


O PAPEL DAS CÉLULAS MESENQUIMAIS INDIFERENCIADAS NA REGENERAÇÃO PERIODONTAL - UMA REVISÃO DE LITERATURA

The role of undifferentiated mesenchymal cells in periodontal regeneration -
A Literature Review

Access this article online	
Quick Response Code:	Website: https://periodicos.uff.br/ijosd/article/view/66818
	

Autores:**Filipe Rebeque da Silva**

Graduando em Odontologia, Universidade Salgado de Oliveira, Rio de Janeiro, Brasil

ORCID 0000-0002-8765-9515

filiperebeque@terra.com.br

Luisa Aguirre Buexm

Doutora em Oncologia pelo Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA)

Professora da Faculdade de Medicina de Campos (FMC)

ORCID 0000-0003-4065-954X

labuexm@gmail.com

Juliana Santos Bittencourt Menegat

Doutora em Odontologia pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ)

ORCID 0000-0001-9201-3965

jmenegat@hotmail.com

José de Assis Silva Júnior

Doutor em Patologia pela Universidade Federal Fluminense (UFF)

Professor da Faculdade de Medicina de Campos (FMC) e do Curso de Odontologia do Centro Universitário Fluminense (UNIFLU)

ORCID 0000-0002-6725-6073

falecomassissjunior@yahoo.com.br

Instituição na qual o trabalho foi realizado: Universidade Salgado de Oliveira (UNIVERSO)

Endereço para correspondência: José de Assis Silva Júnior. Av. Alberto Torres, 217 Centro Campos dos Goytacazes – RJ. Telefones (22) 382223-81 (22) 997832638

E-mail para correspondência: falecomassissjunior@yahoo.com.br

RESUMO

As patologias periodontais são descritas como uma das doenças de boca mais comuns na população mundial. As doenças periodontais compreendem uma ampla gama de condições inflamatórias que afetam as estruturas de suporte dos dentes (gengiva, osso e ligamento periodontal), que podem levar à perda do dente e contribuir para a inflamação sistêmica. O controle das injúrias dessas estruturas é alcançado através de terapias básicas, que resultam no reparo dos tecidos orais, mas não na sua regeneração. Tal fato, conduziu o interesse pelo surgimento da terapia periodontal regenerativa, cuja finalidade é restaurar a fisiologia dos dentes através da reconstrução dos tecidos de suporte e de proteção. Neste contexto, surgem as células tronco mesenquimais indiferenciadas, que possuem função de proliferação e diferenciação tecidual. Todavia, os desafios da odontologia regenerativa residem na capacidade de induzir a regeneração de um aparelho complexo, composto por tecidos distintos. Dessa forma, o presente estudo tem como objetivo, avaliar o potencial das células mesenquimais indiferenciadas na regeneração dos tecidos periodontais, através de uma revisão de literatura. Tendo ciência de que a terapia regenerativa é uma técnica promissora, se faz necessário a realização de estudos para uma melhor compreensão, avaliação de eficácia e posterior implementação clínica.

Palavras-chave: Regeneração; Periodonto; Células tronco.

ABSTRACT

Periodontal pathologies are described as the most common oral diseases in the world population. Periodontal diseases comprise a wide range of inflammatory conditions that affect the supporting structures of the teeth (the gingiva, bone and periodontal ligament), which could lead to tooth loss and contribute to systemic inflammation. The control of injuries is achieved through basics therapies, which result in the later repair of oral tissues, but not in their regeneration. This fact, led to interest in the emergence of periodontal regenerative therapy, whose purpose is to restore the physiology of teeth through the reconstruction of support and protection tissues. In this context, undifferentiated mesenchymal stem cells appear which have a tissue proliferation and differentiation function. However, the challenges of regenerative dentistry reside in the ability to induce the regeneration of a complex device, consisting of different tissues. Thus, the present study aims to evaluate the potential of undifferentiated mesenchymal cells in the regeneration of periodontal tissues, through a literature review. Considering that periodontal regeneration is a promising challenge for dentists, it

is necessary perform more longitudinal studies for the comprehension and clinical applicability of the regenerative treatment.

Keywords: Regeneration; Periodontal; Stem cells.

INTRODUÇÃO

A engenharia tecidual é um campo em desenvolvimento com a finalidade de orientar a formação, reparo e vascularização dos tecidos por meio de entidades biológicas e físicas, tendo como seu principal alicerce a utilização das células mesenquimais indiferenciadas, que foram identificadas pela primeira vez em material obtido da medula óssea adulta, com a capacidade de sofrer vasta proliferação e diferenciação em várias linhagens celulares. (MATTIOLI-BELMONTE et al., 2015; PONNAIYAN, 2014)

A medula óssea é a fonte mais utilizada de células mesenquimais indiferenciadas, porém apresenta inconvenientes em sua aquisição, como dor, trauma de aspiração invasiva e baixa obtenção do número de células. Dessa forma, torna-se necessário buscar uma fonte em tecidos mais acessíveis e com menor trauma cirúrgico, no qual os meios subsequentes de obtenção se concentram nos tecidos dentais. (PONNAIYAN, 2014; ZHU & LIANG, 2015)

Melcher et al. (1985) apresentaram o conceito de que as células mesenquimais podem estar presentes no ligamento periodontal, desencadeando um interesse crescente nas células tronco derivadas dos tecidos dentais. Em 2000, Gronthos foi o primeiro a isolar com sucesso as células tronco da polpa dental humana, sendo consideradas células estaminais multipotentes. Seo *et al.* (2004) isolaram células mesenquimais do ligamento periodontal de terceiros molares impactados, no qual essas células podem se diferenciar em ligamentos periodontais, osso alveolar, cimento, nervos periféricos e vasos sanguíneos.

Vários tipos de células mesenquimais indiferenciadas foram isoladas dos tecidos dentais, que incluem a polpa dentária, ligamento periodontal, folículo dentário, parte apical da papila, tecido gengival, esfoliação de dentes decíduos e periosteio (THOMAS et al., 2015; KHOSHHAHAL et al., 2017), sendo o uso da terapia baseada em células um dos métodos mais avançados para melhorar a resposta regenerativa em defeitos teciduais ocasionados por injúrias infecciosas e traumáticas. (MATTIOLI-BELMONTE et al., 2015)

A periodontite é uma doença inflamatória crônica e destrutiva em que o microrganismo provoca uma destruição tecidual primária e estimula o sistema

imunológico. E como meio de defesa, este sistema tenta combater e isolar o microrganismo, causando a exacerbação da destruição do periodonto de sustentação, migração apical do epitélio funcional e formação de bolsa periodontal. (KHURANA et al., 2017)

Atualmente, a periodontite é a principal causa de perda dentária. Sendo evidente a gravidade da doença e seu impacto na saúde geral da população mundial, despertando interesse crescente nos tratamentos com a finalidade de melhorar a qualidade de vida do paciente. O dentista tem como objetivo o tratamento periodontal, a regeneração do tecido perdido, restaurando a função dos dentes. Entretanto, o objetivo somente é alcançado com o reparo tecidual, através da remoção do fator etiológico e das terapias básicas de suporte. (ZHU & LIANG, 2015; CHEN et al., 2015)

Nesse sentido, a engenharia tecidual fornece informações importantes sob a forma em que o reparo pode ser restabelecido. O termo engenharia tecidual é utilizado amplamente para uma série de técnicas em que o tecido perdido pode ser restaurado. (MATTIOLI-BELMONTE et al., 2015; DUAN et al., 2018)

Todavia, os desafios da odontologia regenerativa residem na capacidade de induzir a regeneração de um aparelho complexo composto de tecidos distintos, sendo necessário o estabelecimento dos princípios básicos da engenharia tecidual, que necessita de biocompatibilidade, biodegradabilidade, boa osteoindução e osteocondutividade, dos sinais de diferenciação de crescimento e das células-tronco. (CHALISSERY et al., 2017; LAXMAN & DESAI, 2017)

Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo, avaliar o potencial das células mesenquimais indiferenciadas na regeneração dos tecidos de suporte e de proteção e sua aplicabilidade na odontologia, através de uma revisão narrativa da literatura.

METODOLOGIA

Foi realizado um levantamento bibliográfico de artigos publicados em periódicos através do banco de dados eletrônico Pubmed (www.ncbi.nlm.nih.gov), utilizando os seguintes descritores em diferentes combinações: “Regeneration”, “Periodontal” e “Stem cells”. Para a inclusão do artigo nesta revisão foram utilizados os seguintes critérios de elegibilidade: estudos originais, relatos de casos, estudos retrospectivos, revisões de literatura, estudos do tipo caso-controle e apenas artigos escritos na língua inglesa.

Em uma busca não refinada, foi recuperado neste período um total de 1.668 referências bibliográficas. Os artigos foram selecionados inicialmente pelo título e análise do resumo. Após esta etapa, os artigos foram lidos em sua totalidade para confirmação dos critérios de elegibilidade ao estudo. Do total, 23 artigos foram selecionados para a confecção do presente artigo.

REVISÃO DE LITERATURA

As células tronco são consideradas componentes que participam da homeostase tecidual, permitindo a manutenção e a constância ao longo da vida da forma e da função dos órgãos.¹⁴ Podem ser definidas como células clonogênicas, sendo capazes de auto renovação e diferenciação de múltiplas linhagens celulares através de condições apropriadas. (THOMAS et al., 2015; PÉREZ et al., 2018)

Conforme a sua origem e potencial de diferenciação e multiplicação, as células tronco podem ser classificadas amplamente em distintas categorias: células tronco embrionárias, células tronco adultas (somáticas ou pós-natais) e células tronco pluripotentes induzidas. (THOMAS et al., 2015; HAN et al., 2014)

As células tronco embrionárias são provenientes da massa celular interna de um blastócito originados durante a embriogênese, antes da implantação na parede uterina. São células pluripotentes, tornando-as capazes de dar origem a células de todas as camadas germinais (endoderma, mesoderma e ectoderma). No entanto, sua utilização clínica é vedada por questões éticas. (THOMAS et al., 2015; PÉREZ et al., 2018)

As células tronco adultas são células multipotentes e encontradas em diversos tecidos. Elas podem ser classificadas em dois tipos: células tronco hematopoiéticas (CTH) ou mesenquimais (CTM). As CTH são obtidas no cordão umbilical e na medula óssea, tendo sua aquisição mais complexa e traumática para o indivíduo enquanto as CTM podem ser obtidas de diversos tecidos. (MATTIOLI-BELMONTE et al., 2015; CHALISSERY et al., 2017)

As CTM constituem um dos tipos mais promissores de células tronco, pela maior facilidade de aquisição e menor incômodo ao paciente. Elas podem ser encontradas nos tecidos dentários, que incluem a polpa dental, dentes decíduos esfoliados, ligamento periodontal, folículo dental, papila apical, ligamento periodontal de dentes decíduos, células tronco de tecido gengival e osso alveolar. (MATTIOLI-BELMONTE et al., 2015)

Estas células apresentam características essenciais, como vasta capacidade de proliferação *in vitro* e *in vivo* diferenciação em diversos tipos celulares, migração para alcançar tecidos danificados e propriedades imunomoduladoras. (PÉREZ et al., 2018).

As células tronco pluripotentes induzidas (iPS) demonstram funcionalidade semelhante às células tronco embrionárias, sendo comparadas em sua morfologia, perfis de expressão gênica e capacidade de proliferação e diferenciação. No entanto, as manipulações genéticas para o desenvolvimento das iPS ocasionam alterações em suas características de desenvolvimento e crescimento, tornando inviável a previsibilidade do tratamento. (HAN et al., 2014)

Dessa forma, para que a regeneração periodontal ocorra de forma satisfatória, é necessária a ocorrência ordenada de eventos fisiológicos de cura. Nos quais as células progenitoras adequadas necessitam migrar para o local da injúria e anexar-se a superfície da raiz, com propósito de que haja a proliferação e maturação dos componentes teciduais do periodonto. (MATTIOLI-BELMONTE et al., 2015; HAN et al., 2014)

Todavia, a proliferação, migração e maturação das células dependem da disponibilidade de fatores de crescimento apropriados, contato com a matriz extracelular para o controle da expressão gênica e material de andaime adequado, apresentando boa biocompatibilidade e biodegradabilidade. (DUAN et al., 2018; HAN et al., 2014)

Os fatores de crescimento mais utilizados são o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) e fator de crescimento semelhante a insulina I (IGF-I), que em estudos demonstram aumento na regeneração periodontal, como também as proteínas morfogenéticas ósseas (BMPs) demonstraram potencial para a regeneração óssea e do cemento. O Emdogain® é composto por uma mistura de matriz de esmalte e fatores de crescimento como o fator de crescimento transformante- β (TGF- β) e BMP, que forma uma matriz extracelular e estimula a proliferação e regeneração tecidual. (CHEN et al., 2015; HAN et al., 2014)

A matriz extracelular desempenha papéis regulatórios e estruturais, no que lhe concerne a engenharia tecidual está intimamente relacionada a interação célula-matriz. Constitui um microambiente favorável para que todas as células sejam cercadas e anexadas a uma matriz pericelular dinâmica, que apresente satisfatório potencial regulatório. Assim, é importante a identificação de sinais mecânicos fornecidos pela matriz na regulação da diferenciação celular, ativando fatores de crescimento, como o TGF- β e a modulação de gradientes morfogênicos. (HUBMACHER & APTE, 2013)

O material de andaime requer a capacidade de se submeter a diversos processos celulares, como a colonização, migração, crescimento e diferenciação celular. Para tal, se faz necessária a capacidade de realizar adequada osteoindução e osteocondutividade, com a finalidade de promover a adesão e a proliferação celular. O uso clínico bem-sucedido requer a capacidade de amparar e estimular desde o início ao desenvolvimento do crescimento intratecidual e o remodelamento e a maturação subsequente. Dessa forma, estudos atuais sugerem que a fibrina rica em plaquetas (PRF) pode ser considerada o material de andaime ideal para expressiva regeneração tecidual. (DUAN et al., 2018; HAN et al., 2014)

Menicanin et al. (2014) avaliaram a capacidade de sobrevivência a longo prazo e o papel potencial das células tronco derivadas do ligamento periodontal com a utilização de andaimes Gelfoam® (esponja hemostática de gelatina estéril absorvível, insolúvel em água, feito a partir de gelatina de pele de porco purificada) na regeneração tecidual em defeitos periodontais em ovinos. A avaliação histológica após oito semanas demonstrou a regeneração de estruturas periodontais, entretanto, os defeitos tratados com andaime Gelfoam® exibiram uma formação menos organizada de feixes de colágeno decorrentes das fibras de Sharpey.

No estudo realizado por Duan et al. (2018) foi avaliado a capacidade de regeneração do tecido periodontal em ratos através da utilização de células tronco derivadas do ligamento periodontal; o material de andaime eleito foi a PRF. Verificou-se uma nova formação óssea satisfatória e regeneração do cemento e das fibras do ligamento periodontal. No entanto, as fibras do ligamento periodontal foram regeneradas de forma desordenada e não perpendicular à superfície da raiz.

DISCUSSÃO

De acordo com a literatura pesquisada foi possível constatar um número expressivo (n=1.668) de estudos envolvendo essa temática durante o período avaliado. Dos artigos selecionados. Todos os artigos revisados eram de instituições universitárias de ensino e pesquisa.

O tratamento baseado na utilização de células tronco consiste numa abordagem promissora através do transplante de células vivas para o reparo de tecidos perdidos que consequentemente comprometeram a funcionalidade de algum órgão. (CHALISSERY et al., 2017; PÉREZ et al., 2018)

Como sugerido por Giannoudis et al. (2007), além das estruturas tridimensionais, sinais mecânicos e/ou físicos, o tipo de célula, bem como fatores bioativos ambientais, é crítico para orientar a regeneração. Laxman (2017) afirma que tão somente os três principais princípios da engenharia de tecidos devem ser estabelecidos e seguidos, que são o andaime, sinais de diferenciação de crescimento e as células tronco.

O estudo de Dominic et al. (2016), afirma que de acordo com a *International Society for Cellular Therapy*, a identificação das células mesenquimais indiferenciadas é alcançada através da citometria de fluxo e submetidos a diferenciação em linhagens mesenquimais, visto que cada tipo celular apresenta marcadores específicos em sua superfície, obtendo a capacidade de se diferenciar em grupos celulares específicos. A rejeição imunológica é um risco eminente para o sucesso do tratamento regenerativo, de modo que a biossegurança é um ponto crucial para a terapia celular. (CHALISSERY et al., 2017).

Khoshhal et al. (2017), afirmaram que a idade dos doadores das células mesenquimais indiferenciada demonstra ser um fator que afeta as propriedades das células estaminais e suas capacidades regenerativas. Em seu trabalho foram realizados experimentos que demonstram a perda do potencial de proliferação e diferenciação em células tronco de indivíduos com o avanço da idade. Entretanto, Zhu & Liang (2015) demonstraram que a proliferação e diferenciação das células tronco de doadores idosos foram parcialmente restauradas após a exposição ao meio condutor de células mesenquimais indiferenciadas do ligamento periodontal de um doador jovem. Nesse sentido, o meio condutor de células mesenquimais indiferenciadas do ligamento periodontal de um doador idoso suprimiu a capacidade regenerativa das células tronco do doador jovem e inibiu a formação de estrutura de cimento e ligamento periodontal *in vivo*.

Outro aspecto que deve ser levado em consideração é a saúde do tecido em que as células são obtidas. Pesquisas recentes demonstraram que é viável isolar células mesenquimais indiferenciadas derivadas do ligamento periodontal inflamado e essas células têm evidenciado que é possível manter a capacidade de regenerar o cimento e os tecidos do ligamento periodontal. (ZHENG et al., 2015)

Zheng *et al.* (2015) relataram que o aumento das células estaminais no ligamento periodontal pode ser causado pelo recrutamento precoce e migração de células perivasculares. E que a capacidade clonogênica das células de indivíduos

afetados por periodontite foram maiores em comparação com doadores saudáveis, sendo explicado pelo fato das células estaminais derivadas do tecido afetado por periodontite apresentarem maiores propriedades mitóticas, em comparação as células derivadas de tecido saudável. Entretanto, a capacidade de diferenciação pluripotencial foi reduzida, constatando que os indivíduos afetados por periodontite têm sua habilidade de regenerar tecidos vivos prejudicada.

Na ausência dos componentes celulares adequados, o tratamento regenerativo será comprometido, ocasionando reparação tecidual. Na qual a disponibilidade de fatores de crescimento apropriados juntamente com o contato de matriz extracelular está diretamente relacionada ao sucesso da ocorrência dos eventos de proliferação, migração e maturação das células. (HAN et al., 2014)

A utilização de fatores de crescimento polipeptídeos bioativos à superfície da raiz demonstra eficácia a fim de facilitar a cascata de eventos de cicatrização. O PDGF e o fIGF-I ratificam a regulação da síntese de DNA e proteínas em células ósseas, promovendo a regeneração periodontal em cães da raça beagle e macacos. (HAN et al., 2014; LYNCH et al., 1991)

Entretanto, a eritropoietina é estabelecida como um importante fator de crescimento que gera o recrutamento das células mesenquimais e desenvolve a angiogênese. Em que a expressão de fator de crescimento endotelial vascular e a proteína morfogenética óssea através de estímulos gerados pela eritropoietina melhora a diferenciação das células tronco em células ósseas. (WANG et al., 2018) Corroborando com Kim *et al.* (2012) que afirmaram que a eritropoietina pode conduzir a diferenciação de células ósseas (osteoblastos e osteoclastos) através da natureza físico-química de sinalização da rapamicina quinase.

Dessa forma, observa-se que há diversos fatores que se relacionam diretamente com o sucesso do tratamento regenerativo. Sendo determinante a idade do paciente e a saúde do tecido periodontal. Não obstante, a importância da remoção dos fatores etiológicos é de suma importância para promover longevidade ao reestabelecimento funcional e estrutural do tecido.

CONCLUSÃO

A partir dos estudos analisados pode-se concluir que a regeneração tecidual completa dos tecidos periodontais lesionados decorrentes de traumas ou doenças, representa um grande desafio para o cirurgião-dentista, uma vez que o sucesso depende diretamente de muitos fatores que interagem com o

desenvolvimento periodontal e da compreensão dos mesmos. O tecido periodontal é uma estrutura complexa que compreende estrutura de suporte e de proteção, no qual a regeneração integral é resultante da produção simultânea de todas essas estruturas, sendo necessário a realização de mais estudos longitudinais sobre o processo de regeneração periodontal para a sua otimização e sua futura realização clínica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mattioli-Belmonte M. *et al.* Stem cell origin differently affects bone tissue engineering strategies. *Frontiers in Physiology*. 2015. v. 6.
2. Ponnaiyan D. Do dental stem cells depict distinct characteristics? – Establishing their “phenotypic fingerprint”. *Dental Research Journal*. 2014. 11(2)
3. Zhu L, Liang M. Periodontal ligament stem cells: current status, concerns, and future prospects. *Stem Cells International*. 2015.15.
4. Melcher A. Cells of periodontium: Their role in the healing of wounds. *Annals of the Royal College of Surgeons of England*. 1985. 67: 131-2
5. Gronthos S *et al.* Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *PNAS*. 2000. 97(25): 13625-30.
6. Seo BM, Miura M, Gronthos S, Bartold PM, *et al.* Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Lancet*. 2004. 304:149-55
7. Thomas V, Thomas N, John S, Ittycheria P. The scope of stem cells in periodontal regeneration. *Journal os Dentistry, Oral disorders e Therapy*. 2015. 3(2).
8. Khoshhal M, Amiri I, Gholami L. Comparison of in vitro properties of periodontal ligament stem cells derived from permanent ad deciduous teeth. *Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects*. 2017. 11(3).
9. Khurana R, Kudva P, Husain S. Comparative evaluation of the isolation and quantification of stem cells derived from dental pulp and periodontal ligamento of a permanent tooth and to assess their viability and



- proliferation on a platelet-rich fibrin scaffold. Indian Society of Periodontology. 2017. 21(1):16-20
10. Chen S, Ye X, Yu X, Xu Q, Pan Q, Lu S, Yang P. Co-culture with periodontal ligament stem cells enhanced osteoblastic differentiation of MC3T3-E1 cells and osteoclastic differentiation of RAW264.7 cells. Int J Clin Exp Pathol. 2015. 8(11).
 11. Duan X. et al. Study of platelet-rich fibrin combined with rat periodontal ligament stem cells in periodontal tissue regeneration. Journal of Cellular and Molecular Medicine. 2018. 22(2).
 12. Chalisery E, Nam S, Park S, Anil S. Therapeutic potential of dental stem cells. Journal of Tissue Engineering. 2017. 8.
 13. Laxman V, Desai R. Tooth for a tooth: Tissue engineering made easy at dental chairside. Journal of Indian Society of Periodontology. 2017. 21(2).
 14. Pérez L, Lucas B, Gálvez B. Unhealthy Stem Cells: When Health Conditions Upset Stem Cells Properties. Cellular Physiology and Biochemistry. 2018. 46:1999-2016.
 15. Han J, Menicanin D, Gronthos S, Bartold P. Stem cells, tissue engineering and periodontal regeneration. Australian Dental Journal. 2014. 59(1).
 16. Hubmacher D, Apte S. The biology of the extracellular matrix novel insights. Current Opinion in Rheumatology. 2013. 25(1):65-70.
 17. Menicanin D, Mrozik K, Wada N, Marino V, Shi S, Bartold M, Gronthos S. Periodontal-Ligament-Derived Stem Cells Exhibit the Capacity for Long-Term Survival, Self-Renewal, and Regeneration of Multiple tissue Types in Vivo. Stem cells and development. 2014. 23(9).
 18. Giannoudis P, Einhorn T, Marsh D. Fracture healing: the diamond concept. International Journal of the Care of the Injured. 2007.
 19. Dominic C, *et al.* Managing particulates in cell therapy: Guidance for Best practice. The Journal of Cell Therapy. 2016.
 20. Zheng W, Wang S, Wang J, Jin F. Periodontitis promotes the proliferation and suppresses the differentiation potential of human periodontal ligament stem cells. International Journal of Molecular medicine. 2015. 36:915-22.



21. Lynch S, Castilla G, Williams R, Kiritsy C, Howell T, Reddy M, Antoniades H. The Effects of Short-Term Application of a Combination of Platelet-Derived and Insulin-Like Growth Factors on Periodontal Wound Healing. *Journal of Periodontology*. 1991. 62(7):458-67.
22. Wang L, Wu F, Song Y, Duan Y, Jin Z. Erythropoietin induces the osteogenesis of periodontal mesenchymal stem cells from healthy and periodontitis sources via activation of the p38 MAPK pathway. *International Journal of Molecular Medicine*. 2018.41: 829-35.
23. Kim E, *et al.* Human mesenchymal stem cell differentiation to the osteogenic or adipogenic lineage is regulated by AMP-activated protein kinase. *Journal of Cellular physiology*. 2012. 227(4):1680-7