

UNIVERSIDADE DE UBERABA
PÂMELA BRUDER
TAINÁ AMADOR DA SILVA

**ESTUDO DAS CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS DA POLPA DENTÁRIA
PARA TRATAMENTO DE FISSURAS PALATINAS**

UBERABA, MG

2017

**PÂMELA BRUDER
TAINÁ AMADOR DA SILVA**

**ESTUDO DAS CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS DA POLPA DENTÁRIA
PARA TRATAMENTO DE FISSURAS PALATINAS**

Projeto de pesquisa apresentado ao Curso de Odontologia da Universidade de Uberaba como exigência do componente curricular Orientação de Trabalho de Conclusão de Curso II.

Orientador: Prof. Dr. Christiano Marinho Correia

**UBERABA, MG
2017**

Bruder, Pâmela.

B831e Estudo das células-tronco mesenquimais da polpa dentária para
tratamento de fissuras palatinas / Pâmela Bruder, Tainá Amador da
Silva. – Uberaba, 2017.
24 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso -- Universidade de Uberaba.
Curso de Odontologia, 2017.

Orientador: Prof. Dr. Christiano Marinho Correia.

1. Palato. 2. Células-tronco. 3. Polpa dentária. 4. Ossos –
Enxerto. I. Silva, Tainá Amador da. II. Correia, Christiano
Marinho. III. Universidade de Uberaba. Curso de Odontologia. IV.
Título.

CDD 611.315

Ficha elaborada pela bibliotecária Tatiane da Silva Viana CRB6-3171

PÂMELA BRUDER
TAINÁ AMADOR DA SILVA

**ESTUDO DAS CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS DA POLPA DENTÁRIA
PARA TRATAMENTO DE FISSURAS PALATINAS**

Projeto de pesquisa apresentado ao Curso de Odontologia da Universidade de Uberaba como exigência do componente curricular Orientação de Trabalho de Conclusão de Curso II.

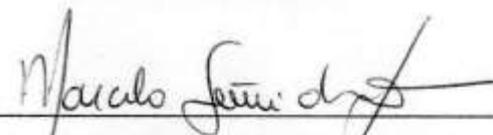
Orientador: Prof. Dr. Christiano Marinho Correia

Aprovado em:

BANCA EXAMINADORA:

Christiano Marinho Correia
Cirurgião Bucal - Focul
CRB-MG 20157

Prof. Dr. Christiano Marinho Correia
Universidade de Uberaba


Prof. Dr. Marcelo Sivieri de Araújo

Universidade de Uberaba

Uberaba - MG
2017

RESUMO

O palato é uma estrutura que separa as cavidades oral e nasal. Sua formação ocorre durante a oitava e décima segunda semanas da vida intra-uterina. A interrupção deste processo pode levar ao palato fissurado, um defeito na separação oronasal. Sua etiologia envolve fatores genéticos e ambientais. Os ambientais podem ser divididos em quatro grupos: drogas, produtos químicos, desequilíbrios metabólicos maternos (como deficiência de ácido fólico) e infecções maternas. Já os genéticos podem estar relacionados com diversas síndromes com padrão de herança autossômico dominante. As Fissuras lábiopalatinas representam um problema significativo de saúde, pois os portadores necessitam de um tratamento de reabilitação estética e funcional de uma equipe de especialistas (médicos, dentistas, fonoaudiólogos, geneticistas, psicólogos, nutricionistas, entre outros), do nascimento até a vida adulta, o que exige um alto custo econômico. Um dos tratamentos consiste no enxerto ósseo secundário, que é realizado após o alinhamento das arcadas dentárias e quando há formação de 2/3 da raiz do dente. Para sua realização, remove-se o osso da região doadora e coloca-se na fenda alveolar. O osso mais utilizado para os enxertos ósseos alveolares em pacientes portadores de fissura lábiopalatina é o osso medular da crista ilíaca. Uma nova técnica vem sendo utilizada para aprimorar esse tratamento, consiste em um processo não invasivo, no qual se faz a coleta e a cultura de células tronco da polpa dentária. Essas células podem ser preservadas para tratamentos futuros, e possuem propriedades de auto-renovação e diferenciação. O presente trabalho tem como objetivo realizar uma revisão de literatura sobre o tratamento de fissuras palatinas com enxerto ósseo proveniente de células-tronco mesenquimais da polpa dentária.

PALAVRAS CHAVES: Palato. Fissura Palatina. Terapia com Células-Tronco. Polpa Dental. Célula Mesenquimal. Enxerto Ósseo.

ABSTRACT

Palate is a structure that separates the oral and nasal cavities. Its formation occurs during the eighth and twelfth weeks of the intra-uterine life. The interruption of this process can lead to the cleft palate, a defect in oronasal separation. Its etiology involves genetic and environmental factors. The environmental ones can be divided into four groups: drugs, chemicals, maternal metabolic imbalances (such as lack of folic acid), and maternal infections. The genetic factors may be related to several syndromes with a dominant autosomal inheritance pattern. Cleft lip and palate represent a significant health issue, since patients need aesthetic and functional rehabilitation treatments from a team of specialists (doctors, dentists, speech therapists, geneticists, psychologists, nutritionists, among others), from birth to adulthood, which requires a high economic cost. One of the treatments consists of the secondary bone grafting, which is performed after the alignment of the dental arches and when there is 2/3 of the tooth root formation. To do so, the bone is removed from the donor region and placed into the alveolar fissure. The most commonly used bone for alveolar bone grafts in patients with cleft lip and palate is the medullary bone from the iliac crest. A new technique has been used to improve this treatment, it consists of a non-invasive process, in which the collection and culture of stem cells from the dental pulp is performed. These cells can be preserved for future treatments, and have self-renewal and differentiation properties. The objective of the present work is to review the literature on the treatment of cleft palate with bone graft from mesenchymal stem cells of the dental pulp

KEYWORDS: Palate. Cleft Palate. Stem Cell Therapy. Dental Pulp. Mesenchymal Cell. Bone Grafting.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|--------------|-----------------------------------------------------------------------|
| BMP's | Proteínas morfogenéticas do osso |
| β -TCP | Fosfato beta-tricálcico |
| CMMO | Células mononucleares de medula óssea |
| CMPD | Célula-tronco mesenquimal da polpa dentária |
| DME | Derivado da matriz de esmalte |
| ETMR | Medicina regenerativa com células-tronco |
| FL | Fissura labial |
| FLP | Fissura labiopalatina |
| FO | Fissuras orofaciais |
| FP | Fissura palatina |
| IPDTC | Banco de Dados Perinatal Internacional de Fissuras Orofaciais Típicas |
| MTA | Agregado trióxido mineral |
| PRP | Plasma rico em plaquetas |
| SINASC | Sistema Nacional de Nascidos Vivos |

SUMÁRIO

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 07 |
| 2. OBJETIVO | 11 |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS | 12 |
| 4. REVISÃO DE LITERATURA | 13 |
| 5. DISCUSSÃO | 18 |
| 6. CONCLUSÃO | 21 |
| REFERÊNCIAS | 22 |
| ANEXO - Protocolo do HCFMUSP para tratamento dos pacientes de fissuras labiopalatinas. | 24 |

1. INTRODUÇÃO

A formação da face humana começa na quarta semana de gestação, com o deslocamento das células da crista neural que combinadas com o mesoderma e epitélio formam a organização do rosto. Na quarta semana da embriogênese as protuberâncias mandibulares se juntam e o sulco entre elas desaparecem antes o final da quinta semana, surgindo então a mandíbula, o lábio inferior e a porção interna da face (BUENO, 2007).

Até o final da sexta semana o maxilar e a mandíbula primitiva são estruturas rígidas. A mucosa labial começa a se desenvolver quando a lamina labiogengival cresce dentro do mesenquima subjacente e forma-se o sulco labial entre o lábio e a gengiva e o que resta dessa lamina gera o freio labial mediano (BUENO, 2007).

O palato é dividido em duas partes, palato mole e palato duro, e constituído em torno da décima semana de gestação. O palato primário desenvolve-se no final da quinta semana, e o palato secundário entre a sétima e oitava semana (BUENO, 2007).

A má formação embrionária mais comum que envolve a face e os maxilares, ocorrendo a cada 750 nascimentos, é a fissura labial (FL), fissura palatina (FP) e fissura labiopalatina (FLP). O local onde as fissuras aparecem é determinada pela falha na fusão entre os vários processos faciais, isto é, influenciado pelo momento embrionário em que alguma interferência no desenvolvimento aconteceu (ROCHA et al., 2015).

De etiologia um tanto quanto complexa, as fissuras orofaciais (FO) envolvem fatores genéticos e ambientais. São os defeitos congênitos mais comuns na região craniofacial. Sua prevalência pode variar entre 1:700 e 1:2500 nascidos vivos, de acordo com a região geográfica, grupo étnico e racial, exposição ambiental e nível socioeconômico (SOUSA; RONCALLI, 2017).

As fissuras do lábio e/ou palato podem ocorrer isoladamente ou como parte de uma síndrome cromossômica, mendeliana ou teratogênica. Vários estudos usando uma combinação de epidemiologia, fator tipagem cuidadosa, estudos de associação genômica e análise de modelos animais, identificaram fatores de risco genéticos e ambientais distintos e confirmados para os casos não sindrômicos (DIXON et al., 2011).

À exposição materna a fatores ambientais como o consumo de tabaco e álcool, estado metabólico (diabetes, obesidade ou baixo peso), infecção viral, medicamentos (anticonvulsivantes) e teratógenos (solventes, produtos químicos agrícolas), o papel

preventivo dos suplementos vitamínicos e o tabagismo materno durante a gravidez estão consistentemente ligados ao aumento do risco de FOs (LOPES; MONLLEÓ, 2014).

Em relação as FO não sindrômicas, os fatores genéticos estão associados a mutações no DNA com frequência de 1% da população geral. Vários tipos de polimorfismos no genoma são decorrentes de substituições, deleções, inserções ou duplicações na sequência de nucleotídeos e, podem ou não estar associados a uma determinada doença (BORGES et al., 2014).

As FO sindrômicas são menos prevalentes e estão associadas a cerca de 400 síndromes diferentes. São herdadas de doenças autossômicas dominantes. As mais comuns são a síndrome de Van der Woude (VWS), a síndrome de CATCH 22 e a alguns tipos de displasias ectodérmicas (NELIGAN, 2015).

As FO são classificadas tendo como base anatômica o forame incisivo e são divididas em quatro grupos: fissuras pré-forame incisivo ou fissuras labiais (FL), fissuras pós-forame incisivo ou fissuras palatinas (FP), fissuras transforame incisivo ou fissuras labiopalatinas (FLP) e fissuras raras da face. Podem ainda ser completas ou incompletas, encontradas uni e/ou bilateralmente (BORGES et al., 2014).

Uma pesquisa realizada pelo Banco de Dados Perinatal Internacional de Fissuras Orofaciais Típicas (IPDTC) avaliou os registros de 30 países, de 2000 a 2005, e encontrou uma prevalência média de 9,9 por 10.000 nascimentos. A maior taxa de prevalência foi encontrada no Japão (20,0 por 10.000). Países como Canadá (11,5 por 10 000), Estados Unidos (10,2 por 10 000) e Austrália (9,7 por 10 000) também apresentaram altas taxas de prevalência de fissuras orofaciais (SOUSA; RONCALLI, 2017).

Segundo os dados do Sistema Nacional de Nascidos Vivos (SINASC) de janeiro de 2009 a dezembro de 2013, 14.446.425 crianças nasceram vivas no Brasil, dentre as quais 7,642 apresentaram algum tipo de FO. Esses dados indicam uma prevalência média de 5,86 por 10.000 nascimentos no Brasil durante o período de estudo. Em relação ao tipo de fissura, 31,1% do número total afetado apresentaram apenas fissura labial, 38,4% tinham fissura palatina isolada, e 30,5% das crianças afetadas apresentavam fissura labial e palatina. O palato fissurado foi o tipo de fissura mais frequente em todas as regiões geográficas ao longo do período de estudo (SOUSA; RONCALLI, 2017).

A distribuição das taxas de prevalência da FO entre as unidades federativas apresentou grandes disparidades (Figura 1), a maior taxa foi registrada no Rio Grande do Sul (8,29 por 10.000), enquanto a taxa mais baixa foi observada no Acre (2,1 por 10.000). Os estados do

Acre, Alagoas, Amapá, Maranhão e Piauí apresentaram taxas abaixo da média nacional (SOUSA; RONCALLI, 2017).

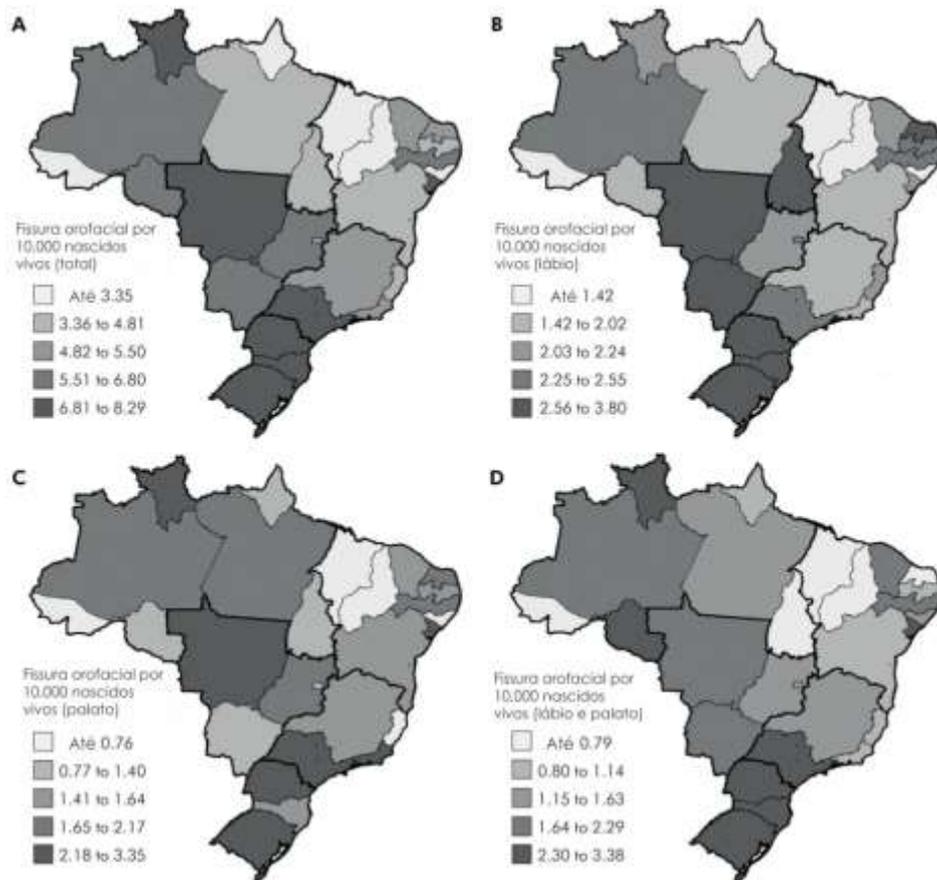


Figura 1. Distribuição espacial da prevalência da fissura orofacial por 10.000 nascidos vivos no Brasil de 2009 a 2013. (Fonte: SOUSA; RONCALLI, 2017, p.4).

Considerando vários grupos étnicos, a fenda labial com ou sem fenda palatina é mais frequente entre homens, e a fenda palatina isolada é mais comum entre as mulheres (Tabela 1). Em populações caucasianas, a relação entre o acometimento entre homens e mulheres para fenda labial com ou sem fenda palatina é de aproximadamente 2:1, acometendo dois homens para cada mulher (MARTELLI, et al. 2012).

| Gênero | Fissura palatina | | Fissura labial | | Fissura labiopalatina | |
|------------------|------------------|------|----------------|------|-----------------------|------|
| | n | (%) | n | (%) | n | (%) |
| Masculino | 27 | 13,6 | 53 | 26,6 | 119 | 59,8 |
| Feminino | 48 | 28,7 | 43 | 25,7 | 76 | 45,5 |
| Total | 75 | | 96 | | 195 | |

p= 0,001.

Tabela 1. Distribuição de fenda labial e/ou palatina não sindrômica de acordo com sua extensão e gênero. (Fonte: MARTELLI et al., 2012, p.118).

Segundo Gunther, 1995 e Bueno e Lopes, 2003 (apud BUENO, 2007) o tratamento das FLP requer uma reabilitação estética e funcional desde seu nascimento até sua vida adulta incluindo cuidados clínicos e cirúrgicos. E envolve uma equipe multidisciplinar de médicos, dentistas, fonoaudiólogos, psicólogos, nutricionistas e outros.

A grande variedade clínica de FOs e seus diferentes graus de gravidade e possível associação com outras síndromes ou defeitos congênitos, resulta em diferentes protocolos de tratamento. O tratamento começa com a correção cirúrgica da malformação, e na maioria das vezes requer múltiplas cirurgias (SOUSA; RONCALLI, 2017).

Na tentativa de se obter melhores resultados estéticos e funcionais protocolos de atendimento multiprofissional foram criados, para proporcionar melhores ganhos no tratamento do paciente fissurado (ANEXO 1) (ALONSO et al. 2010).

A reabilitação das FLP se dá por diferentes técnicas e tempos cirúrgicos na correção do lábio (queiloplastia) e para a correção do palato (palatoplastia). Mesmo com a realização desses procedimentos, o paciente portador de FLP necessita da realização de enxertos ósseos para corrigir a malformação do osso alveolar que sofre uma quebra de continuidade ou ruptura. Além de estabilizar o arco maxilar, esses enxertos fecham as fístulas oronasais e fissuras anteriores do palato, dão suporte para o correto posicionamento do dente localizado na fissura, e dão suporte para futuros implantes dentários. (BUENO, 2007).

O presente trabalho visa estudar o potencial terapêutico das células tronco da polpa dentária para restaurar tecidos e órgãos danificados, e sua diferenciação osteogênica para a reconstrução óssea de pacientes portadores de fissuras palatinas.

2. OBJETIVO

O objetivo desse trabalho é realizar uma revisão de literatura e avaliar os resultados clínicos das propriedades e vantagens de células-tronco obtidas de polpa dentária em relação ao enxerto de crista ilíaca para regeneração óssea tecidual sintetizada em laboratório.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

A revisão literária foi baseada em artigos publicados sem restrição de data e idioma, permitindo uma abrangência do assunto, referências e citações em locais indexados em bases de dados PUBMED, SCIELO e sobre o tema: “Tratamento de fissuras palatinas com enxerto ósseo proveniente de células-tronco mesenquimais da polpa de dentes decíduos,”.

Foram utilizados como descritores os termos: células-tronco (stem cell), tratamento (treatment), fissura palatina (cleft palate), polpa dental (dental pulp), célula mesenquimal (mesenchymal cell).

4. REVISÃO DE LITERATURA

Células-tronco são células com capacidade de replicação e diferenciação em diversos tipos celulares; e exerce funções específicas do tecido em que irá se especializar. As células-tronco isoladas da polpa de dentes decíduos assemelham-se às encontradas no cordão umbilical e podem ser usadas para terapias de células-tronco incluindo transplante autólogo e engenharia de tecidos (GARCIA et al., 2017).

Miura et al. (2003) realizaram um estudo clínico com células mesenquimais da polpa de incisivos decíduos. Depois de isoladas e cultivadas, essas células foram transplantadas em camundongos imunocomprometidos. Após 8 semanas do transplante, as células da polpa dentária se diferenciaram em odontoblastos responsáveis pela formação da estrutura dentinária. A análise revelou que vários marcadores ósseos e sialoproteína de osso, capazes de induzir a formação de osso. No entanto, foram incapazes de regenerar um complexo dentina-polpa completo *in vivo*. Quando comparados com estroma de células da medula óssea adulta, as células estaminais da polpa dentária mostraram uma taxa de proliferação mais elevada e um maior número de duplicações da população.

Laino et al. (2005) realizaram um estudo clínico no qual foram obtidas células-tronco da polpa adulta de 16 dentes permanentes de indivíduos de 18 a 45 anos de idade. Com um tempo de duplicação de aproximadamente 4 dias, mostraram um potencial clonogênico muito alto. Mostraram-se altamente clonogênicos e, em cultura, diferenciam-se em precursores de osteoblasto ainda capaz de auto-renovação, e em osteoblastos, produzindo, *in vitro*, um tecido de osso fibroso autólogo vivo. Este novo tecido formado é marcadamente positivo para vários anticorpos para osso, incluindo osteonectina, sialoproteína óssea, osteocalcina, fibronectina, colágeno III e fosfatase alcalina óssea, fonte ideal de osteoblastos e tecido mineralizado para regeneração óssea.

Chowdhury et al. (2006) realizaram um estudo clínico em 52 pacientes com defeitos alveolares, tratados por enxerto ósseo secundário da crista ilíaca. Dezesesseis (30,76%) casos apresentaram os incisivos laterais faltantes. Dois (3,84%) apresentaram fenda entre a região do incisivo central com ausência do mesmo. A avaliação clínica e radiológica pós-operatória foi feita em um intervalo de um, três e seis meses, utilizando radiografias oclusais convencionais da região da pré-maxila juntamente com a tomografia computadorizada

maxilofacial. A osseointegração foi observada em todos os casos. Houve melhora na fala com entonação nasal reduzida em 47 (90,38%) dos 52 casos.

Bueno (2007) realizou um estudo clínico com 23 pacientes com o objetivo de testar a plasticidade de diferenciação “in vivo” das células tronco em osso. As células tronco de polpa de dentes decíduos tiveram plasticidade para se diferenciar em tecido muscular, adiposo e ósseo, bem como tem a capacidade de regenerar grandes defeitos cranianos em modelos animais. As células isoladas a partir de músculo orbicular do lábio têm plasticidade para se diferenciar em linhagens osteogênicas, condrogênicas, adipogênicas e miogênicas, assim como também apresentam plasticidade de gerar osso “in vivo”.

Feichtinger et al. (2007) com o objetivo de avaliar a quantidade e a localização exata da perda óssea em enxertos secundários na reabilitação de pacientes com fissura palatina, realizaram um estudo clínico do pós-operatório de 24 pacientes com fissura palatina unilateral com tomografia computadorizada axial de todos os pacientes. Houve reabsorção óssea extensa na dimensão buco-palatal da porção alveolar do transplante. A taxa de sucesso do enxerto ósseo secundário foi alta nos casos de fechamentos rápidos de intervalo ortodôntico. A perda óssea média no primeiro ano após a cirurgia foi de 49,5%. Os transplantes permaneceram quase constantes nos dois anos seguintes. As técnicas radiográficas bidimensionais convencionas não são conclusivas e não demonstram a verdadeira falha.

Yamada et al. (2011) realizaram um estudo clínico em cães, onde os mesmos tiveram os pré-molares e os segundo e terceiro molares inferiores extraídos. Defeitos ósseos foram realizados e implantados com materiais de enxerto da seguinte forma: 1) controle (apenas defeito), 2) plasma rico em plaquetas (PRP), 3) células-tronco mesenquimais caninas / PRP, 4) células-tronco de polpa dental canina / PRP e 5) células-tronco de dentes decíduos / PRP e investigadas para osteogênese. Os achados macroscópicos mostraram que a regeneração óssea usando células-tronco mesenquimais caninas / PRP, células tronco de polpa dental canina / PRP e células-tronco de dentes decíduos / PRP foi para um nível de osso marginal natural, mas a regeneração usando PRP e o controle (somente defeito) não foi completa.

No grupo de células-tronco de dentes decíduos / PRP, não foram observados sintomas de rejeição na mandíbula do receptor primário. A osteogênese se espalhou lentamente através da base de defeito em PRP e controles. Em contraste, verificou-se que os

defeitos preenchidos com implantes dos outros grupos mostraram melhor formação óssea. Em PRP e controles, houve pouca formação óssea e os defeitos foram preenchidos por tecido fibroso em 2, 4 e 8 semanas. Por outro lado, os defeitos dos outros grupos resultaram em nova formação óssea com osteócitos ativos, mesmo após 4 semanas, e a formação do osso amadurecido com um osso bem lamelar e a abundante cavidade da medula foram observadas às 8 semanas (YAMADA et al., 2011).

Sharma et al. (2012) realizaram um estudo clínico com 10 pacientes submetidos a enxerto ósseo alveolar secundário de crista ilíaca autóloga com vários tipos de fissura palatina. A avaliação radiográfica pós-operatória revelou septo interalveolar do tipo I em 7 casos (87,5%), com fissura unilateral completa, palato e alvéolo. Um caso mostrou septo interalveolar tipo IV após um período de 8 meses. Não ocorreram erupções de canina em cinco pacientes (50%). Em quatro casos (40%), o canino havia entrado em erupção completamente. Revisão periodontal revelada, presença de formação de bolsa com menos de 4 mm e mobilidade grau II em dois casos (20%). Nenhum dos pacientes apresentou reabsorção radicular externa.

Gupta et al. (2013) realizaram um estudo clínico com 20 pacientes com lábio e palato fissurados unilateral ou bilateral. Os pacientes foram divididos aleatoriamente em dois grupos, o grupo de teste A (10 pacientes) recebeu enxerto ósseo esponjoso da crista ilíaca anterior misturado com plasma rico em plaquetas (PRP), enquanto o grupo controle B (10 pacientes) recebeu o mesmo sem PRP. A cura primária foi observada em 90% dos pacientes do grupo A. A cicatrização secundária foi observada em 30% no grupo B. Não houve rejeição do enxerto no grupo A, mas foi observada em um paciente (10%) no grupo B.

Jahanbin et al. (2016) isolaram células-tronco da polpa de dentes decíduos e as estimularam em meios de cultura para se diferenciarem em odontoblastos. Defeitos alveolares maxilares foram criados em 60 ratos que foram divididos em 6 grupos, dos quais os grupos 1 e 2 receberam enxerto ósseo ilíaco; grupos 3 e 4 transplante de células-tronco da polpa de dentes decíduos além da matriz de colágeno; grupo 5 e 6 apenas transplante de matriz de colágeno. Em seguida, a formação de osso, tecido de granulação, tecido fibroso e tecido inflamatório foram avaliados por coloração com um mês (grupos 1, 3 e 5) e dois meses (grupos 2, 4 e 6) após a cirurgia. A formação máxima de osso ocorreu no grupo 2, em que o enxerto ósseo ilíaco foi inserido na área de defeito por 2 meses. Nos grupos de 1 mês, não houve diferenças significativas entre o controle e os grupos de células-tronco com matriz

colágena. O estudo mostrou que as células-tronco da polpa dental humana são um recurso celular adicional para reparar defeitos alveolares maxilares.

Ajlan et al. (2016) com o objetivo de avaliar a diferenciação osteogênica das células-tronco da polpa dentária (CTPDs) sob a influência de três materiais diferentes, realizaram um estudo clínico cultivando CTPDs em três meios de cultura, um contendo derivado da matriz de esmalte (DME), outro contendo agregado trióxido mineral (MTA) e o terceiro contendo plasma rico em plaquetas (PRP). A DME mostrou uma habilidade osteogênica muito forte em comparação com PRP e MTA, teve uma quantidade significativamente aumentada de formação de nódulos mineralizados em comparação com todos os outros grupos. Os efeitos de MTA na osteogênese de CTPDs foram inconclusivos e estudos adicionais são necessários.

Moretti et al. (2017) realizaram um estudo clínico com seis terceiros molares inclusos obtidos por exodontia. Em três dos seis terceiros molares foi aplicado o protocolo A (4 comprimidos de 500 mg de amoxicilina por via oral uma hora antes da cirurgia), e no restante o protocolo B (4 comprimidos de 500 mg de amoxicilina e um comprimido dexametazona, DEX, de 14 mg por via oral uma hora antes da cirurgia). As células do protocolo A (sem DEX) tiveram pico de proliferação no dia 21, diminuindo desde então. As células do protocolo B (com 4 mg de DEX) apresentaram pico de proliferação no dia 14, diminuindo desde então. Este estudo mostrou ainda que a DEX pode influenciar o comportamento *in vitro* de células-tronco de polpa dental humana, seu uso na cultura de células mesenquimais induz a diferenciação osteoblástica e, conseqüentemente, a formação de tecidos mineralizados.

Caballero et al. (2017) realizaram enxerto ósseo em suínos com osso proveniente de costela, de crista ilíaca e por último células-tronco mesenquimais do cordão umbilical em *scaffolds* de nanomicrofibras (uma nova construção de engenharia de tecido). O enxerto de costela não se integrou com o tecido circundante. A análise histológica revelou o osso maduro compacto com osteoclastos que revestem a superfície do enxerto, um sinal de reabsorção óssea. O enxerto de crista ilíaca demonstrou integração com o osso circundante e preenchimento adequado do defeito. Neste estudo, o osso gerado usando células-tronco mesenquimais diferenciadas foi melhor e histologicamente semelhante ao osso gerado usando osso esponjoso da crista ilíaca. O histológico não demonstrou evidência de reabsorção ou inflamação no local do enxerto e contribuem para a formação óssea dentro da fenda criada cirurgicamente.

Du et al. (2017) com o objetivo de comparar a eficácia entre a reparação de defeitos ósseos com enxerto da crista ilíaca e células mononucleares de medula óssea (CMMO) combinadas com grânulos de fosfato beta-tricálcico (β -TCP), realizaram um estudo com 20 pacientes entre 8 e 28 anos, dos quais 10 receberam enxerto CMMO / β -TCP, enquanto os 10 pacientes restantes foram submetidos a enxerto ósseo de crista ilíaca. A formação de osso foi quantitativamente avaliada por exames tomográficos tridimensionais pelo período de 12 meses. Todos os pacientes curaram-se adequadamente sem qualquer infecção. Pacientes do grupo CMMO / β -TCP poderiam se mexer imediatamente após a cirurgia e não relataram desconforto no sítio doador durante o seguimento de 12 meses. No grupo da crista ilíaca, os pacientes foram obrigados a descansar em cama durante os primeiros 3 dias do pós-operatório.

Todos os pacientes se queixaram de dor moderada na região doadora. Um terço dos pacientes (3/10) relataram dor na crista ilíaca até 6 meses após a cirurgia. Além disso, a duração da internação neste grupo aumentou consideravelmente em comparação com o grupo CMMO / β -TCP. A união óssea alveolar foi alcançada na maioria dos pacientes de ambos os grupos. Os defeitos ósseos alveolares foram reparados em ambos os casos. No entanto, em certos casos, os defeitos alveolares não foram completamente reparados em ambos os grupos. No grupo CMMO / β -TCP, as fendas de dois pacientes foram apenas parcialmente reparadas e os arcos dentários não foram restaurados. No grupo da crista ilíaca, um paciente apresentou reparo parcial, e o enxerto de outro paciente foi quase completamente absorvido 6 meses após a cirurgia (DU et al., 2017).

5. DISCUSSÃO

Os defeitos ósseos craniofaciais geralmente ocorrem de ressecção tumoral, má formação congênita, trauma, fraturas osteoporóticas, cirurgia ou periodontite e o enxerto ósseo autógeno foi à abordagem padrão ouro para o tratamento. No entanto, é uma técnica invasiva que pode levar complicações ao doador. Além disso, o suprimento de osso autógeno é limitado (YAMADA et al., 2011).

Por outro lado, a engenharia de tecidos e a medicina regenerativa usando células-tronco (ETMR), que são benéficas do ponto de vista de hospitalização reduzida, morbidade e reações imunes, é uma ferramenta em uma nova plataforma clínica para todo um espectro de doenças intratáveis. O conceito ETMR é regenerar tecidos usando três elementos - células-tronco, matriz extracelular e fatores de crescimento (YAMADA et al., 2011).

A fenda alveolar é o defeito ósseo congênito mais comum da face. O enxerto ósseo alveolar secundário antes da erupção canina é considerado o procedimento padrão para pacientes com fissura labial e palatina (JIA et al., 2007; BOYNE et al., 1972 apud DU et al., 2017). O reparo da fenda do osso alveolar ajuda a restaurar a continuidade do arco dental, estabilizar a maxila, facilitar o tratamento ortodôntico subsequente e fornecer suporte às estruturas dos tecidos moles (SCHNITT et al., 2004; SEIKE et al., 2012 apud DU et al., 2017).

Várias fontes de material de enxerto ósseo são encontradas, incluindo enxertos autogênicos, alogênicos, xenogênicos e aloplásticos. O enxerto ósseo autógeno é a fonte primária para a reconstrução dos defeitos da fenda alveolar e atualmente é o material de enxerto preferido, principalmente por sua capacidade osteogênica, osteoindutora e osteocondutora. Os sítios doadores mais utilizados na cirurgia oral e maxilofacial incluem o ílio anterior e posterior, a tíbia proximal, a costela, a sínfise mandibular e o osso calvarial. O osso autógeno da crista ilíaca é considerado o “padrão ouro” para a reconstrução da fissura alveolar, principalmente por proporcionar grande quantidade de osso esponjoso, ter grande potencial osteogênico, fácil acesso cirúrgico e uma alta taxa de sucesso. (SEIFELDIN, 2015).

Enxerto da crista ilíaca é o “padrão ouro” para o reparo de fenda alveolar (JIA et al., 2007; KOOLE, 1994; BENLIDAYI et al., 2012 apud DU et al 2017). No entanto, está associado a complicações, como dor pós-operatória severa no local doador, instabilidade pélvica, lesão nervosa e infecção (SWAN et al., 2005; CANADY et al., 1993 apud DU et al

2017). Além disso, a taxa de sucesso de reparação de fenda alveolar com crista ilíaca varia consideravelmente em diferentes relatórios (JIA et al 2007; WILLIAMS et al 2003; BRUDNICKI et al., 2014 apud DU et al., 2017).

A fim de diminuir as complicações nas áreas doadoras de osso, novas estratégias de regeneração óssea têm sido estudadas, tais como biomateriais osteocondutor, citocinas, e mais notavelmente as proteínas morfogenéticas do osso (BMPs) (FRANCIS et al., 2013; CHANG et al., 2017 apud DU et al., 2017).

A terapia com células-tronco é uma alternativa promissora ao enxerto ósseo autólogo. Uma combinação de células mesenquimais cultivadas e biomateriais é uma estratégia comum na reparação de defeitos do osso, e a sua eficácia foi demonstrada em vários modelos animais (LOKEN et al., 2008; VELEZ et al., 2012 apud DU et al., 2017).

A preparação de enxertos cultivados envolve um procedimento complicado, altos custos de fabricação e um risco de contaminação, o que torna muito difícil obter aprovação regulatória para aplicação clínica. Até a presente data, poucos estudos clínicos *in vivo* utilizando células mesenquimais cultivadas e biomateriais foram relatados (KITOH et al., 2009; AMINI et al., 2012 apud DU et al., 2017).

As células-tronco obtidas a partir da polpa de dente possuem alta qualidade para diferenciação em osso; seu uso para pesquisa e terapias incluindo enxertos autólogos e engenharia de tecidos é muito promissor, pois além de possuírem alta qualidade são de fácil obtenção. Trata-se de um assunto recente que ainda necessita de inúmeros estudos, e que servirá como porta de entrada para uma ampla variedade de terapias regenerativas, não apenas da cavidade oral, mas de diversas enfermidades do corpo humano (MIURA et al., 2003; LAINO et al., 2006 apud BUENO, 2007).

Os benefícios de se utilizar as células tronco incluem: a imunocompatibilidade das células autólogas, a disponibilidade das mesmas, a facilidade para se induzir sua diferenciação, bem como a possibilidade de serem utilizadas para estudar a etiopatogenias das FO e de outras doenças genéticas (BUENO, 2007).

As vantagens de se trabalhar com células-tronco da polpa dentária se dão pela acessibilidade de coleta, de maneira minimamente invasiva e indolor. Pela capacidade de gerarem tecidos dentários humanos com maior efetividade, além de não apresentarem reação imunológica ou anti-inflamatória, o que aumenta, inclusive, as condições de alotransplante.

Entretanto, mesmo com estes resultados iniciais favoráveis, são necessários inúmeros outros estudos, pois é necessário considerar todas as diferenças morfológicas existentes entre camundongos e humanos (BANSAL, 2015 apud GARCIA et al.; 2017).

As células-tronco mesenquimais da polpa dentária (CMPD) possuem uma potencialidade para o tratamento de várias doenças humanas, incluindo defeitos ósseos. São diferenciadas em osteoblastos, neurônios, cardiomiócitos, condrócitos, células hepáticas e células β da ilhota do pâncreas. Têm sido utilizadas na medicina regenerativa para terapia de doenças relacionadas aos ossos e cirurgias ortopédicas como no reparo ósseo oro-maxilo-facial. Assim, o transplante autólogo de CMPD pode ser utilizado em uma estratégia terapêutica de baixo risco e efetiva para o reparo de defeitos ósseos (POTDAR; JETHMALANI, 2015).

6. CONCLUSÃO

O enxerto da crista ilíaca é o “padrão ouro” para o reparo da fenda alveolar, possui alta taxa de sucesso e grande potencial osteogênico, osteoindutor e osteocondutor. No entanto, está associada a complicações pós-operatórias da região doadora, como injúrias vasculares, neurológicas, morbidade pós-operatória e infecção. Além disso, o suprimento de osso autógeno é limitado.

A polpa dentária é vantajosa por sua disponibilidade, facilidade para diferenciação, acessibilidade na coleta realizada de maneira minimamente invasiva e indolor. Não apresenta reação imunológica ou anti-inflamatória e tem capacidade de diferenciação osteogênica.

Os estudos apresentados evidenciaram que a terapia com células-tronco é uma alternativa promissora ao enxerto ósseo autólogo, com resultados muito próximos na reparação de defeitos do osso. Um recurso celular adicional para reparar defeitos alveolares maxilares. No entanto, o processamento e armazenamento dessas células assim como a preparação de enxertos cultivados envolve um procedimento complicado e com altos custos.

REFERÊNCIAS

- AJLAN, S. A.; ASHRI, N. Y.; ALDAHMAH, A. M.; ALNBAHEEN, M. S. Osteogenic differentiation of dental pulp stem cells under the influence of three different materials. **BMC Oral Health**, v. 15, n. 132, out. 2015.
- ALONSO, N; SAKAI, D. Y; JÚNIOR, J. E. de L; FERREIRA, M. C. Avaliação comparativa e evolutiva dos protocolos de atendimento dos pacientes fissurados. **Rev. Bras. Cir. Plást**, São Paulo, v. 25, n. 3, p. 434-438, 2010.
- BORGES, A. R; MARIANO, L; MEDRADO, A. P; VEIGA, P. C; REIS, S. R. de A. R. Fissuras labiais e/ou palatinas não sindrômicas - determinantes ambientais e genéticos. **Revista Bahiana de Odontologia**, v. 5, n. 1, p. 48-58, jan. 2014.
- BUENO, D. F. **Uso de células tronco adultas para estudo da etiopatogenia das fissuras lábio palatinas e bioengenharia de tecidos**. São Paulo, p. 4-39, 2007.
- CABALLERO, M. MORSE, J. C.; HALEVI, A. E.; EMODI, O. PHARAON, M. R.; WOOD, J. S.; AALST, J. A. V. Juvenile Swine Surgical Alveolar Cleft Model to Test Novel Autologous Stem Cell Therapies. **Tissue Eng Part C Methods**, v. 21, n. 9, p. 898–908, set. 2015.
- CHOWDHURY, S. K. R.; MENON, P. S.; VASANT, M. R.; JAYAN, B.; DHIMAN, R. K.; KARKUN, S. Secondary and Delayed Bone Grafting in Alveolar and Anterior Palatal Clefts. **Medical Journal Armed Forces India**, v. 62, n. 3, p. 231-235, jul. 2006.
- DIXON, M. J; MARAZITA, M. L; BEATY, T. H; MURRAY, J.C. Cleft lip and palate: synthesizing genetic and environmental influences. **Nat Rev Genet**, v.12, n. 3, p. 167–178, mar. 2011.
- DU, F.; WU, H.; LI, H.; CAI, L.; WANG, Q.; LIU, X.; XIAO, R. YIN, N.; CAO, Y. Bone Marrow Mononuclear Cells Combined with Beta-Tricalcium Phosphate Granules for Alveolar Cleft Repair: A 12-Month Clinical Study. **Sci Rep.**, v. 7, n. 13, oct. 2017.
- FEICHTINGER, M.; MOSSBÖCK, R.; KÄRCHER, H. Assessment of bone resorption after secondary alveolar bone grafting using three-dimensional computed tomography: a three-year study. **Cleft Palate Craniofac J.**, v. 44, n. 2, mar. 2007.
- GARCIA, T.; ROQUE, J. S.; SILVA, F. D. Células-tronco: bioengenharia aplicada à odontologia. **Nanocell News**, Rio de Janeiro, v. 4, n. 6, fev. 2017.
- GUPTA, C.; MEHROTRA, D.; MOHAMMAD, S.; SINGH, G. K.; SINGH, G.; CHELLAPPA, A. A.; PASSI, D. Alveolar bone graft with Platelet Rich Plasma in cleft alveolus. **J Oral Biol Craniofac Res.**, v. 3, n. 1, jan./abr. 2013.

- JAHANBIN, A.; RASHED, R.; ALAMDARI, D. H.; KOOHESTANIAN, N.; ATEFEH, E.; KAZEMIAN, M.; SAGHAFI, S.; RAISOLSADAT, M. A. Success of maxillary alveolar defect repair in rats using osteoblast-differentiated human deciduous dental pulp stem cells. **J Oral Maxillofac Surg.**, v. 74, n. 4, abr. 2016.
- LAINO, G. D'AQUINO, R. GRAZIANO, A. LANZA, V. 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.**, v. 20, n. 8, p.1394-402, mar. 2005.
- LOPES, V. L. G. S; MONLLEÓ, I. L. Fatores de risco e prevenção de fendas orais. **Braz. Res oral**, São Paulo, v. 28, n. 1, p. 1-5, jan. 2014.
- MARTELLI, D. R. B; MACAHDO, R. A; SWERTS, M. S. O; RODRIGUES, A. M; AQUINO, S. N. de; JÚNIO, H. M. Fissuras lábio palatinas não sindrômicas: relação entre o sexo e a extensão clínica. **Braz. j. otorhinolaryngol**, São Paulo, v. 78, n. 5, p.116-120, set./out. 2012.
- MIURA, M.; ZHAO, M.; LU, B.; FISHER, L. W.; ROBEY, G.; P.; SHI, S. SHED: Stem cells from human exfoliated deciduous teeth. **PNAS**, Chicago, v. 100, n. 10, mar. 2003.
- MORETTI, R. C.; DUAILIBI, M. T.; MARTINS, P. O.; SANTOS, J. A.; DUAILIBI, S. E. Osteoinductive effects of preoperative dexamethasone in human dental pulp stem cells primary culture. **Future Sci AO**, São Paulo, v. 3, n. 3, abr. 2017.
- NELIGAN. P.C. et al. **Cirurgia plástica: princípios, volume um**. 3ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.
- SOUSA, G. F. T; RONCALLI, A. G. Orofacial clefts in Brazil and surgical rehabilitation under the Brazilian National Health System. **Braz. oral research**. vol.31 São Paulo, 2017.
- ROCHA, R; RITTER, D. E; RIBEIRO, G. L. U.; DERECH, D'A. Fissuras labiopalatinas – diagnóstico e tratamento contemporâneos. **Ortho Science**, v. 8, n. 32, p. 526-540, 2015.
- SEIFELDIN, S. A. Is alveolar cleft reconstruction still controversial? (Review of literature). **Arábia Dent J**, v. 28, n. 1, p. 3-11, jun. 2015.
- SHARMA, S.; RAO, D. JK.; MAJUMDER, K.; JAIN, H. Secondary alveolar bone grafting: Radiographic and clinical evaluation. **Ann Maxillofac Surg.**, v. 2, n. 1, p. 41-45, jan./jun. 2012.
- POTDAR, P. D.; JETHMALANI, Y. D. Human dental pulp stem cells: Applications in future regenerative medicine. **World J Stem Cells**, v. 7, n. 5, p. 839–851, jun. 2015.
- YAMADA, Y.; ITO, K.; NAKAMURA, S.; UEDA, M.; NAGASAKA, T. Promising cell-based therapy for bone regeneration using stem cells from deciduous teeth, dental pulp, and bone marrow. **Cell Transplant**, v. 20, n. 7, nov. 2011.

ANEXOS

ANEXO - Protocolo do Grupo de Cirurgia Craniofacial da Disciplina de Cirurgia Plástica e Queimaduras do HCFMUSP para tratamento dos pacientes de fissuras labiopalatinas.

| Idade | Procedimento e/ou avaliação |
|----------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Nascimento | Orientação quanto à amamentação. Avaliação multidisciplinar inicial: fonoaudiólogo, geneticista, otorrinolaringologista e cirurgião plástico. Início do acompanhamento da curva de crescimento. |
| 3 meses de vida | Queiloplastia: Unilateral - técnica de Millard modificada ⁹ com rinoplastia primária estendida; Bilateral - técnica de Millard em tempo único. Se amplas - inicialmente adesão labial e, após 6 meses, procedimento cirúrgico padrão. Se otite - colocação de tubo de ventilação por otorrinolaringologista; Moldagem em gesso da fissura. |
| 12 meses de vida | Palatoplastia segundo a técnica descrita por von Langenbeck ⁺¹¹ com veloplastia intravelar ¹² estendida. Início do acompanhamento anual pela equipe de fonoaudiologia. |
| 5 anos de vida | Faringoplastia com técnica de pedículo superior nos pacientes portadores de insuficiência velofaríngea. Nasofibrosopia e polissonografia pré e pós-operatório de 1, 6 e 12 meses, após anual. Moldagem de gesso e cefalometrias anuais. |
| 6 anos de vida | Início do acompanhamento odontológico. |
| 8 a 12 anos de vida | Enxerto ósseo alveolar com osso proveniente da crista ilíaca. Avaliação por meio de radiografia panorâmica, oclusal e periapical; e tomografia computadorizada da face pré e pós-operatório de 6 a 12 meses. |
| 13 a 15 anos de vida | Cirurgia ortognática - se hipoplasia do terço médio da face. |
| > 15 anos | Rinoplastia secundária, quando necessária. |