

FORMAÇÃO IN VITRO DE ESFEROIDES A PARTIR DE CÉLULAS TRONCO MESENQUIMAIAS ISOLADAS DA POLPA DENTÁRIA HUMANA

Paula Cássia Oliveira¹, Karina F. Bombonato-Prado¹, Geraldo Aleixo Passos^{1,2}

1 Departamento de Morfologia, Fisiologia e Patologia Básica, Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, USP

2 Departamento de Genética, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP
paulacassia98@usp.br, passos@usp.br

Objetivos

Células tronco (CT) compreendem o grupo de células com a função de diferenciação, reposição e regeneração tecidual. Por não serem terminalmente diferenciadas, as CTs são capazes de se diferenciar nos mais diversos tipos de células e depois em tecidos mediante estimulação específica. Estudos *in vitro* com esse tipo de células permitem melhor compreensão de suas propriedades, bem como explorar seu potencial de aplicação na área médico-odontológica (Teway et al 2018). O modelo *in vitro* amplamente utilizado é a cultura em duas dimensões (2D), onde as células se dividem aderidas a um substrato sólido (poliestireno). Entretanto, os modelos de cultura 3D, nas quais as células não aderem a um substrato, mas formam aglomerados (esferoides) representam uma aproximação mais fisiológica em relação ao que ocorre *in vivo* durante a diferenciação e a organização dos órgãos e tecidos humanos (Yamamoto et al 2014). Nesse projeto pretendemos estabelecer um sistema-modelo de cultura 3D para testar a formação de esferoides de células tronco mesenquimais isoladas da polpa dentária humana (*shed cells*) organizando um protocolo que servirá de base para futuros projetos nessa área.

Materiais e métodos

Células tronco mesenquimais isoladas da polpa dentária humana são cultivadas em micro poços de agarose permitindo a adesão e a aglomeração célula-célula para formar esferoides. A curva de crescimento de um esferoide é então construída seguindo a semeadura celular. Culturas 2D paralelas convencionais de células tronco mesenquimais isoladas da polpa dentária humana também são

realizadas. Amostras de RNA total são extraídas em diferentes momentos durante a formação do esferoide ou cultura 2D. PCR em tempo real utilizando primers específicos serão usados para acompanhar os marcadores de células tronco / células diferenciadas comparando com culturas convencionais em 2D.

Resultados e conclusões

O desenho da curva de crescimento de esferoide na expressão de genes transcricionais marcadores de células tronco / células diferenciadas comparando com culturas convencionais em 2D. A principal contribuição desse projeto está relacionada ao estabelecimento de um protocolo para a formação de esferoides utilizando células tronco mesenquimais isoladas da polpa dentária humana (Figura 1).



Figura 1 Construção de micro moldes de agarose para formação de esferoides *in vitro*.

Referências

Teway M et al (2018) Stem cell bioengineering: building from stem cell biology. *Nat Rev Genet* (doi: 10.1038/s41576-018-0040-z)

Yamamoto M et al (2014) Three-dimensional spheroid culture promotes odonto/osteoblastic differentiation of dental pulp cells. *Arch Oral Biol* 59:310 (doi: 10.1016/j.archoralbio.2013.12.006)

Funding: CNPq-PIBIC Nº 144622/2018-1