



Evento	Salão UFRGS 2014: SIC - XXVI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2014
Local	Porto Alegre
Título	Caracterização imunofenotípica e pluripotência das células da polpa de terceiros molares humanos em cultura
Autor	SUSANA ASCHIDAMINI FERREIRA
Orientador	SIMONE BONATO LUISI

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, neurogênica e miogênica, 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.

Foram utilizados 12 terceiros molares humanos extraídos por motivos ortodônticos, obtidos após consentimento esclarecido e informado dos pacientes. Imediatamente após a extração, os dentes foram colocados em frascos contendo meio de cultura DMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino, 100 unidades/mL de penicilina, 100µg/mL de estreptomicina e 0,45µg/mL de gentamicina. Em uma capela de fluxo laminar, a polpa de cada dente foi removida, cortada e incubada em colagenase, durante 2 horas. Após, as células foram ressuspensas em placa de cultura com meio DMEM suplementado. A caracterização imunofenotípica foi realizada nas passagens 5 e 10 (P5 e P10) por citometria de fluxo (FACSAria). Para a avaliação da expressão de marcadores de superfície, 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*, 10⁴ células/cm² (na quinta passagem) foram semeadas em placas de 12 poços e cultivadas em meios apropriados de diferenciação osteogênica, adipogênica e condrogênica, após atingirem pelo menos 70% de confluência. As células submetidas à diferenciação osteogênica foram coradas com Alizarin Red e à diferenciação adipogênica, com Oil Red.

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. A citometria de fluxo foi, portanto, realizada nas quintas e décimas passagens em todas as culturas celulares e estas apresentaram positividade acima de 95% para marcadores característicos de células-tronco mesenquimais CD44, CD73, CD90 e CD29. As mesmas células também apresentaram baixo percentual de positividade (até 1,1%) para os marcadores característicos de células hematopoéticas, tais como CD14, CD34, CD45, CD184, e HLA-DR. 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 osteogênico e adipogênico, conforme foi observado após a coloração. Até o momento, as células da polpa não apresentaram potencial de diferenciação condrogênico, mas o experimento está em andamento e será avaliado posteriormente. Todas as células isoladas são aderentes ao plástico, foram positivas para os marcadores característicos de células-tronco mesenquimais e demonstraram potencial pluripotência. No entanto, para a caracterização das células-tronco mesenquimais da polpa de terceiros molares humanos é necessário a indução da diferenciação nas culturas restantes bem como aumentar o número da amostra.