

REVISÃO SISTEMÁTICA SOBRE ISOLAMENTO E CULTIVO DE CÉLULAS TRONCO DE TECIDO PULPAR - LEVANTAMENTO E ANÁLISE DE DADOS PARCIAIS

LAÍSA CAMERINI DA ROSA¹; CAMILA PERELLÓ FERRÚA²; EDUARDA GERVINI ZAMPIERI CENTENO²; FLÁVIO FERNANDO DEMARCO²; FERNANDA NEDEL³

¹Universidade Federal de Pelotas – lcamerinidarosa@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – camila_perello@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – eduardacenteno@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – ffdemarco@gmail.com

³Universidade Católica de Pelotas – fernanda.nedel@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, as áreas de terapia celular, engenharia tecidual e biologia molecular vêm realizando estudos e pesquisas utilizando células tronco. Estas células possuem potencial em diferentes aplicações, o que tem permitido uma constante evolução na área da saúde. Segundo D'AQUINO *et al.* (2009) e NEDEL *et al.* (2009), as células tronco são comumente definidas como clonogênicas, as quais possuem capacidade de auto-renovação e diferenciação em múltiplas linhagens celulares.

Além disso, as células tronco podem ser classificadas de acordo com a sua origem, sendo estas adultas, embrionárias ou pluripotentes induzidas. Aquelas que têm sua origem no tecido pulpar, bem como as da medula óssea, (ITO *et al.*, 2011) pele, tecido nervoso, retina, pâncreas, intestino, são consideradas células tronco adultas (BONGSO *et al.*, 2005).

As células tronco mesenquimais têm sua origem na crista neural, e de acordo com GRONTHOS *et al.* (2002) possuem capacidade de migração e diferenciação, além de participarem da morfogênese dos tecidos ósseo, cartilaginoso, muscular, ligamentar, periodontal e dental, fazendo parte da formação de praticamente todas as estruturas craniofaciais. Na área odontológica, as células tronco podem ser obtidas a partir do tecido pulpar de dentes decíduos (MIURA *et al.*, 2003) e permanentes (GRONTHOS *et al.*, 2000), do ligamento periodontal (SEO *et al.*, 2004), da papila apical de dentes não totalmente desenvolvidos (SONOYAMA *et al.*, 2008) e do folículo dentário (MORSCZECK, *et al.*, 2005).

Estudos realizados por GRONTHOS *et al.* (2000) mostraram que as hDPSCs (células tronco pulpares de dentes permanentes humanos) apresentam *in vitro* uma frequência alta na formação de colônias, além de uma alta taxa de proliferação. Apesar da existência de diversas fontes, as hDPSCs vêm sendo isoladas a 15 anos (GRONTHOS *et al.*, 2000) mostrando-se com o passar dos anos vantajosas quando comparadas as células de outras fontes, visto que segundo MENDONÇA COSTA *et al.* (2008), elas podem ser obtidas através de um método de isolamento não invasivo e de rápida expansão *in vitro*.

Desse modo, o objetivo do presente estudo foi realizar uma revisão sistemática da literatura, a fim de analisar as metodologias de isolamento e dados relevantes acerca do cultivo de hDPSCs.

2. METODOLOGIA

Inicialmente, os artigos dessa revisão sistemática foram obtidos nas seguintes bases de dados: Scientific Electronic Library Online (Scielo), National Library of Medicine National Institutes of Health (PubMed), Scopus e Institute for Scientific Information (Isi). Os descritores utilizados individualmente foram: “dental pulp”, “stem cell”, “dental pulp AND stem cell” e “dental pulp stem cell”.

Através dessa busca, foram encontrados 3126 artigos. Com o intuito de fazer uma seleção mais apurada, utilizaram-se como critérios de exclusão: artigos em duplicata, artigos com células de origem animal, artigos com células não tronco ou de polpa, artigos não encontrados para leitura, capítulos de livros, editoriais, artigos de hipóteses, artigos que não estivessem escrito em inglês, artigos em que não estivesse descrita a metodologia de isolamento das DPSCs, além de notícias, patentes, resumos de congressos e artigos de revisão.

Sendo assim, do total de 3126 artigos encontrados, 227 artigos foram incluídos e tiveram seus dados tabelados e analisados.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o processo de isolamento das DPSCs, um aspecto bastante relevante é a presença ou ausência de informação sobre a idade do paciente doador. Nesse contexto, após a análise dos dados observou-se que 66,97% dos artigos mencionam a idade dos pacientes doadores, ao passo que 33,03% omitem essa informação. Dentes mais jovens, como os terceiros molares, últimos dentes a serem formados, podem ser interessantes haja vista que representam diferença quantitativa na proliferação celular, se comparadas com células tronco de origem medular (GRONTHOS *et al.*, 2000).

Outro aspecto, não menos relevante, é o tipo de dente utilizado para o isolamento das hDPSCs. Os terceiros molares são os dentes mais utilizados, e acredita-se que isso se deva à facilidade de obtenção dos mesmos, por motivos ortodônticos, doença periodontal e cárie (CHEN *et al.* 2012). Nossa análise dos dados revelou que 84,16% dos artigos mencionaram o tipo de dente, sendo que desses 46,15% eram terceiros molares. Pouco mais de 9% eram molares, contudo os artigos não descrevem qual dente molar seria, o que nos leva a crer que a quantidade de terceiros molares utilizados seja ainda maior.

GRONTHOS *et al.* (2000), introduziram o isolamento das DPSCs na comunidade científica no ano 2000 e desde então centenas de estudos vem sendo realizados com DPSCs. Acreditamos que esse estudo tenha servido de base para diversos grupos de pesquisa que investem nessa área e corroborado para a opção de escolha da técnica de isolamento celular. Conforme nossos achados, o método de dissociação enzimática é o mais utilizado, correspondendo 55,15% da totalidade de artigos revisados. Contudo, há autores que utilizam de outras metodologias, ainda que em números menos expressivos. Apenas 0,44% dos estudos analisado utilizaram unicamente a técnica mecânica e a associação das técnicas de isolamento por explante e dissociação enzimática. O segundo método de isolamento de hDPSCs mais preconizado, com 34,08% do total, é uma variação da técnica enzimática, em que há a associação de passos de dissociação mecânica. E por fim, 9,86% dos artigos promoveram isolamento de células tronco a partir da técnica de explante.

O meio de cultivo utilizado na manutenção das células tronco e a suplementação de soro no meio de cultivo são fatores muito relevantes, onde, segundo SUCHANEK (2009), além de diferentes meios de cultivos possuem

diferentes efeitos na proliferação, a suplementação com soro fetal é capaz de aumentar a atividade proliferativa das hDPSCs. Dessa forma, indubitavelmente, 98,15% dos artigos especificam o meio de cultivo utilizado para a manutenção celular.

4. CONCLUSÕES

Dessa forma, conclui-se que apesar de ser evidente o extenso número de estudos utilizando hDPSCs para diferentes fins, grandes desafios ainda precisam ser superados sobre o assunto. Dentre estes desafios, pode ser detectado um ponto bastante primordial: a carência de uma padronização das técnicas de isolamento e cultivo das hDPSCs.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BONGSO, A. *et al.*. Stem Cells: Their Definition, Classification and Sources. 2005. Acessado em 25 de Julho de 2015. Online. Disponível em: <http://www.worldscibooks.com/lifesci/5729.html>

CHEN, B. *et al.*. The effects of human platelet lysate on dental pulp stem cells derived from impacted human third molars. **Biomaterials**. v. 33, p. 5023 - 5035, 2012.

D'AQUINO, R. *et al.*. Human dental pulp stem cells: from biology to clinical applications. **Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution**. v.312B, n.5, p.408-15, 2009.

DE MENDONCA COSTA, A. *et al.*. Reconstruction of large cranial defects in nonimmunosuppressed experimental design with human dental pulp stem cells. **The Journal of Craniofacial Surgery**. v.19, n.1, p.204-10, 2008.

GRONTHOS, S. *et al.*. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. v.97, n.25, p.13625-30, 2000.

GRONTHOS, S. *et al.*. Stem cell properties of human dental pulp stem cells. **Journal of Dental Research**. v.81, n.8, p.531-5, 2002.

ITO, K. *et al.*. Osteogenic potential of effective bone engineering using dental pulp stem cells, bone marrow stem cells, and periosteal cells for osseointegration of dental implants. **The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants**. v.26, n.5, p.947-54, 2011.

MIURA, M. *et al.*. SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. v.100, n.10, p.5807-12, 2003.

MORSCZECK, C. *et al.*. Isolation of precursor cells (PCs) from human dental follicle of wisdom teeth. **Matrix Biology**. v. 24, n°. 2, p. 155-65, 2005.

NEDEL, F. *et al.*. Stem cells: therapeutic potential in dentistry. **The Journal of Contemporary Dental Practice**. v.10, n.4, p.90-6, 2009.

SEO, B. M. *et al.*. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. **The Lancet**. v.364, p.149-55, 2004.

SONOYAMA, W. *et al.*. Characterization of the apical papilla and its residing stem cells from human immature permanent teeth: a pilot study. **Journal of Endodontics**. v.34, n.2, p.166-71, 2008.

SUCHANEK, J. *et al.*. Dental pulp stem cells and their characterization. **Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacký, Olomouc, Czech Republic**. v.153, n.1, p.31-5, 2009.