



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA

Autorizada pelo Decreto Federal nº 77.496 de 27/04/76
Recredenciamento pelo Decreto nº 17.228 de 25/11/2016



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COORDENAÇÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

XXVIII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS **SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - 2024**

PROTOCOLOS EXISTENTES PARA A CRIOPRESERVAÇÃO DE CÉLULAS- TRONCO DE ORIGEM DENTÁRIA: UMA REVISÃO DE LITERATURA

Gabriel Borges dos Santos¹; Wanessa Maria Aras Lima²

1. Bolsista – Modalidade Bolsa/PVIC, Graduando em Odontologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: gabrielborges00@outlook.com.br
2. Orientador, Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: wmfaras1@uefs.br

PALAVRAS-CHAVE: criopreservação; células-tronco dentária;
criopreservação dental.

INTRODUÇÃO

A descoberta da possibilidade de extrair células-tronco dos tecidos dentários fez com que os dentes se tornassem uma fonte promissora para a coleta dessas células (Hilkens et al. 2016; Zakrzewski et al. 2019). Além disso, a coleta e a criopreservação dessas células-tronco são fundamentais para a pesquisa científica, dado seu potencial para tratar doenças como infarto do miocárdio, diabetes e doenças neurodegenerativas (Hilkens et al. 2016). Dessa forma, as células-tronco são vistas como promissoras para a engenharia tecidual, oferecendo uma gama ampliada de aplicações clínicas (Raik et al. 2019).

Para que essas células possam ser utilizadas clinicamente, é essencial sua preservação a longo prazo, mantendo suas características e funções biológicas. Para isso, foram desenvolvidas técnicas de ultracongelamento, geralmente a temperaturas de até -196 °C, que preservam a integridade celular após o descongelamento (Lindemann et al. 2014). A criopreservação é uma técnica eficaz que garante a viabilidade das células-tronco mesmo após o congelamento (Hunt, 2017; Conde et al. 2016). Atualmente, os métodos de armazenamento de células-tronco incluem criopreservação convencional (com crioprotetores), congelamento lento programado e congelamento rápido ou vitrificação (Raik et al. 2019).

O objetivo deste estudo é apresentar, através de uma revisão da literatura, os diferentes protocolos de criopreservação disponíveis, suas metodologias e os efeitos observados no armazenamento de células-tronco de origem dentária.

MATERIAL E MÉTODOS OU METODOLOGIA

Foi realizada uma pesquisa por artigos científicos publicados entre 2010 e 2024. Para encontrar os estudos, foram utilizadas as seguintes palavras-chave, em português e inglês: “criopreservação” (Cryopreservation), “células-tronco dentária” (Dental stem cells) e “criopreservação dental” (Dental cryopreservation). As bases de dados consultadas foram PubMed, SciELO e Google Acadêmico. Além disso, foi realizado um processo de busca manual e leitura dos estudos referenciados nos artigos selecionados.

Como critério inicial de exclusão foram descartados os artigos que não se encaixavam no objetivo do trabalho (primeira etapa de análise). Em seguida, os artigos pré-selecionados foram lidos e, descartados aqueles que não apresentavam relevância clínica ou clareza na metodologia utilizada. Após esse processo, foram selecionados 19 artigos científicos. A metodologia empregada foi uma adaptação do método descrito por Silva, Vasconcelos e Vasconcelos (2020).

RESULTADOS E/OU DISCUSSÃO

Malekfar et al. (2016) (Fig. 1) realizaram a criopreservação das células-tronco da polpa dentária através da mistura desse tecido ao criopreservante dimetilsulfóxido (10%) e soro fetal bovino (90%), que estavam resfriados a 4° C. O estudo testou a expressão de marcadores de células-tronco mesenquimais e a diferenciação osteogênica e adipogênica e, como resultado, percebeu-se que nenhum dos critérios foram afetados após o método de criopreservação supracitado.

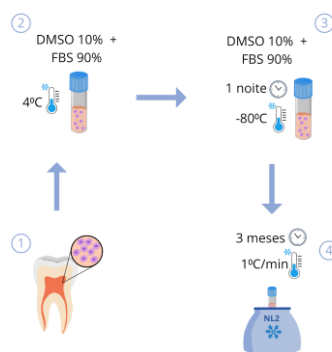


Figura 1: Esquema da metodologia de criopreservação usada por Malekfar et al. (2016); DMSO: dimetilsulfóxido; FBS: soro fetal bovino; °C: Graus Celsius; Min: minutos; NL2: nitrogênio líquido.

Vasconcelos et al. (2011) (Fig. 2) executaram a criopreservação das células-tronco do ligamento periodontal suspensas em 1 mL de cada amostra contendo 1×10^6 células por frasco criogênico. O objetivo do estudo foi verificar se o método de criopreservação anteriormente descrito influenciava negativamente na adesão e proliferação celular das células-tronco estudadas, chegando ao resultado que essas características celulares não foram afetadas após o processo.

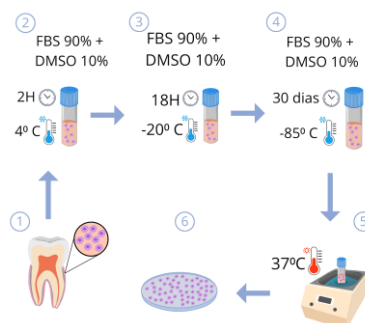


Figura 2: Esquema da metodologia de criopreservação usada por Vasconcelos et al. (2011); DMSO: dimetilsulfóxido; FBS: soro fetal bovino; °C: Graus Celsius; H: horas.

Kang et al. (2015) (Fig. 3) fizeram a criopreservação das células-tronco do folículo dentário através de tubos contendo os criopreservantes glicose 0,05 M, sacarose 0,05 M

e etilenoglicol 1,5 M em solução salina fosfatada. Desse modo, o objetivo desse estudo foi observar se a expressão de marcadores imunológicos e a formação óssea *in vivo* após o transplante realizado seria afetado pelo método criopreservador, no entanto, foi constatado que não houve nenhum efeito negativo desse processo nos critérios avaliados.

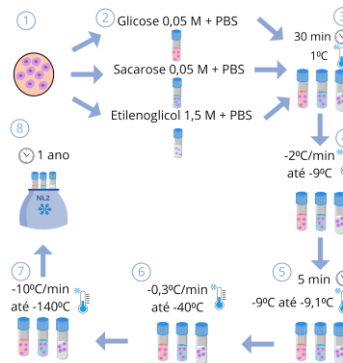


Figura 3: esquema da metodologia de criopreservação usada por Kang et al. (2015); M: molar; PBS: solução salina fosfatada; °C: Graus Celsius; min: minutos; NL2: nitrogênio líquido.

Ding et al. (2010) (Fig. 4) realizaram a criopreservação das células-tronco da papila apical usando três criopreservantes diferentes, com o intuito de comparar os efeitos dos criopreservantes. O dimetilsulfóxido, glicerol e etilenoglicol foram usados numa concentração a 10% em mistura com soro fetal bovino a 90%. Foi observado que as células continuavam expressando marcadores de células-tronco mesenquimais, além disso, a viabilidade e proliferação celular permaneceram inalteradas, sendo que as células continuaram eficientes quanto à formação de colônias, além de continuarem exercendo o potencial imunomodulador *in vitro*, mostrando, dessa forma, que as características biológicas das células-tronco, no estudo, não foram afetadas após o processo de criopreservação.

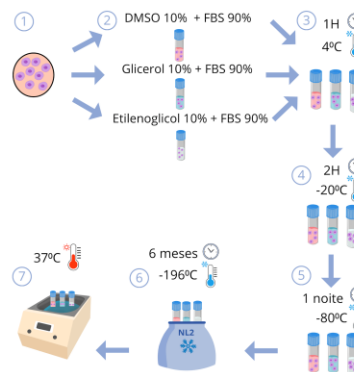


Figura 4: esquema da metodologia de criopreservação usada por Ding et al. (2010); DMSO: dimetilsulfóxido; FBS: soro fetal bovino; °C: Graus Celsius; H: hora; NL2: nitrogênio líquido.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora existam diversos métodos para o armazenamento dessas células-tronco, ainda é necessário explorar e aprimorar esses protocolos. Alguns métodos atuais podem reduzir a viabilidade das células, comprometendo sua aplicabilidade clínica. Assim, é crucial continuar os estudos para desenvolver métodos mais eficazes e padronizados, o que é fundamental para o progresso da engenharia tecidual e das pesquisas com células-tronco dentárias.

REFERÊNCIAS

- CONDE, M. C. M.; CHISINI, L. A.; GRAZIOLI, G.; FRANCA, A.; De CARVALHO, R. V.; ALCÁZAR, J. C. B.; TARQUINIO, S. B. C.; DEMARCO, F. F. 2016. Does Cryopreservation Affect the Biological Properties of Stem Cells from Dental Tissues? A Systematic Review. *Brazilian Dental Journal*, Ribeirão Preto, v. 27, n. 6, p. 633-640, dez. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bdj/a/6YvPcFS4cH3NhQwKC4ZJhWQ/?format=pdf&lang=en>. Acesso em: 07 fev. 2024.
- DING, G.; WANG, W.; LIU, Y.; AN, Y.; ZHANG, C.; SHI, S.; WANG, S. 2010. Effect of cryopreservation on biological and immunological properties of stem cells from apical papilla. *Journal Of Cellular Physiology*, Philadelphia, v. 223, n. 2 p. 415-422, 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20082304/>. Acesso em: 12 fev. 2024.
- HUNT, C. J. 2017. Cryopreservation: vitrification and controlled rate cooling. *Methods In Molecular Biology*, Clifton, p. 41-77. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28353262/>. Acesso em: 07 fev. 2024.
- HILKENS, P.; DRIESEN, R.; WOLFS, E.; GERVOIS, P.; VANGANSEWINKEL, T.; RATAJCZAK, J.; DILLEN, Y.; BRONCKAERS, A.; LAMBRICHTS, I. 2016. **Cryopreservation and Banking of Dental Stem Cells**. In: *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 951, p. 199-235. Disponível em: <https://documentserver.uhasselt.be/bitstream/1942/23997/1/Hilkens%20-%20Cryopreservation%20and%20banking%20of%20DSC%20-%202016.pdf>. Acesso em: 06 fev. 2024.
- KANG, Y. H.; LEE, H. J. JANG, S. J.; BYUN, J. H.; LEE, J. S.; LEE, H. C. WON-UK, P.; LEE, J. H.; RHO, G. J. PARK, B. W. 2015. Immunomodulatory properties and in vivo osteogenesis of human dental stem cells from fresh and cryopreserved dental follicles. *Differentiation*, London, v. 90, n. 1-3, p. 48-58. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0301468115000584?via%3Dihub>. Acesso em: 07 fev. 2024.
- LINDEMANN, D.; WERLE, S. B.; STEFFENS, D.; GARCIA-GODOY, F.; PRANKE, P.; CASAGRANDE, L. 2014. Effects of cryopreservation on the characteristics of dental pulp stem cells of intact deciduous teeth. *Archives Of Oral Biology*, Oxford, v. 59, n. 9, p. 970-976, set. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0003996914000880?via%3Dihub>. Acesso em: 08 fev. 2024.
- MALEKFAR, A.; VALLI, K. S.; KANAFI, M. M.; BHONDE, R. R. 2016. Isolation and Characterization of Human Dental Pulp Stem Cells from Cryopreserved Pulp Tissues Obtained from Teeth with Irreversible Pulpitis. *Journal Of Endodontics*, New York, v. 42, n. 1, p. 76-81. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26577871/>. Acesso em: 12 fev. 2024.
- RAIK, S.; KUMAR, A.; RATTAN, V.; SETH, S.; KAUR, A.; CHARYYA, S. B. 2019. Assessment of Post-thaw Quality of Dental Mesenchymal Stromal Cells After Long-Term Cryopreservation by Uncontrolled Freezing. *Applied Biochemistry And Biotechnology*, Clifton, v. 191, n. 2, p. 728-743. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31853872/>. Acesso em: 07 fev. 2024.
- SILVA, G. C. B.; VASCONCELOS, M. G.; VASCONCELOS, R. G. 2020. Criopreservação de células-tronco de origem dentária: uma revisão de literatura. *SALUSVITA*, Bauru, v. 39, n. 4, p. 1061-1092. Disponível em: <https://capela.unisagrado.edu.br/index.php/salusvita/article/view/77/60>. Acesso em: 12 fev. 2024.
- VASCONCELOS, R. G.; RIBEIRO, R. A.; VASCONCELOS, M. G.; LIMA, K. C.; BARBOZA, C. A. G. 2011. In vitro comparative analysis of cryopreservation of undifferentiated mesenchymal cells derived from human periodontal ligament. *Cell And Tissue Banking*, Dordrecht, v. 13, n. 3, p. 461-469. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21833489/>. Acesso em: 12 fev. 2024.
- ZAKRZEWSKI, W.; RYBAK, Z.; DOBRZYNSKI, M. 2019. **Stem cells: past, present, and future**. *Stem Cell Research & Therapy*, London, v. 10, n. 1, p. 68, fev. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Zbigniew-Rybak/publication/331358030_Stem_cells_past_present_and_future/links/5c75b8ce299bf1268d2838ad/Stem-cells-past-present-and-future.pdf?tp=eyJjb250ZXh0Ijp7ImZpcnN0UGFnZSI6InB1YmxpY2F0aW9uIiwicGFnZSI6InB1YmxpY2F0aW9uRG93bmxvYWQlLCJwcmV2aW91c1BhZ2UiOiJwdWJsaWNhdGlvb2J9fQ. Acesso em: 06 fev. 2024.