

**CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO JOSÉ
CURSO DE ODONTOLOGIA**

LEILANE DE OLIVEIRA SANTOS; ALLAN DA SILVA GONÇALVES
PROFESSOR-ORIENTADOR: MICHELLE PAIVA WEYDT GALHARDI

CÉLULAS TRONCO EM DENTES DECÍDUOS

Rio de Janeiro

2019

CÉLULAS TRONCO EM DENTES DECÍDUOS

STEM CELLS IN DECIDUOUS TEETH

Leilane de Oliveira Santos; Allan da Silva Gonçalves

Graduação em Odontologia

Orientadora Michelle Paiva Weydt Galhardi

Mestrado em Ortodontia - UNOPAR

RESUMO

A polpa do dente contém uma população de células-tronco multipotentes, que possuem a capacidade de se diferenciar em várias linhagens celulares distintas, como odontoblastos e adipócitos. As células-tronco possuem origem mesenquimal, derivadas da crista neural. Dentes adultos demonstram alguns processos reparadores limitados, tais como formação de dentina reparadora, matriz mineralizada pobremente organizada. As células-tronco em dentes decíduos substitui a polpa do dente inflamada ou necrosada por um tecido saudável e funcional, capaz de formar dentina a fim de reparar a estrutura dentária perdida devido à cárie ou trauma. O presente estudo revisou na literatura sobre células-tronco em dentes decíduos. Foram utilizados artigos na língua portuguesa e inglesa completos da base de dados de revistas acadêmicas, trabalhos publicados, Scielo, Biblioteca Virtual de Saúde, em artigos publicados entre os anos de 2009 a 2019. Foram excluídos artigos incompletos e sem relevância com o assunto. Baseado no exposto, pode-se concluir que o tecido da polpa dentária é altamente eficiente, o local de coleta é de fácil acesso e sua extração é minimamente invasiva, sendo assim, uma alternativa simples e razoável quando comparada com células tronco de outras fontes.

Palavras-chave: Células-tronco, Dentes decíduos, Odontoblastos, Reparação de dentina.

ABSTRACT

The pulp of the tooth contains a population of multipotent stem cells, which possess the ability to differentiate into several distinct cell lines, such as odontoblasts and adipocytes. Stem cells have mesenchymal origin, derived from the neural crest. Adult teeth demonstrate some limited repairer processes, such as repairing dentin formation, poorly organized mineralized matrix. Stem cells in deciduous teeth replace the pulp of the inflamed or necrosed tooth with a healthy and functional tissue, capable of forming dentin in order to repair the lost dental structure due to caries or trauma. The present study reviewed the literature on stem cells in deciduous teeth. Articles were used in the

Portuguese and English language of the database of academic journals, published papers, Scielo, Virtual Health Library, in articles published between the years 2009 to 2019. Incomplete articles with no relevance to the subject were excluded. Based on the above, it can be concluded that dental pulp tissue is highly efficient, the collection site is easily accessible and its extraction is minimally invasive, thus being a simple and reasonable alternative when compared with stem cells from other sources.

Keywords: Stem cells, Deciduous teeth, Odontoblasts, Dentin repair.

INTRODUÇÃO

A Medicina Regenerativa (MR) utiliza células-tronco para restaurar a perda funcional de um órgão e se tornou possível pelo entendimento sobre o desenvolvimento embrionário, a biologia das células-tronco e a tecnologia da engenharia tecidual, pois células-tronco (CT) são células capazes de se dividir, originando uma célula com características idênticas as suas e outra com virtual capacidade de gerar diferentes tipos de tecidos (GIORDANO et al., 2011; EITELVEN et al., 2017).

Existem diversas oportunidades de obter CT em diferentes estágios da vida, mas o melhor momento seria na infância, período da dentição decídua, em cuja época, as células se mostram mais fortes, saudáveis e proliferativas. Estudos recentes mostram que dentes humanos decíduos esfoliados (SHED) se desenvolvem em maior variedade de tecidos do que outras CT dentárias, como as obtidas de sisos e dentes permanentes extraídos por indicação ortodôntica (ARORA et al., 2009).

Nova linhagem de pesquisa com células-tronco, a partir de células de origem dental vem mostrando-se bastante eficaz, dando expectativas promissoras, especialmente para área de tratamentos odontológicos, bem como, em terapias para doenças que acometem os demais órgãos e tecidos do corpo humano. Essas células são obtidas a partir do tecido periodontal e ligamento periodontal (VASCONCELOS et al., 2011). Até agora, cinco tipos dessas células foram identificadas: células-tronco da polpa de dentes permanentes (DPSC), células-tronco de dentes decíduos esfoliados (SHED), células-tronco da papila apical (SCAP), células-tronco do ligamento periodontal (PDLSC), e células progenitoras do folículo dental (DFPC) (PETROVIC; STEFANOVIC, 2009).

Estes órgãos apresentam no tecido pulpar e estruturas adjacentes características fundamentais como, multidiferenciação e capacidade de autoduplicação, além de facilidade de acesso e obtenção. Contudo, uma das grandes limitações encontradas para a efetivação do uso de células-tronco dentárias no Brasil é a organização dos Bancos de Dentes Humanos (BDH) e Biobancos e a carência de padronização de procedimentos brasileiros para coleta e manipulação de dentes fontes (MACHADO; GARRIDO, 2014).

O presente estudo revisou na literatura sobre células-tronco em dentes decíduos. Foram utilizados artigos na língua portuguesa e inglesa completos da base de dados de revistas acadêmicas, trabalhos publicados, Scielo, Biblioteca Virtual de Saúde, em artigos publicados entre os anos de 2007 a 2019. Foram excluídos artigos incompletos e sem relevância com o assunto.

O objetivo do trabalho foi abordar sobre células-tronco obtidas de dentes decíduos, sua utilização, armazenamento e quais doenças são beneficiadas com sua aplicação.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

As células-tronco são encontradas em diversos locais do corpo humano e podem se diferenciar em linhagens específicas. São células com uma vitalidade indiscutível, que podem salvar vidas, uma vez que inúmeras patologias podem comprometer o funcionamento fisiológico corporal, levando a uma grande demanda de tratamento para a cura de doenças, reversão de traumas ou reconstrução de membros (FEQUES et al., 2014).

A principal fonte de células-tronco é a medula óssea. Estas células têm a capacidade de se diferenciarem em células dos tecidos ósseo, adiposo, cartilaginoso e muscular, o que demonstra sua alta capacidade de replicação e diferenciação, atuando no reparo e homeostase em vários tecidos do corpo como na regeneração de tecidos ósseos. São capazes de se diferenciar em vários tipos celulares, mas não em todas as células do organismo (TAUMATURGO et al., 2016).

A polpa dental adulta contém uma mistura de células, e entre elas estão: os fibroblastos (as células mais numerosas da polpa dentária); células de defesa

(macrófagos, linfócitos e células dendríticas); células neurais; células vasculares e perivasculares; e células mesenquimais indiferenciadas (NAKASHIMA, IOHARA, SUGIYAMA, 2009). Essa população de células foi primeiramente isolada na década de 1990 (STANISLAWSKI et al, 1997), mas somente na década seguinte, foi possível comprovar a existência de células-tronco na polpa dentária, quando Gronthos et al. (2000) isolaram células da polpa de dente humano, retiradas do terceiro molar, e que comparadas com as células-tronco da medula óssea, apresentaram heterogeneidade, multipotencialidade, capacidade de proliferação e de formação de colônias *in vitro* (MIURA et al., 2003).

Gronthos et al. (2000) constataram que células-tronco além de serem multipotentes e possuírem a capacidade de auto-renovação e de diferenciação em diversos tipos celulares, possuem uma conversão fenotípica, através da expressão de proteínas adiposas (PPAR 2, sigla do inglês *peroxisome proliferator activated receptor 2*, e a lipoproteína lipase), após o estímulo por um meio de cultura com alto potencial indutivo adipogênico. Ademais, as células-tronco da polpa dentária expressaram nestina e proteína glial fibrilar ácida (GFAP, sigla do inglês *glial fibrillar acid protein*), que são marcadores de precursores neurais e células gliais, respectivamente.

Recentemente observou-se que a polpa do dente contém uma população de células-tronco multipotentes, que possuem a capacidade de se diferenciar em várias linhagens celulares distintas *in vitro*, como odontoblastos e adipócitos (KERKIS et al., 2007). Essas células expressam marcadores de células neurais e células gliais, por ser de origem mesenquimal (THOMAS et al., 2008).

As vantagens de se trabalhar com células-tronco extraídas de dentes se dá 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 (BANSAL; JAIN, 2015), e pelo fato de não serem órgãos vitais, que normalmente são descartados após a esfoliação, provêm um atrativo para testes de segurança e viabilidade terapêutica, porém o cirurgião dentista necessita ter cuidados de manipulação inerentes à técnica de cultivo de células, fazendo necessária a observação de critérios tais como a ausência de lesões cariosas extensas nas

unidades dentárias selecionadas, controle da cadeia asséptica durante o procedimento cirúrgico, além de evitar que a polpa da unidade retirada entre em contato com os fluidos bucais (AAPD, 2008).

Segundo Nombela-Arrieta et al. (2011), em todos os locais da cavidade oral pode-se encontrar células-tronco de caráter multipotente, que vão desde a polpa até o ligamento periodontal, capazes de gerar diferentes tipos celulares. Já as células-tronco mesenquimais, podem se diferenciar em adipócitos, condrócitos e osteoblastos, de acordo com o estímulo indutivo. A polpa de dentes decíduos não esfoliados possui células-tronco parecidas às encontradas no cordão umbilical, com maior porcentagem de proliferação, se comparadas àquelas isoladas da polpa de dentes permanentes.

As células-tronco dos dentes decíduos aparecem por volta da sexta semana do desenvolvimento do embrião, e se comportam de forma diferente das demais células adultas. Elas têm um processo de proliferação mais rápido que o normal, que lhe caracteriza como uma célula menos madura, ou seja, com um maior potencial de diferenciação (ALMEIDA JUNIOR; BARBOSA, 2015).

As células encontradas na região do ápice dentário durante a rizogênese também têm sido alvo de estudos que tentam descobrir qual o potencial de diferenciação que essas células possuem, pois quando a polpa de um dente com rizogênese incompleta é extirpada, existem casos em que a rizogênese ainda consegue ser completada, devido a atividade dessas células (SONOYAMA et al., 2008).

Para se isolar uma população de células-tronco em polpas dentárias utiliza-se quatro técnicas: a primeira é a marcação das células com anticorpos específicos, para tal, se utiliza citômetro de fluxo no processo de separação celular por anticorpo fluorescente; a segunda é a seleção imunomagnética; a terceira é a marcação imunohistoquímica e a quarta é a avaliação histológica e fisiológica, que inclui o fenótipo, a quimiotaxia, a proliferação, a diferenciação e a atividade mineralizante (NASCIMENTO; GALVÃO, 2019).

Há pesquisas realizadas a partir da coleta e cultura de células-tronco oriundas da polpa de dentes decíduos, por se tratar de dentes hígidos e estarem na fase de esfoliação. Jesus et al. (2011), realizaram a pesquisa em duas fases: a cirurgia foi feita (com intervalo de 15 dias), houve minuciosa assepsia pré-operatória, assim como, ao

retirar os elementos dentários, procuraram não demorar e ter o mínimo contato com a saliva, assim, os colocando em individuais embalagens já com o meio de cultura, para assim encaminhar ao laboratório com o intuito de isolar as células. Os autores descreveram que o tecido pulpar foi acessado primeiramente por meio de discos diamantados (baixa rotação e com irrigação), e retirado com cureta e limas endodônticas. Contudo, para que haja a possibilidade de uma nova formação de tecido, é essencial um arcabouço e, posteriormente, transformar-se em um novo tecido e, se o tecido pulpar for de origem sintética, deverá ser biocompatível e permitir o transporte de nutrientes, resíduos metabólicos e oxigênio.

Segundo Arora et al. (2009), são considerados dentes viáveis para obtenção de CT aqueles que têm polpa vermelha. Se o dente estiver acinzentado é sinal de polpa necrosada. Dentes que apresentam abscessos periapicais, cistos e tumores, assim como, que apresentem mobilidade acentuada oriundos de traumas ou doenças, não são candidatos ao armazenamento. A coleta e preservação de dentes pode ser feita pelos Bancos de Dentes Humanos (BDH) e pelos Biobancos ou Biorrepositórios. Os autores completam que os biobancos de células-tronco de dentes decíduos esfoliados apresentam diversas vantagens: garantia de doador compatível, já que se trata de transplante autólogo, conseqüentemente sem rejeição tecidual, além da redução de riscos de doenças; as células são obtidas antes do aparecimento de danos naturais; procedimento mais simples e menos doloroso para pais e filhos; em torno de 1/3 mais barato que o congelamento de cordões umbilicais; não perpassam pelos dilemas éticos que circundam a obtenção de células-tronco adultas; podem regenerar células de diferentes tecidos; são possíveis de doação para parentes próximos do doador. Seguem informações pertinentes sobre o assunto na figura 1.



Fonte: ARORA et al. (2009).

Além do manuseio tipicamente cuidadoso das técnicas de cultura celular, é necessário observar critérios como ausência de lesões cariosas extensas nos dentes selecionados, controle da cadeia asséptica durante o procedimento cirúrgico, e evitar que a polpa dos dentes tenha contato com os fluidos orais. Os dentes selecionados devem estar em um estágio avançado de reabsorção radicular, mas com epitélio juncional intacto para evitar a contaminação prévia do tecido pulpar (BANSAL; JAIN, 2015).

Para realizar o procedimento de coleta é necessária uma atenção rigorosa quanto à assepsia extra e intrabucal em decorrência da grande quantidade de microrganismos neste meio (JESUS et al., 2011). O dente do qual serão coletadas as células-tronco é extraído e imerso em um frasco com solução salina hipotônica tamponada com fosfato. O dente é então selado e armazenado em uma frasqueira térmica e colocado em um recipiente de metal isolado onde será transportado. A frasqueira térmica e o recipiente de metal mantem a amostra num estado hipotérmico durante o transporte. O tempo entre coleta e chegada do material ao laboratório para

armazenamento não deve exceder 40 horas (BANSAL; JAIN, 2015; GARCIA; ROQUE; SILVA, 2017).

De acordo com o estudo de Bansal; Jain (2015), o armazenamento das células-tronco pode ser feito de duas maneiras. A primeira é a criopreservação, onde as células ou um tecido inteiro é preservado em temperaturas abaixo de zero (-150 ° C) em vapor de nitrogênio líquido. Outra maneira também já existente é o congelamento magnético, uma tecnologia conhecida como sistema vivo de células (abreviatura em inglês: CAS), que atua de acordo com o princípio de aplicação de um campo magnético vulnerável à água ou ao tecido celular o qual diminuirá o ponto de congelamento desse corpo em até 7° C. A universidade que apresentou esse método (Universidade de Hiroshima) afirma que a taxa de sobrevivência celular seria maior, teria menor custo e um resultado mais confiável se comparado com a criogenia.

Papaccio et al. (2006) realizaram um estudo no qual analisaram o efeito da criopreservação a longo prazo de células-tronco da polpa dentária e de seus derivados osteoblásticos. Essa é uma importante constatação para averiguar o potencial dessas células para o armazenamento em longo prazo e para posterior utilização em terapias clínicas. Os autores observaram que o tecido ósseo foi rapidamente remodelado e osteócitos foram encontrados dentro das lamelas, demonstrando assim que as amostras de osso obtidas in vitro, a partir de células criopreservadas, podem ser utilizadas para transplantes in vivo. Os autores então concluíram que as células-tronco pulpares podem ser recuperadas com segurança após a criopreservação de longo prazo. Estas células rapidamente recomeçam a proliferar, mostrando altas taxas de multiplicação, correta expressão dos antígenos de superfície e produção adequada de tecido ósseo.

Com relação ao uso de CT na Odontologia, a pesquisadora, professora-doutora da disciplina de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (FOUSP) e da Faculdade de Odontologia do King's College, em Londres, Andrea Mantesso, explica que, didaticamente, pode-se dividir o uso de CT dentais em 03 grupos de aplicações principais: 1- Uso para restauração de perda parcial de tecido dental ou de suporte (Exemplo: repopulação da polpa, aumento da tábua óssea alveolar, tratamento de problemas periodontais e outros); 2- Uso para restauração de

perda total de dente (construção do dente em laboratório e depois transplantado); 3- Uso para formação de tecidos não dentais (FRANÇA, 2011).

Nos Estados Unidos, a Academia de Odontopediatria (*American Academy of Pediatric Dentistry*), reconhece o crescimento da área da medicina regenerativa e vem incentivando os dentistas a conscientizarem os pais de pacientes sobre a importância da estocagem dos dentes decíduos e molares permanentes inclusos como fontes de células-tronco adultas, desde que isto seja feito dentro dos princípios éticos e legais (AAPD, 2012). No Brasil, alguns biobancos, como o da FOU SP, Instituto Butantan e UFRJ, já aderiram às novas normatizações e trabalham em pesquisas na área.

No Brasil existe um protocolo de extração e manipulação de células-tronco. Na pesquisa de Souza (2008), o Centro Criogenia Brasil (CCB), o qual oferece parceria a cirurgiões dentistas interessados, consiste na obtenção do kit individual através do contato com o setor de relacionamento com o cliente do próprio CCB, nele o profissional recebe uma caixa projetada para o transporte seguro, com 2 gelox (gelo reutilizável rígido), um tubo contendo a solução de armazenamento para o material extraído, e um envelope com o documento de coleta. Os procedimentos dos dois protocolos exigem que o material coletado esteja higienizado e intacto (de preferência o dente não pode conter traumas, cáries). Os pacientes tiveram que manter seus dados atualizados durante o período da pesquisa, e principalmente, devem ter a documentação correta, exigida no caso dos materiais para o CCB, que oferecem o serviço do armazenamento para uso futuro do paciente e familiares (SOUZA,2008).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O tecido da polpa dentária é altamente eficiente, o local de coleta é de fácil acesso e sua extração é minimamente invasiva, podendo ser retiradas sem traumas e ainda na infância. Sendo assim, é uma alternativa simples e razoável quando comparada com células tronco de outras fontes, tornando ideal para reconstrução de tecidos.

Apesar de inúmeros avanços em pesquisas com células-tronco têm sido feitas até agora, o seu sucesso e aplicabilidade em ensaios clínicos continua a ser apurado. Pesquisas sólidas em ciências biológicas básicas sobre células-tronco devem ser realizadas antes que os cientistas saltem para os ensaios clínicos.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA JUNIOR, J.C.; BARBOSA, J.F. Células-tronco e Odontologia. **Rev Uningá Review**, v.21, n.1, p.40-43, 2015.

AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRIC DENTISTRY - AAPD. Policy on stem cell. **Reference Manual**; v.31, n.6, p.84, 2008.

AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRIC DENTISTRY - AAPD. **Policy on Stem Cells. Oral Health Policies**, 2012. Disponível em: http://www.aapd.org/media/Policies_Guidelines/P_StemCells.pdf. Acesso em: 26 out 2019.

ARORA, V.; ARORA, P.; MUNSHI, A.K. Banking stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED): Saving for the future. **Journal Clin Pediatr Dent.**, v.33, n.4, p. 289-294, 2009.

BANSAL, R.; JAIN, A. Current overview on dental stem cells applications in regenerative dentistry. **Journal of Natural Science, Biology and Medicine**; v..6, n.1, 2015.

EITELVEN, T.; et al. Aplicações Biológicas de Células-tronco: Benefícios e Restrições. **Edição Especial: Ciências Biológicas e Ensino**, v.2, n.3, p.13-20, 2017.

FEQUES, R.R.; et al. Uso de células-tronco na odontologia: Realidade ou utopia. **Rev Periodontia**, Maranhão, v. 24, n. 3, p. 24-30, 2014.

FRANÇA, S. Células-tronco aumentam opções terapêuticas. **Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.**; v.65, n.2, p.86-89, 2011.

GARCIA, T.; ROQUE, J.S.; SILVA, D.F. Células-tronco: bioengenharia aplicada à Odontologia. **Nanocell News.**, v. 4, n. 6, 2017. Disponível em: <http://www.nanocell.org.br/celulas-tronco-bioengenharia-aplicada-a-odontologia/>. Acesso em: 26 out 2019.

GIORDANO, G.; et al. Stem cells from oral niches: a review. **Annali di Stomatologia**, v.2, p.3-8, 2011.

GRONTHOS, S.; 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.13625-13630, 2000.

JESUS, A.A.; et al. Coleta e cultura de células-tronco obtidas da polpa de dentes decíduos: técnica e relato de caso clínico. **Dental Press Journal Orthod.**, v.16, n.6, p.111-118, 2011.

KERKIS, I.; et al. Isolation and Characterization of a population of immature dental pulp stem cells expressing oct-4 and other embryonic stem cells markers. **Cells Tissues Organs**, v.184, p.105-116, 2007.

MACHADO, M.R.; GARRIDO, R.G. Teeth as Source of Stem Cells: an Alternative to Ethical Dilemmas. **Rev Bioética y Derecho**, n.31, p.66-80, 2014.

MIURA, M.; et al. SHED: Stem cells in human exfoliated deciduous teeth. **Proc Natl Acad Sci USA.**, v.100, n.10, p.5807-5812, 2003.

NASCIMENTO, F.M.; GALVÃO, L.A. **A Importância das células-tronco em polpa de dentes decíduos: revisão de literatura**. 2019. 21p. Artigo (Bacharel em Odontologia). Centro Universitário São Lucas, 2019.

NAKASHIMA, M.; IOHARA, K.; SUGIYAMA, M. Human dental pulp stem cells with highly angiogenic and neurogenic potential for possible use in pulp regeneration. **Cytokine Growth Factor Rev**, v.20, n.5-6, p.435-40, 2009.

NOMBELA-ARRIETA, C.; RITZ, J.; SILBERSTEIN, L.E. The elusive nature and function of mesenchymal stem cells. **Nat Rev Mol Cell Biol.**; v.12, n.2, p.126–131, 2011.

PAPACCIO, G.; et al. Long-Term Cryopreservation of Dental Pulp Stem Cells (SBP-DPSCs) and Their Differentiated Osteoblasts: A Cell Source for Tissue Repair. **Journal Cell. Physiol.**, v. 208, n. 2, p. 319-325, 2006.

PETROVIC, V.; STEFANOVIC, V. Dental Tissue – New Source for Stem Cells. **The Scientific World Journal**, v.9, p.1167-1177, 2009.

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

SOUZA, L.M. **Caracterização de células-tronco da polpa dental humana obtida de dentes decíduos e permanentes**. 2008. 126p. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde). Universidade de Brasília: Brasília -DF, 2008.

TAUMATURGO, V.M.; VASQUES, E.F.L.; FIGUEIREDO, V.M.G. A Importância da Odontologia nas Pesquisas em Células-Tronco. **Rev Bahiana Odontol.**; v.7, n.2, p.166-171, 2016.

THOMAS, S.; et al. Human neural crest cells display molecular and phenotypic hallmarks of stem cells. **Hum Mol Genet**, v.17, n.21, p.3411-3425, 2008.

VASCONCELOS, R.G.; et al. Importância dos tecidos dentais e periodontais como fontes de células-tronco. **Rev Bras de Ciências da Saúde**. Rio Grande do Norte, v. 15, n. 2, p. 229-236, 2011.