cimento e menor formação óssea foi observada em relação ao grupo experimental (12).

HASEGAWA *et al.* (8) obtiveram resultados semelhantes ao estudo anterior, porém foi avaliado o comportamento destas células através de marcação com proteína fluorescente verde. Foi demonstrado que células-tronco mesênquimais derivadas da medula óssea quando transplantadas de forma autóloga em defeitos periodontais de animais apresentam sobrevida e diferenciam-se em células de tecido periodontal, resultando numa melhora na regeneração do tecido periodontal.

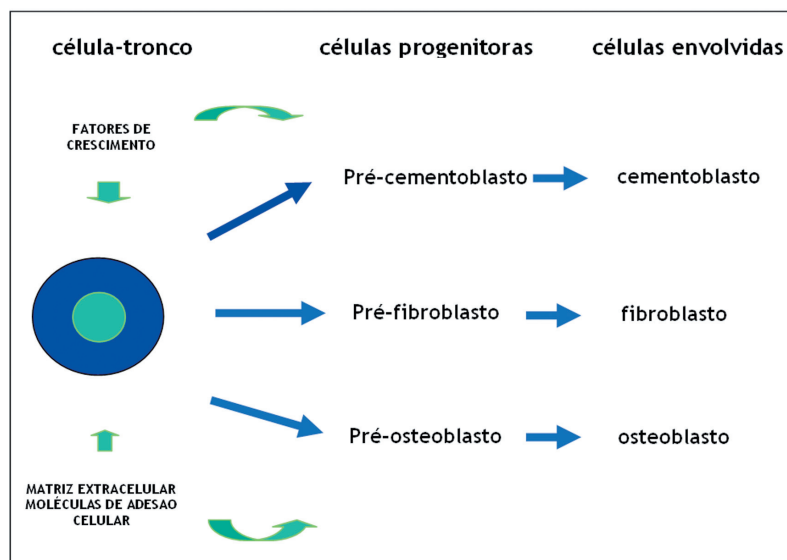


Figura 1. Diferenciação de células-tronco na regeneração periodontal, adaptado de: BARTOLD *et al.* (1)

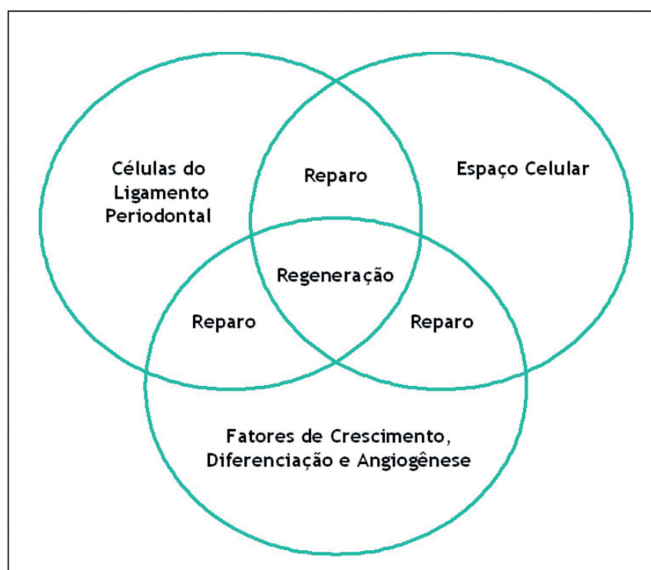


Figura 2. Fatores para se obter regeneração periodontal, adaptado de: IVANOVSKI *et al.* (9)

## Discussão

Em diversas outras áreas de estudo estão sendo desenvolvidas pesquisas sobre a ação terapêutica das células-tronco. Na Medicina regenerativa, a terapia celular têm sido considerada uma promissora alternativa de tratamento como, por exemplo, na regeneração de células neurais que teriam como foco tratar pacientes com Mal de Alzheimer, esclerose múltipla ou que sofreram algum tipo de dano cerebral ou na coluna vertebral. Na regeneração de células cardíacas os pacientes com doença de Chagas têm sido tratados em diversos centros de estudo e alcançado sucesso. Além da possibilidade também de regeneração de células musculares esqueléticas para a reabilitação de pacientes com distrofia muscular. Alguns estudos apontam também para a formação de novas células produtoras de insulina para o tratamento de pacientes diabéticos (22).

Com a falta de flexibilidade e limitações da legislação sobre estudos em sobre célula-tronco no Brasil, os estudos são feitos apenas a partir de células provenientes de sangue do cordão umbilical ou da medula óssea já que estudos com célula-tronco de origem embrionária não são permitidos segundo a Lei de Biossegurança de nº 11.105. Tal lei encontra-se atualmente suspensa por ser considerado que é necessário que seja definido o início da vida e ainda encontra-se paralisado tal processo. Atualmente, embriões de clínicas de fertilização *in vitro*, ao completarem quatro anos de congelamento, são descartados. Essas células, ao contrário das provenientes da medula e do cordão umbilical, se mostram mais eficazes para formar qualquer tecido do corpo. Para ter acesso à legislação vigente sobre células-


tronco consultar a fonte a seguir citada (22) ([http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_Ato2004-2006/2005/Lei/L11105.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2004-2006/2005/Lei/L11105.htm), acesso em:11/06/2007).

Em Odontologia diversos estudos apontam ser viável a formação de algumas estruturas dentárias a partir de células-tronco adultas e até mesmo de germes dentários que poderiam ser implantados com sucesso na gengiva de pacientes, porém a maioria destes estudos ainda está em fases iniciais e laboratoriais (5, 15, 21).

De acordo com os estudos recentes sobre terapia celular, podemos considerar o tratamento regenerativo a partir de cultura de células-tronco como uma promissora alternativa aos métodos regenerativos periodontais atualmente utilizados clinicamente. A utilização de células-tronco mesênquimais provenientes da medula óssea e obtidas a partir de um transplante autólogo quando utilizadas em experimentos com animais para regeneração periodontal têm demonstrado resultados satisfatórios e que pode ser no futuro uma possibilidade terapêutica (8, 12).

A confirmação da existência e localização de células-tronco no ligamento periodontal nos indica que é possível que a resposta da regeneração periodontal esteja no próprio ligamento, porém mais estudos são necessários para definir qual seria o elemento essencial para iniciar o processo regenerativo (4, 9, 17).

## Conclusão

Podemos concluir que a Periodontia regenerativa poderá sofrer um grande avanço no tratamento de seqüelas de algumas doenças periodontais com a descoberta de novas técnicas para identificação e isolamento de células-tronco e também a utilização de células-tronco mesênquimais em defeitos periodontais. 

Recebido em: 29/11/2007  
Aprovado em: 24/01/2008

Ricardo Guimarães Fischer  
Av. Nossa Senhora de Copacabana, 978/1206 - Copacabana  
Rio de Janeiro/RJ - CEP: 22060-000  
E-mail: fischer@uerj.br

## Referências Bibliográficas

1. BARTOLD, P. M., SHI, S., GRONTHOS, S. Stem cells and periodontal regeneration. *Periodontology 2000*, v. 40, p. 164-172, 2006.
2. BARTOLD, P. M., MCCULLOCH, C. A., NARAYANAN, A. S. *et al.* Tissue engineering: a new paradigm for periodontal regeneration based on molecular and cell biology. *Periodontol 2000*, v. 24, p. 253-269, 2000.
3. CARNEVALE, G., PONTORIERO, R., HURZELER, M. B. Management of furcation involvement. *Periodontol 2000*, v. 9, p. 69-89, 1995.
4. CHEN, S. C., MARINO, V., GRONTHOS, S. *et al.* Location of putative stem cells in human periodontal ligament. *J. Periodont. Res.*, v. 41, p. 547-553, 2006.
5. DUAILIBI, S. E., DUAILIBI, M. T., VACANTI, J. P. *et al.* Prospects for Tooth Regeneration. *Periodontol 2000*, v. 41, p. 177-187, 2006.
6. ESPOSITO, M., GRUSOVIN, M. G., COULTHARD, P. *et al.* Enamel matrix derivative (Emdogain) for periodontal tissue regeneration in intrabony defects. *Cochrane Database Syst. Rev.*, v. 19, n. 4, 2005.
7. FUJITA, T., IWATA, T., SHIBA, H. *et al.* Identification of marker genes distinguishing human periodontal ligament cells from human mesenchymal stem cells and human gingival fibroblasts. *J. Periodont. Res.*, v. 42, p. 283-286, 2007.
8. HASEGAWA, N., KAWAGUCHI, H., HIRACHI, A. *et al.* Behavior of Transplanted Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells in Periodontal Defects. *J. Periodontol.*, v. 77, p. 1003-1007, 2006.
9. IVANOVSKI, S., GRONTHOS, S., SHI, S. *et al.* Stem cells in the periodontal ligament. *Oral Diseases*, v. 12, p. 358-363, 2006.
10. JUNQUEIRA, L. C., CARNEIRO, J. *Biologia Celular e Molecular*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.
11. KARRING, T., NYMAN, S., LINDHE, J. Healing following implantation of periodontitis affected roots into bone tissue. *J. Clin. Periodontol.*, v. 7, n. 2, p. 96-105, 1980.
12. KAWAGUCHI, H., HIRACHI, A., HASEGAWA, N. *et al.* Enhancement of Periodontal Tissue Regeneration by Transplantation of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells. *J. Periodontol.*, v. 75, p. 1281-1287, 2004.
13. LIMEBACK, H., SODEK, J., AUBIN, J. E. Variation in collagen expression by cloned periodontal ligament cells. *J. Periodontal Res.*, v. 18, n. 3, p. 242-248, 1983.
14. LINDHE, J., KARRING, T., NIKLAUS, P. L. *Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.
15. MODINO, S. A. C., SHARPE, P. T. Tissue Engineering of Teeth Using Adult Stem Cells. *Archives of Oral Biology*, v. 50, p. 255-258, 2005.
16. MOORE, K. L., PERSAUD, T. V. N. *Embriologia Clínica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.
17. NAGATOMO, K., KOMAKI, M., SEKIYA, I. *et al.* Stem cell properties of human periodontal ligament cells. *J. Periodont. Res.*, v. 41, p. 303-310, 2006.
18. NYMAN, S., KARRING, T., LINDHE, J. *et al.* Healing following implantation of periodontitis-affected roots into gingival connective tissue. *J. Clin. Periodontol.*, v. 7, n. 5, p. 394-401, 1980.
19. PONTORIERO, R., WENNSTROM, J., LINDHE, J. The use of barrier membranes and enamel matrix proteins in the treatment of angular bone defects. A prospective controlled clinical study. *J. Clin. Periodontol.*, v. 26, n. 12, p. 833-840, 1999.
20. SEO, B. M., MIURA, M., GRONTHOS, S. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Lancet*, v. 364, p. 149-155, 2004.
21. SHI, S., BARTOLD, P. M., MIURA, M. *et al.* The Efficacy of Mesenchymal Stem Cells to Regenerate and Repair Dental Structures. *Orthod. Craniofacial Res.*, v. 8, p. 191-199, 2005.
22. SOUZA, V. F., LIMA, L. M. C., REIS, S. R. A. *et al.* Células-tronco: uma breve revisão. *R. Ci. Méd. Biol.*, v. 2, n. 2, p. 251-256, 2003.
23. TECHAWATTANAWISAL, W., NAKAHAMA, K., KOMAKI, M. *et al.* Isolation of multipotent stem cells from adult rat periodontal ligament by neurosphere-forming culture system. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 357, p. 917-923, 2007.