



Caracterização imunofenotípica e pluripotência das células da polpa de terceiros molares humanos em cultura

Susana Aschidamini Ferreira¹, Simone Bonato Luisi²

¹ Laboratório de Hematologia e Células-tronco, Faculdade de Farmácia, UFRGS
² Departamento de Odontologia Conservadora, Área de Endodontia – Faculdade de Odontologia, UFRGS

INTRODUÇÃO

Células-tronco derivadas da polpa dentária (DPSC) de terceiros molares humanos caracterizam-se pela multipotencialidade e altas taxas de proliferação. Estudos mostram que as DPSC apresentam capacidade de se diferenciar em diversas linhagens celulares como odonto/osteogênica, adipogênica, condrogênica, sob condições de cultivo adequadas. O presente estudo teve como objetivos avaliar perfil imunofenotípico e a pluripotência de células da polpa de terceiros molares humanos em cultura.

METODOLOGIA

Foram utilizados 12 terceiros molares humanos. Imediatamente após a extração, os dentes foram colocados em frascos contendo meio de cultura DMEM suplementado e as polpas foram processadas no laboratório de Hematologia e Células-tronco na Faculdade de Farmácia. A caracterização imunofenotípica foi realizada nas passagens 5 e 10 (P5 e P10) por citometria de fluxo (FACS Aria), na qual as células foram incubadas com anticorpos anti-humanos CD14, CD29, CD34, CD44, CD45, CD73, CD90, CD105 e os antígenos HLA-DR. Para indução da diferenciação celular *in vitro*, células na quinta passagem (P5) foram semeadas em placas de cultivo e cultivadas em meios apropriados de diferenciação osteogênica, adipogênica e condrogênica. As células submetidas à diferenciação osteogênica foram coradas com Alizarin Red, à diferenciação adipogênica com Oil Red, e à condrogênica com Alcian Blue.

RESULTADOS

Em nove dentes não foi obtido sucesso no isolamento e cultivo celular, por falta de confluência das células. Nos demais dentes, foram estabelecidas culturas primárias de células da polpa e estas foram cultivadas até a décima passagem.

Imunofenotipagem

Nas citometrias realizadas, as células apresentaram positividade acima de 95% para marcadores característicos de células-tronco mesenquimais CD44, CD73, CD90 e CD2 e baixo percentual de positividade (até 1,1%) para os marcadores característicos de células hematopoiéticas, tais como CD14, CD34, CD45 e HLA-DR.

Diferenciação

Em uma cultura primária, o protocolo de indução à diferenciação foi realizado, na quinta passagem, e as células isoladas da polpa apresentaram potencial de diferenciação osteogênica e adipogênica, conforme foi observado após a coloração.

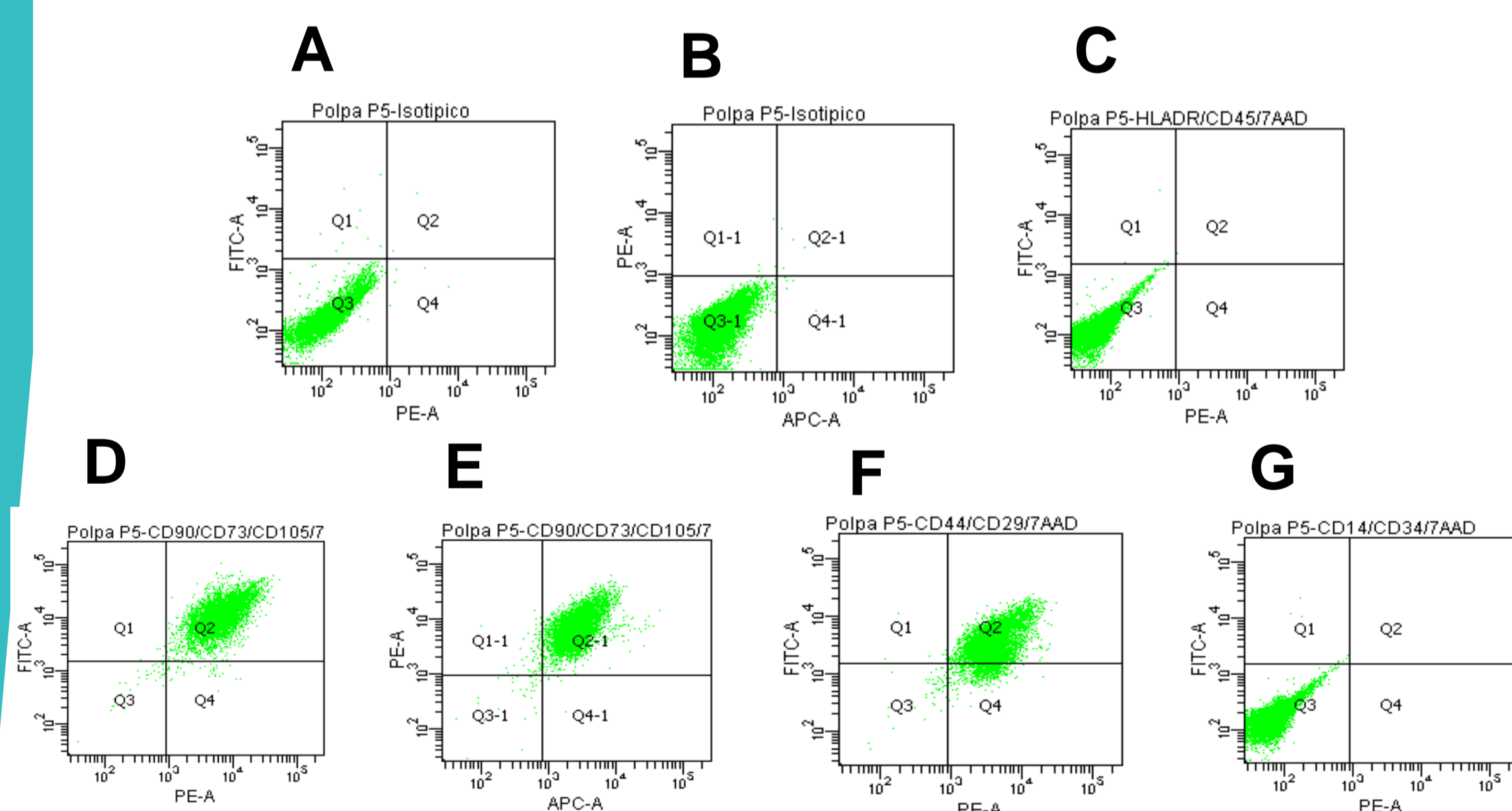


Figura 1. Análise dos marcadores de superfície das DPSC na quinta passagem por citometria de fluxo. Diagramas mostram os anticorpos isotípicos (A, B), HLA-DR e CD45 (C) CD90 e CD73 (D), CD73 e CD105 (E), CD44 e CD29 (F), CD14 e CD34 (G). Foram analisados pelo menos 5.000 eventos.

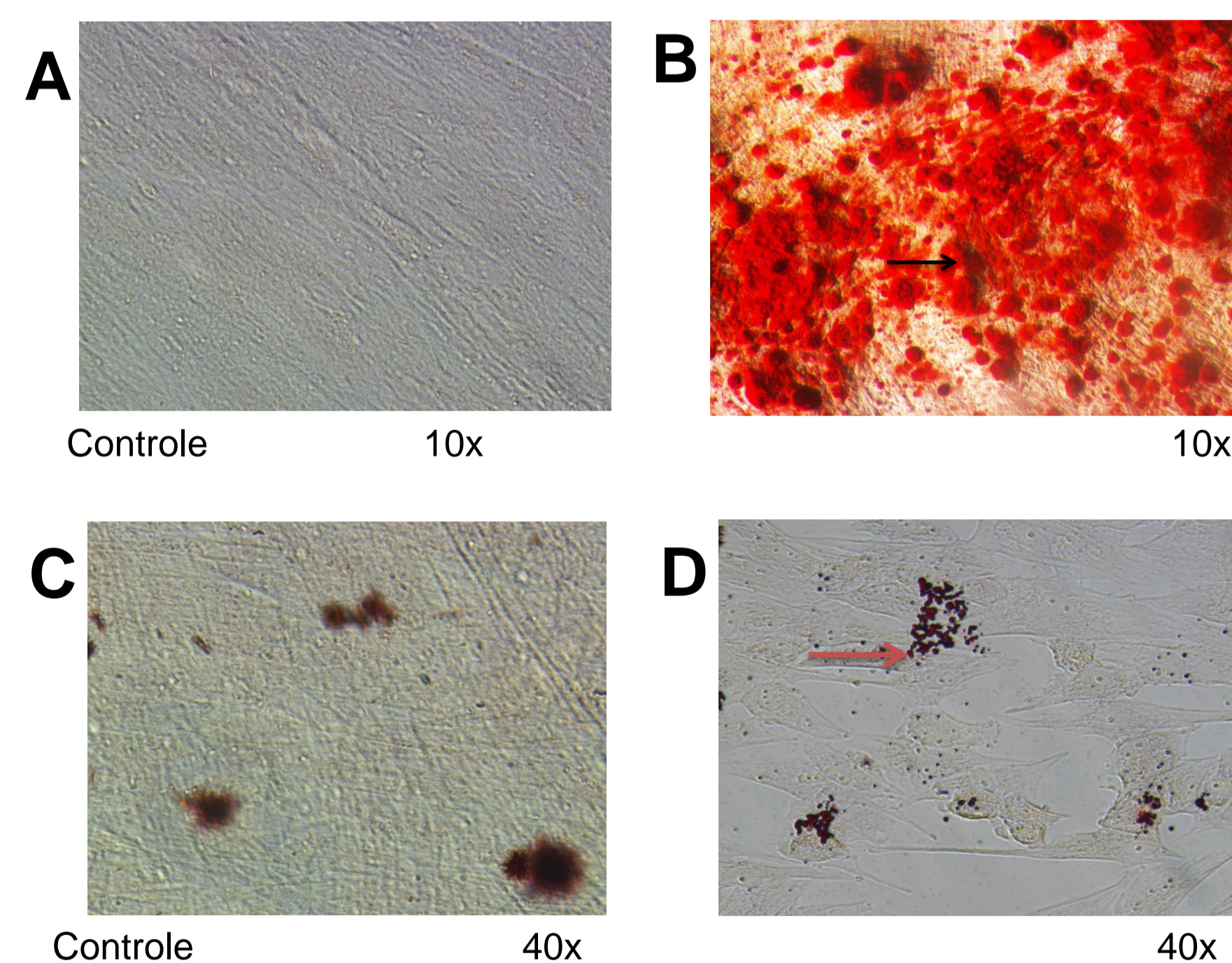


Figura 2. Indução à diferenciação. Controle (A) e diferenciação osteogênica (B). Controle (C) e diferenciação adipogênica (D). Setas indicam nódulos formados pela deposição de matriz calcificada (seta preta) e gotas lipídicas (seta vermelha).

CONCLUSÃO

Todas células isoladas até o momento se mostraram aderentes ao plástico e foram positivas para os marcadores de células-tronco mesenquimais, caracterizando assim seu caráter tronco. Foi possível observar também que as células demonstraram alto potencial osteogênico. Sendo assim, as células derivadas da polpa dentária de terceiros molares podem ser consideradas uma fonte promissora na pesquisa com células-tronco.

REFERÊNCIAS

- BERNARDI et al. Journal of Endodontics, v. 37, n. 7, p. 973-979, 2011.
 DOMINICI et al. Abingdon, v. 8, n. 4, p. :315-72, 2006.
 LUISI et al. Journal of Endodontics, v. 33, n.7, p. 833-835, 2007.

Agradecimentos
 Patricia Pranke
 Natasha Maurmann
 Daniela Pavulack
 Pedro Chagastelles