

## **LEVANTAMENTO DE DADOS REFERENTES AO ISOLAMENTO DE CÉLULAS TRONCO ORIUNDAS DA POLPA DENTAL**

**FERRÚA, Camila Perelló<sup>1</sup>; TARQUINIO, Sandra Beatriz Chaves<sup>1</sup>; NEDEL, Fernanda<sup>1, 2</sup>; DEMARCO, Flávio Fernando<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas.

<sup>2</sup> Centro de Desenvolvimento Tecnológico (CDTec), Universidade Federal de Pelotas.  
camila\_perello@hotmail.com

### **1 INTRODUÇÃO**

As células tronco têm contribuído no avanço dos estudos de engenharia tecidual e biologia celular. A partir desse conhecimento, foi possível melhorar a qualidade de vida de pessoas portadoras da doença de Alzheimer (Luciano Casa Grande 2011), melhorar a transparência de córneas de coelhos (Gomes 2010), atuar positivamente no tratamento ortopédico (Khan WS 2012), bem como possibilitar o reparo cicatricial na calvária de ratos (Seo 2008).

Cerca de uma década atrás houve um grande avanço na ciência quando um grupo de pesquisadores conseguiu isolar células tronco pulpares de dentes permanentes (DPSCs). Esse estudo revelou que DPSCs são capazes de produzir nódulos densamente calcificados. Quando as DPSCs foram comparadas com as células tronco mesenquimais de medula óssea (BMMSCs), mostraram uma maior capacidade proliferativa e uma maior frequência de células formadoras de colônias. (Gronthos, 2000) Além disso, DPSCs podem regenerar o complexo dentino pulpar e induzir a formação de tecido ósseo. (Miura 2003)

As DPSCs possuem propriedades como a plasticidade e multipotencialidade (Aquino 2008), as quais permitem que as células sejam associadas à scaffolds e à fatores de crescimento, formando o que chama-se de tríade da engenharia tecidual. Por intermédio desta tríade, vislumbra-se a possibilidade de tratar a perda de tecidos dentais como esmalte, dentina e polpa, assim como defeitos ósseos dento alveolares e craniofaciais (Nedel 2009). Não obstante, estudos apontam para a capacidade de regeneração orofacial em defeitos de tamanho crítico através da utilização de células tronco de dentes decíduos (SHEDs) em mini pigs (Zheng 2009); assim como o reparo de um defeito ósseo extenso em mandíbula humana, com a utilização de células indiferenciadas provenientes da medula óssea, resultando na satisfação do paciente com o resultado estético. (Warnk 2004)

Visto a relevância das células tronco pulpares para a engenharia tecidual e áreas afins, torna-se primordial o correto isolamento das mesmas. Assim este estudo tem por objetivo analisar os dados referentes ao isolamento de células tronco derivadas da polpa dental na literatura atual, no intuito de definir a melhor metodologia para a obtenção das mesmas.

### **2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)**

O presente estudo levantou dados relevantes para o isolamento de células tronco derivadas da polpa dental. Por conseguinte, essa pesquisa foi realizada tabelando dados a partir de artigos obtidos no National Library of Medicine National Institutes of Health (PubMed), utilizando os seguintes descritores: “pulp stem cells from exfoliated deciduous teeth” (SHEDs) e “dental pulp stem cell” (DPSC). Foram

encontrados 655 artigos, com intuito de fazer uma seleção mais apurada, utilizou-se como critérios de exclusão: artigos que não estivessem inteiramente disponíveis no PubMed, aqueles em que as células tronco não fossem de origem humana, revisão de literatura e artigos em que não estivesse descrito como foi feito o isolamento e caracterização das DPSCs e/ou SHEDs. Sendo assim, do total de 655 artigos encontrados, 54 artigos foram revisados.

Uma vez tendo tabelado os dados, fez-se comparações quanto aos aspectos semelhantes e discrepantes obtidos, descrevendo assim as técnicas mais prevalentes para realização de isolamento das DPSCs.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Analisando os resultados foi possível observar que entre os anos de 2000 e 2012, o maior número de publicações deu-se em 2010, com 18 artigos. Em 2007 e 2008 foram 14 artigos publicados, e entre 2000 e 2002 houve apenas 1 trabalho em cada ano. Acredita-se que o crescente número de pesquisas a partir de 2000 se deu pela publicação do artigo de Gronthos e colaboradores, onde este demonstrou o isolamento das DPSCs, e sua maior capacidade proliferativa e de formar colônias celulares quando comparada as BMMSCs. Em 2003, Miura e colaboradores também contribuíram com o aumento de estudos nessa área, quando descobriram a existência de células tronco em dentes decíduos exfoliados (SHEDs).

Hoje, tem-se conhecimento das diferenças entre dentes decíduos e permanentes, sabe-se da distinta capacidade proliferativa de cada tipo celular. DPSCs induzem melhor a formação de tecido ósseo e regeneram com mais sucesso o complexo dentino-pulpar em comparação com SHEDs. (Miura 2003) Acredita-se que em decorrência deste conhecimento prévio do seu comportamento, as DPSCs foram o tipo celular presente em 81% dos trabalhos, enquanto SHEDs estiveram presentes em 16% e IDPSCs (células tronco pulpares imaturas de dentes permanente) em apenas 3%.

O método mais prevalente na remoção da polpa da câmara pulpar foi o estabelecido inicialmente por Gronthos e colaboradores em 2000, onde foi preconizada a limpeza da superfície dental para a posterior secção na junção cimento-esmalte com broca estéril e então proceder-se a remoção da polpa. Após a remoção da polpa do seu nicho, existe a necessidade de dissociar as células umas das outras e da matriz extracelular. Assim, de todos os artigos selecionados 46 utilizaram a dissociação enzimática, apenas 1 fez uso da dissociação mecânica, 1 associou as técnicas anteriores, 5 aplicaram o método do explante e 2 não relataram a técnica utilizada. Dentre os 46 estudos que fizeram a digestão das células através de enzimas, 36 deles fizeram uso de 3mg/ml de colagenase tipo I e 4mg/ml de dispase.

Quanto ao meio de cultivo utilizado na manutenção das células tronco, quatro diferentes tipos foram mencionados, Mesencult, Mega Cell, Meio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) e alfa- Meio Mínimo Essencial de Eagle ( $\alpha$ -MEM), entre eles os mais prevalentes foram  $\alpha$ -MEM, citado em 57,4% do total de artigos, e DMEM com 31,48%. A maioria dos meios estava suplementado com Soro Fetal Bovino (SFB) (57,4%) e Soro Fetal Bovino (FCS – Fetal Calf Fetal Serum) (33,33%). Em poucos estudos não foi mencionado o tipo de soro utilizado para suplementar o meio de cultivo (9,25%). Apesar de o SFB ser o mais utilizado, Schucánek e seus colaboradores em 2009 realizaram um estudo extenso mostrando que o SFC nos

meios de cultivo associado a ITS (insulina, transferina e selenito de sódio) aumenta consideravelmente a atividade proliferativa de DPSCs.

#### 4 CONCLUSÃO

Concluindo o levantamento de dados demonstrou certa padronização dos métodos de isolamento de células tronco oriundas da polpa dental. No entanto o aprimoramento da técnica ainda se faz necessário no intuito de obter o máximo de células tronco pulpares de um único dente com o mínimo grau de diferenciação.

#### 5 REFERÊNCIAS

- AQUINO, Riccardo D'; ROSA, Alfredo De; LAINO, Gregorio; CARUSO, Filippo; GUIDA, Luigi; RULLO, Rosario; CHECCHI, Vittorio; LAINO, Luigi, TIRINO, Virginia; PAPACCIO Gianpaolo. Human Dental Pulp Stem Cells: From Biology to Clinical Applications. **Journal of experimental zoology (Mol Del Evol)**, 310B, p. 1 - 8, 2008.
- CASAGRANDE, Luciano. Aplicação de princípios de engenharia tecidual no estudo da diferenciação de células-tronco pulpares. 2008. Doutorado em clínica em odontológica odontopediatria – Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Faculdade de Odontologia, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Porto Alegre, junho de 2008.
- GOMES, José Álvaro Pereira; MONTEIRO, Bábyla Gerales; MELO, Gustavo Barreto; SMITH, Ricardo Luiz, SILVA, Marcelo Cavenaghi Pereira da; LIZIER, Nelson Foresto; KERKIS, Alexandre; CERRUTI, Humberto; KERKIS Irina. **Corneal Reconstruction with Tissue-Engineered Cell Sheets Composed of Human Immature Dental Pulp Stem Cells**. Investigative Ophthalmology & Visual Science. V. 51, n. 3, p. 1408 – 1412, 2010.
- GRONTHOS, S; MANKANI, M; BRAHIM, J; ROBEY, Gehron P; SHI, S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. **PNAS**, v. 97, n. 25, p.13625 –13630, 2000.
- KHAN, Wasim S.; LONGO, Umile Giuseppe; ADESIDA, Adetola; DENARO, Vincenzo. Stem Cell and Tissue Engineering Applications in Orthopaedics and Musculoskeletal Medicine. **Stem Cells International**. v. 2012, p. 1 – 2, 2012.
- MIURA, Masako; GRONTHOS, Stan; ZHAO, Mingrui; LU, Bai; FISHER, Larry W; ROBEY, Pamela Gehron; SHI Songtao. SHED: Stem cells from human exfoliated deciduous teeth. **PNAS**, v. 100, n.10, p. 5807–5812, 2013.
- NEDEL, Fernanda; ANDRÉ, Dárvi de Almeida; OLIVEIRA, Isabel Oliveira de; CORDEIRO, Mabel M.; CASAGRANDE, Luciano; TARQUINIO, Sandra Beatriz Chaves; NOR, Jacques Eduardo; DEMARCO, Flávio Fernando. Stem Cells: Therapeutic Potential in Dentistry. **The journal of contemporary dental practice**. V.10, n.4, p. 1 – 9, 2009.
- SEO, B M; SONOYAMA, W; YAMAZA, COPPE, T; KIKUIRI, C T; AKIYAMA, K; LEE, JS; SHI, S. SHED repair critical-size calvarial defects in mice. **Oral Dis**. 14(5) p. 428 – 434, 2008.
- SUCHÁNEK, Jakub; SOUKUPB, Tomás; VISEKB, Benjamín; IVANCAKOVAA, Romana; KUCEROVAC, Lenka; MOKRÝB, Jaroslav. Dental Pulp Stem Cells and their Characterization. **Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub**, 153(1): p. 31–36, 2009.

WARNKE, P. H.; SPRINGER, I. N. G.; WILTFANG, J.; ACIL, J.; EUFINGER, H.; WEHMÖLLER, M.; RUSSO, P. A. J.; BOLTE, H.; SHERRY, E.; BEHRENS E.; TERHEYDEN H. Growth and transplantation of a custom vascularised bone graft in a man. **Lancet**, 364: 7, v. 364, p. 66 – 70, 2004.

ZHENG, Y; LIU, Y; ZHANG, C.M.; LI, W.H.; SHI, S; LE, A.D.; WANG, S.L. Wang. Stem Cells from Deciduous Tooth Repair Mandibular Defect in Swine **J Dent Res** 88(3) p. 249 -254, 2009.