

---

# Padronização do isolamento das células-tronco de polpa dentária para aplicação em engenharia de tecido ósseo

Isabella Beatriz Tonatto Pinto<sup>1</sup>; Verônica Pierzchalski Lima<sup>2</sup>; Humberto Thomazi Gassen<sup>3</sup>; Sergio Augusto Miguens Junior<sup>3</sup>; Melissa Camassola<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Acadêmica do Curso de Medicina - bolsista PROICT-ULBRA, <sup>2</sup> Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde - ULBRA, Canoas, RS. <sup>3</sup> Programa de Pós-Graduação em Odontologia - ULBRA, Canoas, RS.

---

## Resumo

O tecido pulpar dentário tem sido descrito como fonte de células multipotentes, apresentam capacidade de autorrenovação e diferenciação em diferentes tipos celulares. Na terapia de tecidos essas células são promissoras. O objetivo do estudo foi isolar células-tronco mesenquimais de polpa dentária (CTMPD). O estudo foi composto por doadores entre 12 e 26 anos. As células foram isoladas a partir da polpa dentária obtida dos terceiros molares inclusos superiores. No isolamento, expansão e caracterização das CTMPDs o tecido foi acondicionado em placas de cultura, com meio específico completo e suplementado e mantidas em temperatura adequada até aderirem e atingirem a confluência de 80 %. Após, as células foram mantidas nas condições do início do isolamento e apresentaram 2 % da capacidade de formação de colônias. É possível concluir que as células-tronco da polpa dentária adulta são capazes de formar colônias e proliferar *in vitro*.

**Palavras-chave:** Tecido pulpar dentário, células-tronco, osteogênese.

## Abstract

Dental pulp tissue has been described as a source of multipotent cells, with the ability to self-renew and differentiate into different cell types. In tissue therapy these cells are promising. The aim of the study was to isolate dental pulp mesenchymal stem cells (CTMPDs). The study consisted of donors aged between 12 and 26 years. Cells were isolated from dental pulp obtained from maxillary impacted third molars. In the isolation, expansion and characterization of CTMPDs, the tissue was placed in culture plates, with complete and supplemented specific medium and kept at adequate temperature until they adhered and reached 80% confluence. Afterwards, the cells were kept in the conditions of the beginning of the isolation and showed 2% of the colony formation capacity. It is possible to conclude that stem cells from adult dental pulp are able to form colonies and proliferate *in vitro*.

**Keywords:** Dental pulp tissue, stem cells, osteogenesis.

---

## Introdução

O tecido pulpar dos dentes tem sido descrito como fonte de células-tronco multipotentes, que apresentam capacidade de autorrenovação e diferenciação em diferentes tipos celulares. Na terapia de tecidos, as MSCs são um dos tipos mais promissores de células-tronco (DA SILVA MEIRELLES et al., 2009; CAPLAN E CORREA, 2011; DA SILVA MEIRELLES et al., 2015b). As MSCs foram isoladas e se tornaram referência no estudo de células-tronco

adultas (FRIEDENSTEIN et al., 1976). As MSCs também são obtidas de vários órgãos e tecidos como: a membrana sinovial (DE BARI et al., 2001), cordão umbilical (MARESCI et al., 2001), tecido adiposo (ZUK et al., 2001; VIEIRA et al., 2010; BOURIN et al., 2013), tendão (SALINGCARNBORIBOON et al., 2003), pâncreas (LIN et al., 2006), fígado (DAN et al., 2006), polpa dentária (NAKASHIMA, 2005; NAKASHIMA e

AKAMINE, 2005; SOARES et al., 2007), tecido cerebral humano (TATEBAYASHI et al., 2017).

As MSCs são capazes de repor as células que morrem por motivos fisiológicos, secretam moléculas tróficas e moléculas imunomoduladoras como, por exemplo, fator de crescimento transformante  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) (RIBATTI et al., 2011; DA SILVA MEIRELLES et al., 2016). Quando cultivadas, MSCs expressam CD105, CD73 e CD90, e são negativas ( $\leq$  2% positivas) para os marcadores de superfície CD45, CD34, CD14 ou CD11b, CD79 $\alpha$  ou CD19 e HLA classe II. Além disso, MSCs cultivadas são capazes de diferenciar em osteoblastos, adipócitos e condroblastos sob condições padrão de diferenciação *in vitro* (DOMINICI et al., 2006).

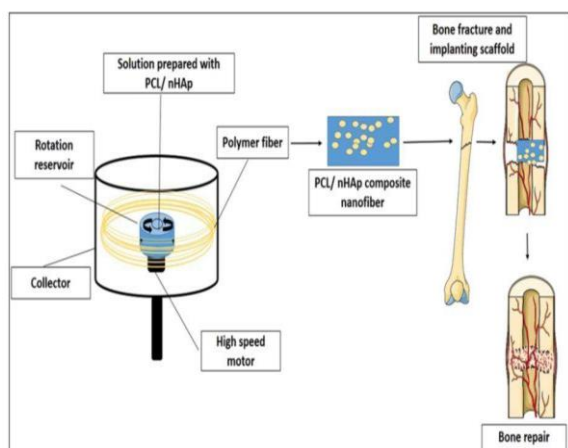
Um biomaterial pode ser composto por substâncias que sejam biocompatíveis, não tenham efeitos tóxicos locais ou sistêmicos no tecido, oferecendo suporte para a viabilidade e adesão celular, proliferação e deposição da matriz extracelular (MEC) (LIN et al., 2019). Atualmente os biomateriais são constituídos por componentes que são bioativos e biodegradáveis, interagindo com o organismo, ou seja, fazem parte do tecido (PIRES et al., 2015). Essa interação é baseada no conhecimento prévio sobre a comunicação entre célula e MEC, que, apesar de ser complexa, dinâmica e multifacetada, é estendida para a interação entre célula e o biomaterial (WU et al., 2018). Para regenerar o tecido ósseo, os biomateriais projetados necessitam apresentar características como um suporte tridimensional (*scaffold*), que se assemelha a arquitetura da MEC, como o osso nativo, visando fornecer, *in vivo*, um microambiente celular (MOROZ et al., 2009; SHAO et al., 2016). A arquitetura da MEC óssea tornou-se uma fonte de pesquisa para um microambiente e organização de numerosos processos celulares, incluindo proliferação, diferenciação e fatores de crescimento (AFEWERKI et al., 2019).

Em geral, os biomateriais utilizados na engenharia de tecidos são divididos em duas categorias: naturais e sintéticas (ZANETTI et al., 2013). Os biomateriais naturais, utilizados para a produção de *scaffolds* são encontrados naturalmente no MEC como o colágeno, ácido hialurônico, glicosaminoglicanos e hidroxiapatita. Os biomateriais tridimensionais (*scaffolds*) produzidos a partir desses materiais apresentam semelhança com os componentes do tecido hospedeiro, além de bioatividade. Os biomateriais sintéticos oferecem a versatilidade de criar microambientes tridimensionais com características ajustáveis, incluindo propriedades mecânicas, hidrofília/hidrofobicidade e degradabilidade. Existem quatro tipos de materiais empregados

como biomaterial em estudos de engenharia óssea: metais, cerâmicos, polímeros e compósitos (constituído por dois materiais distintos, ambos mantêm as suas propriedades individualmente) (NETO e FERREIRA, 2018). Os biomateriais podem ser criados com diferentes topografias considerando forma, dimensão, microestrutura ou nanoestrutura e tridimensionalidade, natureza química, nível de rigidez e elasticidade, propriedades mecânicas e capacidade de gerar estímulos (MAZZONI et al., 2020).

Os *scaffolds* nano e micro-fibrosos são aplicados na engenharia de tecido ósseo devido à sua semelhança com a MEC (STOCCO et al., 2018). Entre os compósitos, algumas técnicas da engenharia tecidual prevê a utilização de biomateriais por eletrofiação. A eletrofiação é uma técnica empregada para criar fibras sub-micrométricas usando polímeros fundidos ou em solução. A solução (ou o material fundido) é colocada em uma seringa ou capilar, a qual é ejetada por uma bomba de fluxo constante. A solução injetada forma uma estrutura conhecida como filmes não tecidos (MANCIPE et al., 2019). Na busca do biomaterial mais adequado para a engenharia de tecido ósseo surgem as fibras produzidas por rotofiação, de poli (epsilon-caprolactona) (PCL) em associação com nano- hidroxiapatita (nHAp) - (PCL / nHAp - Fig.1), que serão empregadas neste estudo. As PCL / nHAp foram avaliadas *in vitro* e *in vivo* promovendo a formação de osso lamelar (SANTANA-MELO et al., 2017; ANDRADE et al., 2019). Ainda, os compósitos nanoestruturados apresentaram excelentes propriedades biomiméticas, mecânicas e biocompatíveis, para a engenharia de tecido ósseo (SHAO et al., 2016).

Os *scaffolds* nanofibrosos modificados têm o potencial de serem aplicados com sucesso na clínica de regeneração do tecido ósseo (UDOMLUCK et al., 2019). Em meados de 2009 (YANG et al., 2010), utilizaram as Células-Tronco Mesenquimais de Polpa Dentária (CTMPD), com o biomaterial PCL / nHAp, e observaram que houve a diferenciação das CTMPDs em células semelhantes a odontoblastos. Porém os estudos publicados até o momento avaliam a aplicação do PCL / nHAp em associação com as MSCs obtidas de diversos tecidos. As MSCs associadas à biomateriais vêm sendo consideradas de grande valor terapêutico para a regeneração de tecidos.



**Figura 1.** Esquema do aparelho rotador que mostra uma imagem das PCL/nHAp. Fonte: Andrade et al., 2019.

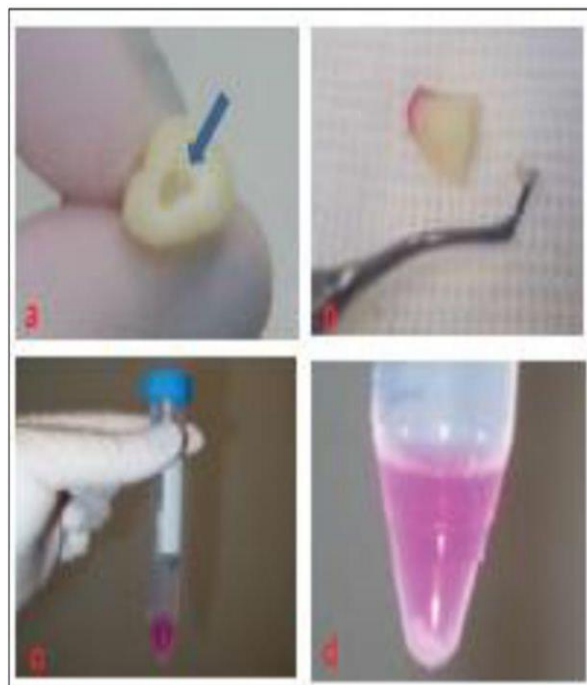
Este trabalho teve como objetivo principal isolar expandir e caracterizar as culturas de células-tronco mesenquimais de polpa dentária (CTMPD), por análises de proliferação celular, ensaio clonogênico, diferenciação osteogênica e citometria de fluxo, em amostras de terceiros molares inclusos superiores com indicação de exodontia para futura associação com *scaffolds* contendo PCL.

### Materiais e Métodos

A metodologia aplicada neste estudo teve o caráter experimental quantitativo, foram realizados os cultivos *in vitro* de CTMPDs (n = 5 dentes). A população de estudo foi composta por adolescentes e adultos, com idades entre 12 e 26 anos, submetidos à extração dos dentes terceiros molares inclusos superiores. As células foram isoladas a partir da polpa dentária obtida dos dentes removidos na cirurgia (JESUS et al., 2011).

Os procedimentos cirúrgicos foram realizados sob controle rigoroso da cadeia asséptica, devido à grande presença de microrganismos no meio bucal (TELLES et al., 2016). Foram realizadas assepsia intra e extrabucal com digluconato de clorexidina à 2% e à 0,12% respectivamente. Logo após a exodontia, os elementos dentários foram examinados e limpos com gluconato de clorexidina à 2% para, em seguida, ser realizado, com broca cirúrgica (broca Zecrya para odontosecção) sob refrigeração constante com água destilada, o corte da estrutura dentária na junção cimento-esmalte para a remoção da polpa coronária e radicular com cureta para pulpotomia (escavador haste longa nº1 para pulpotomia, ABC Instrumentos Cirúrgicos, Brasil) e imediatamente colocadas em recipientes individuais (Fig. 2), contendo meio de cultura (HDMEM - *Hepes buffered Dulbecco's Modified Eagle's Medium* - Sigma Chemical Co. St. Louis, EUA), com 50 mg / ml de gentamicina (Novafarma, Anápolis, GO, Brasil), acondicionadas entre 4 e 8°C

(JESUS et al., 2011; TELLES et al., 2016). As amostras foram imediatamente transportadas para o laboratório de Células-Tronco e Engenharia de Tecidos (LACET), do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde, ULBRA - Canoas - RS, onde o tecido foi processado para obtenção dos cultivos celulares.



**Figura 2.** Remoção e obtenção de tecido pulpar. a) Dente seccionado com a polpa da câmara pulpar (flecha); b) Remoção total da polpa (coronal e radicular com uma cureta; c) Polpa no tubo graduado contendo meio HDMEM; d) Tecido pulpar obtido de um terceiro molar. Fonte: Telles et al., 2016.

No isolamento, expansão e caracterização dos cultivos celulares das CTMPDs, o tecido obtido foi imediatamente acondicionado em placas com meio de cultura completo (*culture complete medium* - CCM) - *Dulbecco Modified Eagle Medium*, suplementado com 10% de soro fetal bovino, 10 mM de ácido 4- (2- hidroxietil) -1- piperazinoetanossulfônico (HEPES), 100 U de penicilina/mL e 10 mg de solução de estreptomicina/mL, e mantidas em uma incubadora a 37°C com atmosfera umidificada contendo 5% de CO<sub>2</sub>, por 14 dias, até que as células aderiram a placa e atingiram confluência de 80 %. Após o isolamento as células foram mantidas em uma incubadora a 37°C, nas mesmas condições do início do isolamento. As células foram mantidas até a passagem 12. Para avaliação da taxa de células formadoras de colônias foram plaqueadas 200 células/ poço em placas de 6 poços, com meio CCM, em sextuplicatas. O meio foi trocado após 72 h, durante 7 dias.

A pesquisa teve aprovação no Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da ULBRA sob o número CAAE: 35501420.9.0000.5349.

## Resultados e Discussão

Na literatura diversas terapias voltadas à engenharia de tecidos que utilizam as células-tronco devido ao seu grande potencial na odontologia e na medicina regenerativa atual. Por meio da padronização de isolamento das CTMPDs foram obtidas células com morfologia fibroblástica, capacidade de adesão ao fundo da placa de cultura, apresentação típica de células-tronco mesenquimais. Ademais, observou-se que ao sofrerem congelamento e descongelamento, as células estudadas mantiveram-se com capacidade clonogênica. Foi observado 2% da capacidade de formação de colônias. Na figura 3 está apresentada a imagem ilustrativa de uma cultura com 100% de confluência.

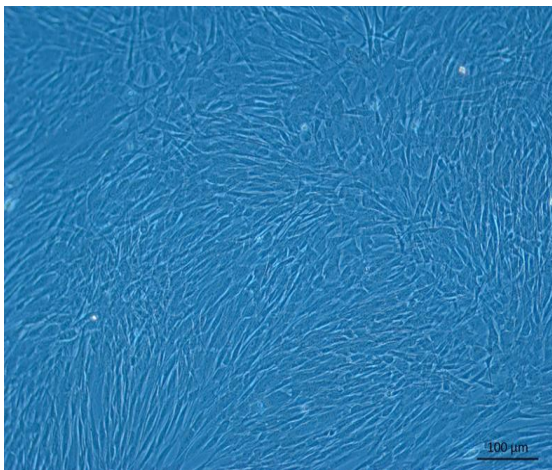


Figura 3. Célula-tronco de polpa dentária em passagem 4.

Na figura 4 observam-se colônias obtidas através de ensaio clonogênico. Como resultado, a taxa de formação de colônias foi 2%, caracterizando a capacidade clonogênica.

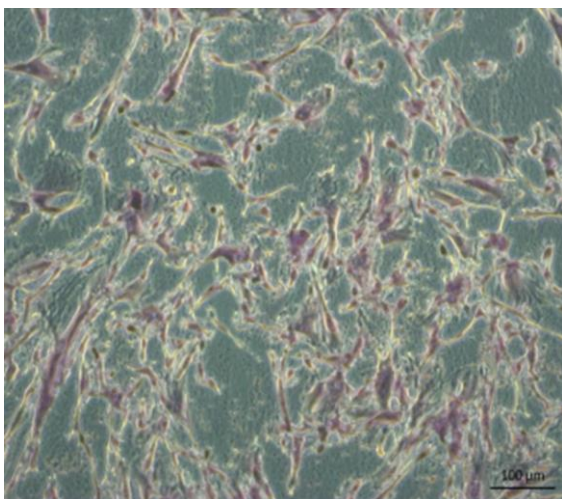


Figura 4. Coloração com Giemsa de colônias formadas por CTMPDs.

Alguns autores mostraram resultados semelhantes aos que foram encontrados com as CTMPDs descritas no trabalho. Silva et al. (2016) descreveram células-tronco de tecidos periodontais e da polpa dentária que foram usadas para reconstruir os tecidos dentários e podem ser úteis como alternativa na ausência de dentes, pois são mais promissoras devido a sua afinidade com os tecidos-alvo. Os resultados do isolamento das CTMPD para aplicação em engenharia de tecido ósseo apresentados por Silva et al. (2016) mostraram que nas amostras testadas por digestão enzimática e explante, o tecido levou em torno de 14 dias para que as células ficassem em suspensão no cultivo celular. As culturas de CTMPDs quanto à taxa de adesão e proliferação celular foram observadas em pacientes com idade máxima de 25 anos, tempo de cultura de 72 horas na passagem 3 (P3), em frascos T175. Quando as células atingiram a confluência, elas foram separadas, contadas e ressemeadas na densidade (células/cm<sup>2</sup>) de cada amostra, então foi calculada a média de todas as amostras e determinado o DPT = 131,35 ± 0,22. Segundo Paino et al. (2017), as células apresentaram o DPT = 49 ± 2h. Nesse estudo CTMPDs foram plaqueadas a uma densidade de 50.000 células/poço em placas de 6 poços e a uma densidade de 100.000 células em frascos T25; as curvas de crescimento foram realizadas em 24, 48 e 72 horas, e 7, 14 e 21 dias de cultivo. Segundo Bressan et al. (2012), as CTMPDs foram cultivadas em meio não diferenciador, em placas de 6 poços a uma densidade inicial de 5 x 10<sup>4</sup> células/cm<sup>2</sup>. Quando as células atingiram a confluência, elas foram separadas, contadas e ressemeadas a uma densidade de 5 x 10<sup>4</sup> células/cm<sup>2</sup>. O DPT foi avaliado *in vitro* em 3 diferentes passagens: P2 (passagem inicial), P5 (passagem de médio prazo) e P8 (cultura de longo prazo). Foi observado um crescimento bem definido para cada passagem em qualquer idade. Para a faixa etária (até 67 anos), a capacidade proliferativa diminui com o tempo e durante o envelhecimento *in vitro*. Para os doadores até 25 anos foi observado um alto valor de DPT e mantido em todas as passagens celulares. Comparando os dois artigos pode-se considerar que não há uma padronização quanto a obtenção dos dados para calcular o DPT. Para avaliação do ensaio clonogênico das colônias, foi observado 2 % da capacidade de formação de colônias, houve o aparecimento de 4 colônias/poço/placas de 6 poços, com mais de 50 % células cada colônia. O método demonstrou eficiência na formação de colônias e proliferação celular, com frequência de 22 a 70

colônias/células plaqueadas e taxa média de expansão e proliferação celular de  $131,35 \pm 0,22$ . Nos ensaios de diferenciação osteogênica, adipogênica e condrogênica das culturas CTMPDs e dos controles, após o meio indutor, pode ser observada a diferenciação macroscopicamente ou microscopicamente, dependendo da quantidade de depósito. Na diferenciação osteogênica, as CTMPDs apresentaram matriz extracelular (MEC) secretada por osteoblastos rica em Ca<sup>2+</sup> enquanto, na diferenciação condrogênica, apresentaram MEC rica em glicosaminoglicanos. Os resultados dos ensaios foram compatíveis com os protocolos preconizados por (GRONTHOS et al., 2000).

### Considerações Finais

Até o momento conclui-se que as células-tronco da polpa dentária adulta extraídas do terceiro molar, aqui denominadas CTMPDs são capazes de proliferação celular *in vitro*, capacidade clonogênica, são aderentes e possuem morfologia fibroblástica típica de célula-tronco mesenquimal.

### Agradecimentos

Agradecemos às agências financiadoras CNPq e CAPES.

### Referências

AFEWERKI S.; MAGALHÃES L.S.S.M.; SILVA A.D.R. *et al.* Bioprinting a Synthetic Smectic Clay for Orthopedic Applications. **Adv. Healthcare Mater**, v. 8, n.13, p. 2192-640, 2019.

ANDRADE T. M.; MELLO D.C.R.; ELIAS C.M.V. *et al.* In vitro and in vivo evaluation of rotary-jetspun poly (ε-caprolactone) with high loading of nano-hydroxyapatite. **J Mater Sci Mater Med**, v. 30, n.2, p. 19, 2019.

BELLAGAMBA B. C.; GRUDZINSKI P.B.; ELY P.B. *et al.* Induction of Expression of CD271 and CD34 in Mesenchymal Stromal Cells Cultured as Spheroids. **Stem Cells Int.**, v. 2018, p:7357213, 2018.

BRESSAN E; FERRONI L; GARDIN C. *et al.*, Donor age-related biological properties of human dental Pulp Stem Cells Change in Nanostructured Scaffolds. **PLoS ONE.**, v7, n.11, p: e49146, 2012.

BOURIN P.; BUNNELL B.A.; CASTEILLA L. *et al.* Stromal cells from the adipose tissue-derived stromal vascular fraction and culture expanded adipose tissue-derived stromal/stem cells: a joint statement of the International Federation for Adipose Therapeutics and Science (IFATS) and the Inter. **Cytotherapy**. v.15, n.6, p. 641-8, 2013.

CAPLAN A.I.; CORREA D. The MSC: an injury drugstore cell. **Stem Cell**. v.9, n.1, p: 11-5, 2011.

DA SILVA MEIRELLES L.; CAPLAN A.; NARDI N.B. In search of the in vivo identity of mesenchymal stem cells. **Stem Cells**. v.26, n.9, p: 2287-99, 2008.

DA SILVA MEIRELLES L.; SAND T.T.; HARMAN R.J. *et al.* MSC frequency correlates with blood vessel density in equine adipose tissue. **Tissue Eng Part A**. v.15, n.2, p: 221-9, 2009.

DA SILVA MEIRELLES L.; MALTA T.M.; PANEPUCCI R.A. *et al.* Transcriptomic comparisons between cultured human adipose tissue-derived pericytes and mesenchymal stromal cells. **Genom Data**. v.7, p: 20-5, 2015b.

DA SILVA MEIRELLES L.; BELLAGAMBA B.C.; CAMASSOLA M. *et al.* Mesenchymal stem cells and their relationship to pericytes. **Front Biosci**. v.21, p: 130-56, 2016.

DAN Y.Y.; RIEHLE K.J.; LAZARO C. *et al.* Isolation of multipotent progenitor cells from human fetal liver capable of differentiating into liver and mesenchymal lineages. **Proc Natl Acad Sci USA**.v.103, n.26, p: 9912-17, 2006.

DE BARI C.; DELL'ACCIO F.; TYLZANOWSKI P. *et al.* Multipotent mesenchymal stem cells from adult human synovial membrane. **Arthritis Rheum**. v.44, n.8, p: 1928-42, 2001.

DIMARINO A.M.; CAPLAN A.I.; BONFIELD T.L. Mesenchymal stem cells in tissue repair. **Front Immunol**. v.4, p: 201, 2013.

DOMINICI M.; LE BLANC K.; MUELLER I. *et al.* Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. **Cytotherapy**. v.8, n.4, p: 315-7, 2006.

FRIEDENSTEIN A.J.; GORSKAJA J.F.; KULAGINA N.N. Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs. **Exp Hematol**. v.4, n.5, p: 267-74, 1976.

FU Y.; KARBAAT L.; WU L. *et al.* Trophic effects of mesenchymal stem cells in tissue regeneration. **Tissue Eng Part B Rev**. v.23, n.6, p: 515-28, 2017.

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**. v.97, n.25, p: 13625-30. 2000.

JESUS A.A.; SOARES M.B.P.; SOARES A.P. *et al.* Coleta e cultura de células-tronco obtidas da polpa de dentes decíduos: técnica e relato de caso clínico. **Dental Press J Orthod**. v.16, n.6, p: 111-8, 2011.

LIN H.T.; CHIOU S.H.; KAO C.L. *et al.* Characterization of pancreatic stem cells derived from adult human pancreas ducts by fluorescence activated cell

- sorting. **World J Gastroenterol.** v.12, n.28, p: 4529-35, 2006.
- MANCIPE J.M.A.; DIAS M.L.; THIRE R.M.S.M. Avaliação morfológica de fibras eletrofiadas de policaprolactona em função do tipo de solvente. **Matéria** (Rio J.). v.24, n.3, p: e12400, 2019.
- MARESCHI K.; BIASIN E.; PIACIBELLO W. *et al.* Isolation of human mesenchymal stem cells: bone marrow versus umbilical cord blood. **Haematologica.** v.86, n.10, p: 1099, 2001.
- MAZZONI E.; D'AGOSTINO A.; IAQUINTA M.R. *et al.* Hydroxylapatite-collagen hybrid scaffold induces human adipose-derived mesenchymal stem cells to osteogenic differentiation in vitro and bone regrowth in patients. **Stem Cells Transl Med.** v.9, n.3, p: 377-88, 2020.
- MOROZ A.; BITTENCOURT R.; FELISBINO S. *et al.* Gel de plaquetas: arcabouço 3D para cultura celular. **Acta Ortop Bras.** v.17, n.2, p: 43-5, 2009.
- NAKASHIMA M. Bone morphogenetic proteins in dentin regeneration for potential use in endodontic therapy. **Cytokine Growth Factor Rev.** v.16, n.3, p: 369-76, 2005.
- NAKASHIMA M.; AKAMINE A. The application of tissue engineering to regeneration of pulp and dentin in endodontics. **J Endod.** v.3, n.10, p: 711-18, 2005.
- NETO A.S.; FERREIRA J.M.F. Synthetic and Marine-Derived Porous Scaffolds for Bone Tissue Engineering. **Materials** (Basel). v.11, n.9, p: 1702. 2018.
- ORYAN A.; KAMALI A.; MOSHIRI A. *et al.* Role of mesenchymal stem cells in bone regenerative medicine: what is the evidence? **Cells Tissues Organs.** v.204, n.2, p: 59-83, 2017.
- PAINO F.; LA NOCE M.; GIULIANI A. *et al.* Human DPSCs fabricate vascularized woven bone tissue: a new tool in bone tissue engineering. **Clin Sci (Lond).** v.131, n.8, p: 699-13, 2017.
- PIRES A.L.R.; BIERHALZ A.C.K.; MORAES Â.M. Biomateriais: tipos, aplicações e mercado. **Quím. Nova.** v.38, n.7, p: 957-71, 2015.
- RIBATTI D.; NICO B.; CRIVELLATO E. The role of pericytes in angiogenesis. **Int J Dev Biol.** v.55, n.3, p: 261-68, 2011.
- SALINGCARNBORIBOON R.; YOSHITAKE H.; TSUJI K. *et al.* Establishment of tendon - derived cell lines exhibiting pluripotent mesenchymal stem cell-like property. **Exp Cell Res.** v.287, n.2, p: 289-300, 2003.
- SANTANA-MELO G.F.; RODRIGUES B.V.M.; DA SILVA E. *et al.* Electrospun ultrathin PBAT/nHAp fibers influenced the in vitro and in vivo osteogenesis and improved the mechanical properties of neofomed bone. **Colloids Surf B Biointerfaces.** v.155, p: 544-52. 2017.
- SHAO W.; HE J.; SANG F. *et al.* Coaxial electrospun aligned tussah silk fibroin nanostructured fiber scaffolds embedded with hydroxyapatite-tussah silk fibroin nanoparticles for bone tissue engineering. **Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.** v.58, p: 342-51, 2016.
- SILVA L. B.; NETO A. P.; PACHECO R. G. *et al.* The Promising Applications of Stem Cells in the Oral Region: Literature Review. **Open Dent J.** v.10, p: 227-35, 2016.
- SOARES A.P.; KNOP L.A.H.; JESUS A.A. *et al.* Células-tronco em odontologia. **Ver. Dent. Press Ortodon. Ortop. Facial** [Internet]. v.12, n.1, p: 33-40, 2007.
- STOCCO T.D.; BASSOUS N.J.; ZHAO S. *et al.* Nanofibrous scaffolds for biomedical applications. **Nanoscale.** v.10, n. 26, p: 12228-55, 2018.
- TATEBAYASHI K.; TANAKA Y.; NAKANO-DOI A. *et al.* Identification of multipotent stem cells in human brain tissue following stroke. **Stem Cells Dev.** v.26, n.11, p: 787-97, 2017.
- TELLES C.; SILVA A.D.; WILTGEN A. *et al.* Isolation and characterization of dental pulp stem cells from permanent third molars. **Stomatol.** v.22, n.42, p: 32-41, 2016.
- UDOMLUCK N.; KOH W.G.; LIM D.J. *et al.* Recent Developments in Nanofiber Fabrication and Modification for Bone Tissue Engineering. **Int J Mol Sci.** v.2, n.1, p: 99, 2019.
- VIEIRA N.M.; BRANDALISE V.; ZUCCONI E. *et al.* Isolation, characterization, and differentiation potential of canine adipose-derived stem cells. **Cell Transplant.** v.19, n.3, p: 279-89, 2010.
- WU R.X.; XU X.Y.; WANG J. *et al.* Biomaterials for endogenous regenerative medicine: coaxing stem cell homing and beyond. **Applied Materials Today.** v.11, p: 144-65, 2018.
- YANG X.; YANG F.; WALBOOMERS X.F. *et al.* The performance of dental pulp stem cells on nanofibrous PCL/gelatin/nHA scaffolds. **J Biomed Mater Res A.** v.93, n.1, p: 247-57, 2010.
- ZANETTI A.S.; SABLIOV C.; GIMBLE J.M. *et al.* Human adipose-derived stem cells and three-dimensional scaffold constructs: a review of the biomaterials and models currently used for bone regeneration. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater.** v.101, n.1, p: 187- 99, 2013.
- ZAMPRONI L.N.; GRINET M.A.V.M.; MUNDIM M.T.V.V. *et al.* Rotary jet-spun porous microfibers as scaffolds for stem cells delivery to central nervous system injury. **Nanomedicine.** v.15, n.1, p: 98-107, 2019.

ZUK P.A.; ZHU M.; MIZUNO H. *et al.* *Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies.* **Tissue Eng.** v.7, n.2, p: 211-28, 2001.