

## **Isolamento, caracterização e perspectivas de uso de células-tronco de dentes decíduos humanos esfoliados (SHED) de crianças com fissuras labiopalatinas**

### **RESUMO**

Esta tese teve como objetivo apresentar dois artigos científicos. O Artigo 1, aborda uma revisão de estudos utilizando células-tronco de dentes decíduos humanos esfoliados (SHEDs) na regeneração óssea, salientando o uso em pacientes com fissuras labiopalatinas (FLP) e o Artigo 2, objetivou comparar a caracterização de SHED entre crianças com e sem fissuras labiopalatinas, a fim de analisar se as SHEDs autólogas podem ser consideradas uma opção para que, em breve, possam ser utilizadas para fins terapêuticos, como uma alternativa na reconstrução de fissuras alveolares em pacientes com FLP. No Artigo 1, foi possível observar que estudos *in vitro* e *in vivo* estão sendo realizados para que a regeneração óssea seja feita utilizando materiais não invasivos, com o uso de *scaffolds* e células-tronco como as SHEDs. Estudos *in vivo* mostraram que a SHED pode induzir a formação óssea, produzir dentina e expressar marcadores neuronais. No entanto, apesar de muitos esforços já feitos, por ser uma alternativa promissora que pode trazer benefícios para o tratamento e para a qualidade de vida de diversos pacientes, ainda há poucos relatos na literatura de aplicabilidade, principalmente em pacientes com FLP. No Artigo 2, tecidos pulparem foram obtidos de 6 dentes decíduos hígidos em estágio de esfoliação, de 6 doadores com idade entre 4 e 12 anos e divididos em dois grupos, sem fissura labiopalatina (Grupo Controle) e com fissura labiopalatina (Grupo Fissura). As células obtidas por cultura primária foram analisadas imunofenotipicamente, onde as que apresentaram expressões positivas dos marcadores de superfície celular CD105, CD73, CD90 e negativas de CD45, CD34, CD11b, CD19, HLA-DR (PE) foram coletadas após separação em Citometria de Fluxo. As células foram submetidas à diferenciação multilinhagem e foram analisadas morfológicamente. A diferença imunofenotípica entre os grupos foi analisada pelo teste t de Student e o nível de significância foi estabelecido em 5% ( $p < 0,05$ ). Foi demonstrada adesão plástica, e altos níveis de marcadores CTM foram identificados em ambos os grupos, com expressão positiva de CD105, CD73 e CD90 ( $\geq 95\%$  positivo) e ausência de marcadores de linhagem hematopoiética CD45, CD34, CD11b, CD19 e HLA-DR ( $\leq 2\%$  positivo). As células pulparem isoladas em todas as amostras demonstraram capacidade de diferenciação adipogênica, osteogênica e condrogênica. A análise morfológica identificou núcleo ligeiramente menor e capacidade

proliferativa menor no tempo avaliado no grupo Fissura. Houve diferença estatisticamente significativa ( $p = 0,042$ ) na comparação das SHEDs obtidas após *sorting* nos dois grupos, sendo maior no grupo Fissura. Após a confirmação dos critérios padrão para definição de CTM multipotentes em ambos os grupos, foi possível confirmar o isolamento e a caracterização de SHED em todas as amostras. Esse achado sugere que SHEDs de crianças com FLP podem ser consideradas uma opção para investigações futuras sobre o uso autólogo de células em intervenção terapêutica. Não obstante, estudos futuros ainda são necessários para avaliar possíveis diferenças internas entre as células, analisar a curva de crescimento entre os grupos e quantificar a diferenciação osteogênica, visando identificar se a fissura poderia favorecer a regeneração óssea por meio da engenharia de tecidos.

**Palavras-chave:** Fissura Palatina. Fissura Labial. Células-Tronco Mesenquimais. Engenharia Tecidual.