

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
Faculdade de Ciências de Saúde
Departamento de Odontologia



Trabalho de Conclusão de Curso

**Estabelecimento de cultura de células-tronco da polpa dentária de
humanos para modelo de neurotoxicidade induzida por quimioterápicos**

Victor Emanuel Guimarães da Silva

Brasília, 27 de novembro de 2025

Victor Emanuel Guimarães da Silva

**Estabelecimento de cultura de células-tronco da polpa dentária de humanos
para modelo de neurotoxicidade induzida por quimioterápicos**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Departamento de
Odontologia da Faculdade de Ciências
da Saúde da Universidade de Brasília,
como requisito parcial para a conclusão
do curso de Graduação em Odontologia

Orientadora: Profa. Dra. Djane Braz Duarte

Co-Orientador: Dr. Henrique R. de Oliveira

Brasília, 2025

Estabelecimento de cultura de células-tronco da polpa dentária de humanos para modelo de neurotoxicidade induzida por quimioterápicos

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado, como requisito parcial para a conclusão do curso de Graduação em Odontologia, Departamento de Odontologia da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

Data da defesa: 27/11/2025

Banca examinadora:

Profa. Dra. Djane Braz Duarte

Profa. Dra. Carine Royer

Profa. Dra. Caroline Lourenço de Lima

Profa. Dra. Ingrid Ferreira Metzger (suplente)

*Dedico este trabalho com eterno
carinho aos que não puderam estar
presentes: meu pai, Mário Jorge, e
meu Irmão, meu segundo pai,
Mohabe Jorge. Recebam essa
singela homenagem, é por vocês!*

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, a Deus pelo fôlego de vida, por nunca ter me deixado desistir e por sempre ter colocado pessoas maravilhosas na minha vida, que me fizeram chegar até onde estou, que eu continue sendo cercado dessas pessoas, daí me considero abençoado!

À minha maravilhosa orientadora, Professora Djane! Não tenho palavras para te agradecer por tudo que fez por mim, por ter me acolhido desde os semestres iniciais, por todo ensinamento, garra, força, inteligência, dedicação e esforço em que realiza suas atividades todos os dias. Eu admiro muito sua vontade e paixão em que faz ciência e que dá aula, sou fascinado na sua bondade enquanto pessoa e na forma que trata seus alunos, que desperta em mim calma quando diz que irá resolver uma situação, agradeço por todo esse tempo de parceria, e considero a senhora como uma mãe!

Ao meu querido (co) orientador, Dr. Henrique Rodrigues, sou muito feliz por ter você na minha vida, pois além de co-orientador, sou seu amigo pessoal. Te agradeço pela força nos momentos difíceis, pelos finais de semanas e madrugadas em que me ajudou a corrigir meus trabalhos, por todo o ensinamento que você tem me passado, tenho muito orgulho e inspiração em você. Não poderia deixar de citar o quão bem você cozinha hahahaha!

Aos meus familiares, minha mãe, Eunice! Que com uma força imensa, batalhou muito para que eu estivesse onde estou hoje, sempre companheira, hoje sou fruto de todo esse esforço que você teve juntamente com meu pai, Mario Jorge a quem também sou grato por todo o período em que vivi, e desde criança sempre dizia que seu sonho era que eu me tornasse doutor, hoje dou o primeiro passo e me torno o primeiro Cirurgião-Dentista da família por vocês!

Agradeço aos meus irmãos, Johabe e Pedro que com muito esforço sempre me ajudaram, mesmo nas dificuldades em que passavam, mas sempre estiveram prontos para estender a mão, conversar, sair para distrair um pouco, sou muito feliz por ter vocês e juntos iremos longe! Agradeço ao meu irmão, Mohabe, que não pôde ver eu adentrando à universidade pública, no curso dos meus sonhos, mas que sempre torceu

por mim, me apresentava para as pessoas com muito orgulho, quando eu ainda estava na faculdade de enfermagem, na ausência de meu pai, me acolheu como tal e sempre serei grato por todos os atos que por mim foram feitos, e irei sempre carregar isso para os meus sobrinhos!

Aos meus tios Moíses, Fátima e Hosana que foram essenciais nessa caminhada e assim puderam contribuir para a minha formação.

À minha segunda família, Vó conceição, Óseias, Benjamym, Khloe e Polyana, por toda ajuda e força nessa caminhada.

À minha namorada, Nayara Lopes, companheira nessa caminhada, que suportou junto comigo os momentos mais difíceis, com calma, paciência e muito amor. Agradeço por todos os momentos em que vivemos juntos, por suportar essa fase tão pesada e que exige tempo de dedicação, que é a graduação, e ao mesmo tempo ser tão carinhosa, com seu sorriso simpático, sempre muito cheirosa e arrumada, amo o seu jeito em que me cuida, sou mais feliz com você!

Agradeço aos amigos de vida que o SEVACOV me deu! Denyse, sempre muito solícita, com sua memória fantástica, bondade, e desde já, estendendo à sua mãe, Belmira, que sempre me receberam muito bem em sua casa, e temos hoje uma amizade muito gratificantes. Agradeço a Fuh, pelo pouco tempo que passou no projeto, veio para ficar, amo o seu jeito Zen de viver a vida, seus conselhos, desejo tudo de bom para você!

Agradeço aos colegas de laboratório de ensaios farmacológicos: Brenda, Laryssa, Rodrigo, Liliane, Ellen, Vanessa, Professora Ingrid, Mariel. Com vocês, o ambiente do laboratório muda completamente, obrigado a todos os ensinamentos, parcerias em congressos e que venham os próximos!

Ao laboratório de Imunologia celular, da Professora Tatiana, pelo tempo em que nos cedeu o uso de seu laboratório para que desenvolvêssemos nossas atividades!

À Lídia, que sempre muito solícita, esteve a disposição com seu tempo, para ajudar na realização das fotos desse trabalho!

Agradeço a Renata, minha dupla de clínica, fiel escudeira, que teve a árdua missão de me aguentar por todos esses anos kkkkk, eu te agradeço muito pela paciência (ou a falta dela kkk), pelo seu jeito sincero de ser, que você diz ser normal, mas não é kkkk acho que demos certo por sermos o oposto, mas após esses 5 anos, eu percebi que peguei algumas características suas e você algumas minhas, sou muito feliz por ter você e sermos umas das poucas duplas que nunca mudaram na faculdade, estamos intactos hahaha, te desejo muito sucesso na vida, e quero sua amizade para além da faculdade.

Aos amigos da graduação de odontologia. Sem vocês, esses 5 anos teriam sido muito mais difíceis, vocês fizeram os almoços no RU, as correrias entre uma clínica e outra, os laboratórios, os momentos de pré-provas, congressos e clínicas ficarem muito mais leves! Ao Dani, meu amigo Paraense, fascinado pelo zé gotinha e por pokemon, muito obrigado por aguentar todas as zueiras. A Mari, com seu jeitinho alegre e doidinha kkkk você terá muito sucesso na vida! Ao Thigas, com seu companheirismo, principalmente no RU, você e o Pedro não negava uma ida ao RU kkkkk, ao Pedro, por seu jeito autêntico e divertido! A Isabella, companheira de graduação e agora de experimentos, amo compartilhar esses momentos com você! Ao JP, nosso escoteiro, cara super agradável de conversar, muito gentil e educado! Ao Dr. Manel, por sempre passar aquela boa dica de endo e por toda ajuda na graduação! A farma amiga também, Marina, pelo seu jeito doce e educada e por cuidar do Thigas kkkk! Sou mais feliz com vocês!

À turma 82, arrisco a dizer que é a melhor turma do curso hahaha, por todos os momentos de descontração, pelos amigos mais próximos e distantes, acredito que será uma turma de muito sucesso, pois todos se esforçaram para chegar até onde estamos, sem vocês, tudo ficaria mais difícil!

Aos mestres em que tive oportunidade de ter aula, vocês fazem a diferença através do conhecimento!

A Universidade de Brasília, universidade de qualidade, pública, gratuita, local de diversos debates importantes, pesquisas, ao qual tenho o orgulho de dizer que pertenço a esse lugar, desejo muitos anos de sucesso mudou a minha vida, foi um divisor de águas, viva a UnB!

Ao SUS, o maior Sistema de Saúde Pública do mundo, ao que tive o prazer de pertencer durante as atividades desenvolvidas na graduação, pude aprender, conhecer realidades e no fim saber, que cada um que trabalha na ponta desse sistema, faz a diferença na vida das pessoas!

Por fim, gostaria de agradecer a mim, que fui o único que soube os meus limites, dificuldades, que nunca desisti, e que em breve irei colher os frutos do meu esforço, muito obrigado Victor!

***No que diz respeito ao empenho, ao
compromisso, ao esforço, à dedicação,
não existe meio termo. Ou você faz uma
coisa bem feita ou não faz***

Ayrton Senna

RESUMO

Introdução: As células-tronco da polpa dentária (do inglês, *dental pulp stem cells* - DPSCs) podem ser uma fonte acessível, pouco invasiva e promissora para estudos de neurotoxicidade e neuroproteção, especialmente em neuropatia periférica induzida por quimioterápicos (NPIQ). Representam uma alternativa viável às culturas primárias *in vitro* de roedores e linhagens imortalizadas, por se tratar de células primárias humanas com potencial de diferenciação neuronal. Este trabalho teve como objetivo estabelecer o cultivo de DPSCs no Laboratório de Ensaios Farmacológicos para aplicação em estudos de NPIQ e desenvolvimento de fármacos neuroprotetores.

Metodologia: DPSCs foram obtidas de terceiros molares extraídos por motivo clínico. A polpa foi removida, processada enzimaticamente com collagenase e mecanicamente com pipetas *pasteur* condicionadas. As células foram cultivadas em DMEM suplementado com 20% de soro fetal bovino, em atmosfera de 5% de CO₂ a 37°C, sendo o cultivo estabelecido após adesão e expansão celular. A diferenciação foi realizada seguindo dois protocolos diferentes. O primeiro, realizou a diferenciação através da pré-indução utilizando 1mM de β -mercaptoetanol (BME), por 24h e, após esse período, o BME foi retirado e foi adicionado fator de crescimento do nervo (NGF) na concentração de 100ng/mL por 3 dias. O segundo protocolo foi realizado utilizando meio DMEM sem soro, para induzir as células à diferenciação por 4 dias.

Resultados: Para o estabelecimento da cultura o protocolo enzimático foi realizado com collagenase tipo 1 e processamento mecânico para realizar o plaqueamento e posterior expansão por ciclos de tripsinização e subcultivo. As DPSCs apresentaram morfologia circular inicial e posterior aspecto de fibroblasto, atingindo 80% de confluência em cerca de 14 dias em placas de 12 poços. A diferenciação foi realizada utilizando 2 protocolos distintos, em que foi possível observar a morfologia das células neurônio-like, e validar parcialmente o uso dessas células diferenciadas.

Conclusão: Foi possível estabelecer e padronizar o cultivo de DPSCs humanas em nosso laboratório e diferenciá-las em células neurônio-like, consolidando-as como modelo experimental para pesquisas em neurotoxicidade e neuroproteção.

Palavras-chave: Células-tronco da polpa dentária, Neuropatia, Cultura primária.

ABSTRACT

Introduction: Dental pulp stem cells (DPSCs) can be an accessible, minimally invasive, and promising source for neurotoxicity and neuroprotection studies, especially in chemotherapy-induced peripheral neuropathy (CIPN). They represent a viable alternative to primary in vitro rodent cultures and immortalized cell lines, as they are primary human cells with neuronal differentiation potential. This work aimed to establish the cultivation of DPSCs in the Pharmacological Assays Laboratory for application in CIPN studies and the development of neuroprotective drugs.

Methodology: DPSCs were obtained from third molars extracted for clinical reasons. The pulp was removed, enzymatically processed with collagenase, and mechanically processed with conditioned Pasteur pipettes. The cells were cultured in DMEM supplemented with 20% fetal bovine serum, in a 5% CO₂ atmosphere at 37 °C, with the culture established after cell adhesion and expansion. Differentiation was performed following two different protocols. The first performed differentiation through pre-induction using 1mM β-mercaptoethanol (BME) for 24h, and after this period, the BME was removed, and nerve growth factor (NGF) was added at a concentration of 100ng/mL for 3 days. The second protocol was performed using serum-free DMEM medium to induce cell differentiation for 4 days.

Results: For culture establishment, the enzymatic protocol was performed with type 1 collagenase and mechanical processing to perform plating and subsequent expansion by trypsinization and subculture cycles. DPSCs presented an initial circular morphology and a subsequent fibroblast appearance, reaching 80% confluence in about 14 days in 12-well plates. Differentiation was performed using 2 distinct protocols, in which it was possible to observe the morphology of neuron-like cells and partially validate the use of these differentiated cells.

Conclusion: It was possible to establish and standardize the cultivation of human DPSCs in our laboratory and differentiate them into neuron-like cells, consolidating them as an experimental model for research in neurotoxicity and neuroprotection.

Keywords: Dental pulp stem cells, Neuropathy, Primary culture.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: ESQUEMA REPRESENTATIVO DA ESTRUTURA DENTÁRIA.....	19
FIGURA 2: EXTRAÇÃO DOS TECIDOS PULPARES.....	26
FIGURA 3: MICROSCOPIA DE LUZ INVERTIDA DAS CULTURAS PRIMÁRIAS DE DPSCS.	28
FIGURA 4: LINHA DO TEMPO DE MICROSCOPIA DE LUZ INVERTIDA DAS DPSCS DIFERENCIADAS EM CÉLULAS NEURÔNIO-LIKE.	33

Lista de abreviaturas e siglas

α -MEM – *Alpha modified eagle medium*

ASCO – do inglês, *American Society of Clinical Oncology*

BME - Betamercaptoetanol

DMEM – *Dubelco's modified eagle medium*

DNA – Ácido desoxirribonucléico

DPSC – do inglês, *dental pulp stem cells*

EDTA - Ácido etilenodiamino tetra-acético

ERO – Espécie reativa de oxigênio

GRD - gânglio da raiz dorsal

MC – Meio de cultura

NFG – fator de crescimento do nervo. Do inglês, *nerve growth fator*

NPIQ – Neuropatia periférica induzida por quimioterápicos

PPAR- γ - isoforma γ do receptor ativado por proliferadores peroxissomais

rpm - rotações por minutos

SFB – Soro fetal bovino

SNC – Sistema nervoso central

SNP – Sistema nervoso periférico

TCLE – Termo de consentimento livre e esclarecido

TRP – do inglês, *Transitor receptor potencial*

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	15
MODELOS <i>IN VITRO</i> DE NEUROTOXICIDADE	16
POLPA DENTÁRIA.....	17
CÉLULA-TRONCO DA POLPA DENTÁRIA	19
DPSC COMO MODELO PARA ESTUDO DE NEUROTOXICIDADE E NEUROPROTEÇÃO.....	20
OBJETIVOS	22
OBJETIVO GERAL	22
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	22
METODOLOGIA.....	23
MATERIAIS	23
OBTENÇÃO DO TECIDO PULPAR – EXTRAÇÃO E CULTURA	23
ENSAIO DE DIFERENCIAÇÃO DAS DPSCs EM CÉLULAS NEURÔNIO-LIKE	24
RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
ESTABELECIMENTO DE CULTURA DE CÉLULAS-TRONCO DA POLPA DENTÁRIA – PROTOCOLO DE EXTRAÇÃO E CULTURA.....	25
CÉLULAS-TRONCO DA POLPA DENTÁRIA HUMANA	28
ESTABELECIMENTO DE CULTURA DE CÉLULAS-TRONCO DA POLPA DENTÁRIA – PROTOCOLO DE DIFERENCIAÇÃO	29
ALTERNATIVAS DE MODELOS PARA ESTUDO DE DOENÇAS NEURODEGENERATIVAS	34
LIMITAÇÕES DO ESTUDO.....	35
CONCLUSÃO	36
REFERÊNCIAS	37
ANEXOS.....	41
ANEXO 1 – DOCUMENTO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	41
ANEXO 2 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – TCLE....	43

INTRODUÇÃO

A neurotoxicidade induzida por quimioterápicos é um evento adverso comum que ocorre durante o tratamento do câncer (1). Diferentes classes de quimioterápicos são neurotóxicas, como por exemplo, os fármacos modificadores da dinâmica dos microtúbulos, tais como os taxanos (ex.: paclitaxel e docetaxel), os alcaloides da vinca (ex.: vincristina), os fármacos inibidores do proteassoma (ex.: bortezomibe), inibidores da angiogênese (ex.: talidomida) e agentes intercalantes de DNA, como os derivados da platina (ex.: cisplatina e oxaliplatina)(2,3).

A neurotoxicidade gerada em decorrência do tratamento com esses medicamentos manifesta-se de acordo com a localidade que será afetada do sistema nervoso. Quando esses efeitos estão associados ao sistema nervoso central (SNC), a sintomatologia apresentada está relacionada à disfunção cognitiva, que afeta a memória, atenção, concentração e a velocidade do raciocínio do paciente, que é conhecida como “*chemobrain*” ou “*chemofog*” (4). Entretanto, quando o sistema nervoso periférico (SNP) é afetado, damos à essa o nome de neuropatia periférica induzida por quimioterápicos (NPIQ). Esta constitui uma complicação clínica relevante, pois pode limitar a continuidade do tratamento antitumoral em decorrência da sua sintomatologia, que inclui eventos adversos como parestesia, dor neuropática, perda de propriocepção e sensibilidade ao calor e ao frio (5,6). Esse efeito adverso apresenta um fator de comprometimento devido a sua severidade, uma vez que essa neurotoxicidade é dose-dependente, ou seja, a sua gravidade pode ser exacerbada de acordo com a progressão do tratamento antitumoral (7,8)

Até o momento, não existem terapias capazes prevenir ou curar essa condição, entretanto, a Associação Americana de Oncologia Clínica (do inglês, *American Society of Clinical Oncology* - ASCO) recomenda apenas o uso de duloxetina, um fármaco antidepressivo, inibidor seletivo de recaptação de serotonina e noradrenalina nos casos em que a dor neuropática já está estabelecida (9).

Em recente revisão de literatura, Mezzanotte *et al* 2022 (10), apresentam os atuais tratamentos farmacológicos e não farmacológicos que podem auxiliar no manejo desses efeitos adversos, ainda que não haja cura, podem contribuir para o controle dos efeitos. Além do tratamento farmacológico anteriormente supracitado, a revisão cita ferramentas terapêuticas que podem ajudar a melhorar a qualidade de vida do paciente com NPIQ, como a prática de exercícios físicos, uma dieta e estilo

de vida mais saudáveis, acupuntura, crioterapia, fisioterapia e eletroestimulação específica. No entanto, há a necessidade de evidências científicas mais robustas, com pesquisas de fase 3 e 4, com estudos randomizados e coortes maiores para correlacionar esses tratamentos à melhora dos sintomas dos efeitos adversos da NPIQ.

A fisiopatologia da NPIQ permanece parcialmente elucidada, pois já há descrito na literatura alguns dos seus mecanismos, como degeneração axonal, disfunção em canais iônicos (através da modulação negativa dos quimioterápicos na atividade de sódio e potássio), disfunção no receptor de potencial transitório (do inglês, *transient receptor potential* - TRP), alterações nos microtúbulos e comprometimento mitocondrial em neurônios aferentes primários (esses são induzidos por agentes à base de platina intensificando a produção de espécies reativas de oxigênio - EROs, que resulta em lesões de enzimas, proteínas e lipídios neuronais, além de perturbar a homeostase do cálcio) (11). Esse conjunto de eventos culmina em diferentes alterações, tais como a sensibilização de nociceptores que, em associação com o acúmulo de espécies reativas de oxigênio, pode gerar além da neuroinflamação, danos à barreira hematoencefálica, além dos mecanismos associados à degeneração axonal dos nervos periféricos (12,13).

Nesse contexto, modelos de estudo de neurotoxicidade *in vitro* têm se mostrado fundamentais tanto para a compreensão dos processos de neurotoxicidade induzidos por quimioterápicos, quanto para a investigação de potenciais agentes neuroprotetores. Nessa perspectiva, nosso grupo já desenvolveu estudos de neuroproteção frente à toxicidade da cisplatina utilizando o extrato aquoso das folhas de *Eugenia dysenterica* (dados não publicados) e a ativação da isoforma γ do receptor ativado por proliferadores peroxissomais (PPAR- γ), conforme descrito por Oliveira *et al.* 2022(14).

MODELOS *in vitro* DE NEUROTOXICIDADE

A criação de modelos para estudo da NPIQ tem se mostrado emergente, considerando a estimativa de 704 mil novos casos de câncer no Brasil entre 2023 e 2025 (15), o que aumenta a prevalência dessa complicação associada ao tratamento farmacológico e compromete a qualidade de vida dos pacientes. Dentre os trabalhos

que investiguem NPIQ, há utilização de culturas primárias de células do gânglio da raiz dorsal (GRD) de ratos e camundongos (14,16). Contudo, a utilização desse modelo apresenta limitações significativas, incluindo o elevado custo de manutenção, necessidade de infraestrutura específica (como biotérios, estantes ventiladas, substratos e insumos adequados), demanda por profissionais especializados (técnicos e veterinários) e a exigência de procedimentos de eutanásia animal, o que aumenta a complexidade técnica. Além disso, a Universidade de Brasília (UnB) não dispõe de um biotério de produção de animais, sendo dessa forma, incapaz de suprir a comunidade acadêmica com os animais necessários, restringindo ainda mais a viabilidade do uso rotineiro dessas culturas. Além desse modelo de cultura de células primárias, há a possibilidade de realizar cultivo de células imortalizadas, uma vez que modelos com essas linhagens já são amplamente difundidos em função da facilidade no estabelecimento e na diferenciação celular (17,18). Entretanto, vale ressaltar que essas células possuem modificações genéticas importantes, o que pode limitar a interpretação dos dados apresentando uma menor representatividade fisiológica.

Assim, a busca por modelos experimentais que possam ser utilizados para o estudo da neurotoxicidade induzida por quimioterápicos continua sendo essencial. Nesse contexto, o uso da polpa dentária, um tecido frequentemente extraído e descartado, pode ser empregado para o desenvolvimento de modelos experimentais, representando um recurso valioso para a ciência e para a sociedade.

POLPA DENTÁRIA

O dente é classificado como um órgão que pode ser anatomicamente dividido em duas regiões quanto à sua estrutura macroscópica, a região superior externa conhecida como coroa, e a porção inferior, também conhecida como raiz (Figura 1). A camada mais externa da coroa dentária é o esmalte, tecido mais duro do corpo humano, formado por um processo chamado de amelogenese, em que há deposição da matriz do esmalte em decorrência da ação dos ameloblastos, células epiteliais diferenciadas (19), conforme pode ser apreciado em detalhes na Figura 1. A composição do esmalte maduro, isto é, quando há finalização da deposição da referida matriz, é de 95% de material mineral, em sua maior parte, hidroxiapatita, 1-2% de material orgânico e 2-4% de água (20). O esmalte apresenta em sua estrutura

translucidez como característica, deixando a mostra a cor amarelada da dentina subjacente. Apesar de ser o tecido mais duro do corpo humano, o esmalte é extremamente friável, sendo esse aspecto compensado pelas características estruturais da dentina.

A dentina possui sua origem tecidual do ectomesênquima, é o tecido mineralizado mais volumoso do dente, que apresenta densidade mineral maior em comparação com o tecido ósseo e possui íntima relação com o esmalte dentário, em que confere sustentação e resiliência necessária para diminuir os riscos de fratura dessa estrutura. Seu conteúdo mineral é constituído por 70% de cristais de hidroxiapatita, 20% de matriz orgânica e 10% de água. Essa estrutura é avascular e não apresenta células em sua composição, apenas prolongamentos dos odontoblastos, células responsáveis pela formação e manutenção da dentina, que se localizam na periferia da polpa dentária (21).

A polpa dentária é a estrutura mais interna do órgão dentário (Figura 1) que, em conjunto com a dentina, formam o complexo dentino-pulpar. Ela é constituída por um tecido conjuntivo frouxo e apresenta em sua matriz extracelular um componente fibroso, em sua maior parte formado por colágeno tipo I e tipo III. Apresenta diversos tipos celulares, tais como fibroblastos, odontoblastos, células especializadas do complexo dentino-pulpar e células de defesas do sistema imunológico, como macrófagos e linfócitos, além de terminações nervosas e pequenos vasos sanguíneos, os quais acessam o dente através do forame apical e são importantes na manutenção de sua estrutura (22,23). Outras células importantes presentes nesse tecido, são as células-tronco da polpa dentária (do inglês, *dental pulp stem cells* – DPSCs), células indiferenciadas multipotentes, como apresentado na próxima sessão.

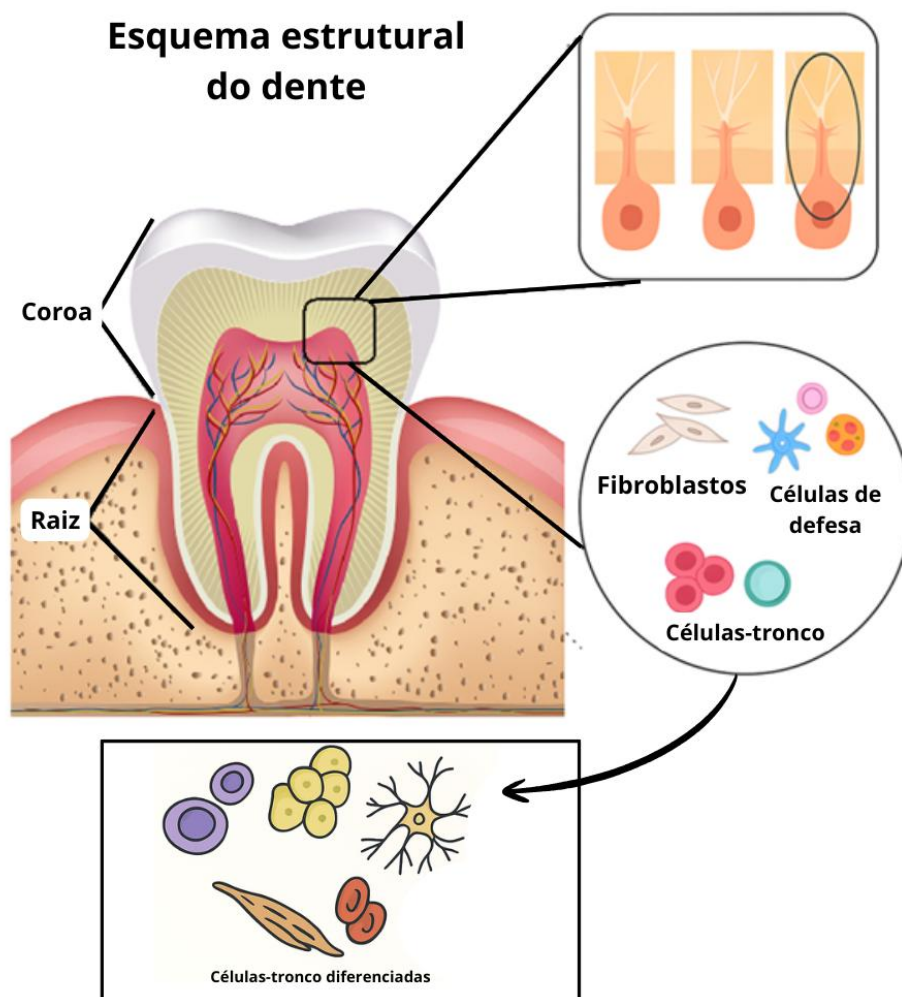


Figura 1: Esquema representativo da estrutura dentária. Estrutura dentária dividida em coroa e raiz. Células odontoblásticas depositam a matriz dentinária em direção a polpa dentária. A polpa dentária possui diversas populações celulares, tais como fibroblastos, células de defesa do sistema imunológico, e as células-tronco da polpa dentária, que podem ser diferenciadas em diversos outros tipos celulares, como apresentado no destaque. Fonte: autoria própria.

CÉLULA-TRONCO DA POLPA DENTÁRIA

Células-tronco podem ser obtidas a partir de diferentes tecidos humanos, como tecido adiposo, cordão umbilical e medula óssea, por exemplo. Após a descoberta das células-tronco na medula óssea, diversos estudos foram direcionados para a identificação de células semelhantes em outros tecidos mesenquimais, como por exemplo, na gengiva, ligamento periodontal e na polpa dentária (24). Diferentemente da medula óssea e do tecido adiposo, que requerem procedimentos invasivos para sua coleta, que é um fator limitante para sua ampla utilização, os dentes constituem

uma fonte factível de células-tronco, pois essas estão localizadas na polpa dentária, são frequentemente retiradas em razão da extração dentária por razões clínicas e são comumente descartadas.

Essas células podem ser obtidas por meio de procedimentos rotineiros que possuem menor impacto frente a outros processos de obtenção de células-tronco (25). Elas apresentam elevada capacidade de diferenciação multipotente, em células de diferentes linhagens, podendo ser aplicadas em diversos campos da ciência, como na medicina regenerativa (26). Sendo utilizadas também em culturas neuronais. A capacidade de diferenciação nessa linhagem se dá através de sua origem embriológica única, derivada do ectomesênquima da crista neural, o mesmo tecido originário de várias partes do sistema nervoso, as conferindo propriedades mesenquimais e neurais (27). Essas últimas, são úteis para investigar diversas condições de neurotoxicidade, como a neuropatia periférica induzida por quimioterápicos (NPIQ), foco desse trabalho.

DPSC COMO MODELO PARA ESTUDO DE NEUROTOXICIDADE E NEUROPROTEÇÃO

As células-tronco da polpa dentária, denominadas *dental pulp stem cells* (DPSCs), foram inicialmente isoladas por Gronthos e colaboradores (2000) nos Estados Unidos. Essas células apresentam cultivo já bem estabelecido, são de fácil acesso em relação à outros métodos de obtenção de células-tronco primárias e destacam-se por sua alta taxa proliferativa, autorrenovação e capacidade multipotente de diferenciação em diversas linhagens celulares, características que sustentam seu uso em diversas aplicações da medicina moderna (29). Tais propriedades tornam as DPSCs uma ferramenta relevante para a investigação da fisiopatologia de diferentes doenças, além de estudos em biologia molecular, fisiologia e farmacologia. Com o avanço das pesquisas nessa área, tornou-se possível, por exemplo, avaliar fármacos e compostos com potencial efeito neuroprotetor (30).

Essas células são amplamente reconhecidas por seus benefícios, especialmente pela capacidade de diferenciação em múltiplas linhagens diferentes, podendo diferenciar-se em osteoblastos, cementoblastos, fibroblastos, adipócitos e condrócitos, por exemplo (31). Além disso, essas células apresentam capacidade de

diferenciação em células neurônio-*like*, em que há surgimento de características fenotípicas de neurônios, como o desenvolvimento de neuritos e excitabilidade elétrica, quando expostas à diversas moléculas, tais como ácido retinóico, fator de crescimento do nervo (NGF) e também pela privação de soro (32,33)

Assim, o estabelecimento de modelos de culturas primárias de DPSCs para o estudo da NPIQ mostra-se fundamental, considerando o aumento da incidência de câncer e, conseqüentemente, do uso de antitumorais associados a esse evento adverso. Além disso, as DPSCs representam uma alternativa mais acessível e sustentável para investigações futuras de compostos com potencial neuroprotetor, visto que não necessitam de grandes estruturas físicas, de equipamentos apropriados, da realização de eutanásia de animais, a sua obtenção não gera risco significativo de vida para o paciente, são culturas mais baratas, de origem humana, e por fim, não apresentam origem tumoral, como em linhagens imortalizadas.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Estabelecer modelo de cultura primária de células-tronco da polpa dentária (DPSCs) para estudos de neurotoxicidade induzida por quimioterápicos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Definir e avaliar protocolo para extração de DPSCs;
- Definir e avaliar protocolo para cultura de DPSCs;
- Definir e avaliar protocolo para diferenciação em células neurônio-*like* de DPSCs.

METODOLOGIA

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília, através do CAEE: 86509824.6.0000.0030 (ANEXO 1). O Termo de Compromisso Livre e Esclarecido (TCLE) encontra-se no Anexo 2.

MATERIAIS

Os reagentes penicilina, estreptomicina, anfotericina B, fator de crescimento do nervo (do inglês, NGF), L-glutamina, collagenase tipo 1, glicose, solução salina tamponada com fosfato (PBS), tripsina - (Ácido etilenodiamino tetra-acético – EDTA), β -mercaptoetanol (BME) foram adquiridos da empresa Sigma-Aldrich (Oakville, Canadá). O meio de cultura (MC) Dulbecco Modified Eagle Medium (DMEM), meio F12 e o soro fetal bovino (SFB) foram obtidos da empresa Gibco®, Life Technologies (Carlsbad, EUA). Os materiais cirúrgicos utilizados foram bisturi, fórceps 16, cureta periodontal gracey 11/12 e pinça clínica Quinelato® (Rio Claro, Brasil). As placas de 6, 12 e 24 poços utilizadas foram adquiridas da Kasvi® (São José dos Pinhais, Brasil).

OBTENÇÃO DO TECIDO PULPAR – EXTRAÇÃO E CULTURA

Os tecidos pulparem foram coletados de terceiros molares provenientes de 22 pacientes jovens, com idade entre 18 e 35 anos, cujas extrações foram realizadas por indicação clínica. A cessão dos dentes foi autorizada mediante assinatura do Termo de TCLE. Apenas dentes hígidos foram utilizados nesta pesquisa, isto é, sem comprometimento por cárie ou doença periodontal. Os dentes foram transportados em meio de transporte utilizando DMEM suplementado com 20% de SFB, 100U/mL de penicilina, 100 μ g/mL de estreptomicina e 1% de anfotericina B, sendo mantidos em banho de gelo até o momento da remoção do tecido pulpar e cultivo.

ENSAIO DE DIFERENCIAÇÃO DAS DPSCs EM CÉLULAS NEURÔNIO-LIKE

Para o estabelecimento do protocolo de diferenciação, foram selecionados dois estudos da literatura como referência. No primeiro, Darabi *et al*, 2019 (33) realizaram a diferenciação de DPSCs em células neuronais utilizando um protocolo em duas etapas: pré-indução com BME (1mM) por 48 horas; e indução propriamente dita com NGF, empregando uma curva dose-resposta (1, 25, 50 e 100ng/mL). No segundo estudo, Ariffin *et al* 2013 (32) induziram a diferenciação de DPSCs através da privação do SFB, em que foram plaqueadas $1,0 \times 10^5$ células em placas de 24 poços. Após 24 horas de incubação, as células foram lavadas com PBS 1X e cultivadas em meio α -MEM sem soro por cinco dias.

Com base nesses protocolos, realizamos adaptações para adequá-los às condições do presente estudo. Inicialmente, foram contadas $1,2 \times 10^5$ células a serem plaqueadas em 8 poços de placas de 24 poços, sendo assim distribuído $1,5 \times 10^4$ células em cada poço.

Baseado no primeiro protocolo, a indução foi iniciada após 48 horas, com a adição de BME (1mM) no MC. Após 24 horas, o meio de pré-indução foi removido, o poço lavado com PBS 1X, ao MC foi acrescido NGF na concentração de 100ng/mL e adicionado às células. O período total de diferenciação foi de 3 dias, com troca do meio contendo NGF após 2 dias.

No protocolo adaptado de Ariffin *et al*. 2013 (30), o meio DMEM presente na placa previamente preparada foi descartado, as células foram lavadas com PBS 1X e à elas o meio DMEM sem soro foi adicionado. A diferenciação foi conduzida por 4 dias, com trocas de meio a cada 2 dias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

ESTABELECIMENTO DE CULTURA DE CÉLULAS-TRONCO DA POLPA DENTÁRIA – PROTOCOLO DE EXTRAÇÃO E CULTURA

Estabelecer uma nova linhagem de cultura celular em um laboratório mostra-se uma tarefa desafiadora, uma vez que demanda a aquisição de novos materiais específicos, a adaptação e desenvolvimento de novos fluxos de trabalho, além da elaboração de um protocolo adequado à realidade experimental. Para tanto, torna-se essencial integrar a experiência prática adquirida no cotidiano laboratorial com as evidências disponíveis na literatura científica. Assim, constitui esse processo desenvolver o conjunto de procedimentos empregados para se definir o sucesso de um cultivo celular e padronizar o processo de trabalho, a periodicidade de troca de meio, os materiais, soluções e reagentes necessárias para a manutenção e a expansão dessa linhagem. Todas essas etapas são indispensáveis para o estabelecimento e a realização de experimentos com uma nova linhagem celular, especialmente quando este cultivo é oriundo de tecidos retirados de animais vivos, isto é, cultivo de células primárias, pois além de necessitar de procedimentos adicionais, demandam medidas mais cautelosas e atenção redobrada em diversas etapas de seu estabelecimento, já que as células não foram manipuladas anteriormente em laboratório.

Para proceder à extração da polpa dentária, os dentes obtidos foram acondicionados no meio de transporte e mantidos a 4°C até o momento do procedimento em laboratório (Figura 2A). Inicialmente, o meio de transporte foi descartado e o dente lavado por 3 vezes com PBS 1X. Após a lavagem, fraturou-se a coroa e a raiz do dente utilizando um extrator fórceps nº 16, que foi posicionado em sulco transversal abaixo da junção amelocementária, como mostrado pela linha tracejada em amarelo (Figura 2B). Após fraturado, foi possível ter acesso às porções coronária e radicular da polpa dentária, que foi cuidadosamente removida com auxílio de pinças, sondas e curetas periodontais compatíveis com o tamanho da câmara pulpar (Figura 2C-F).

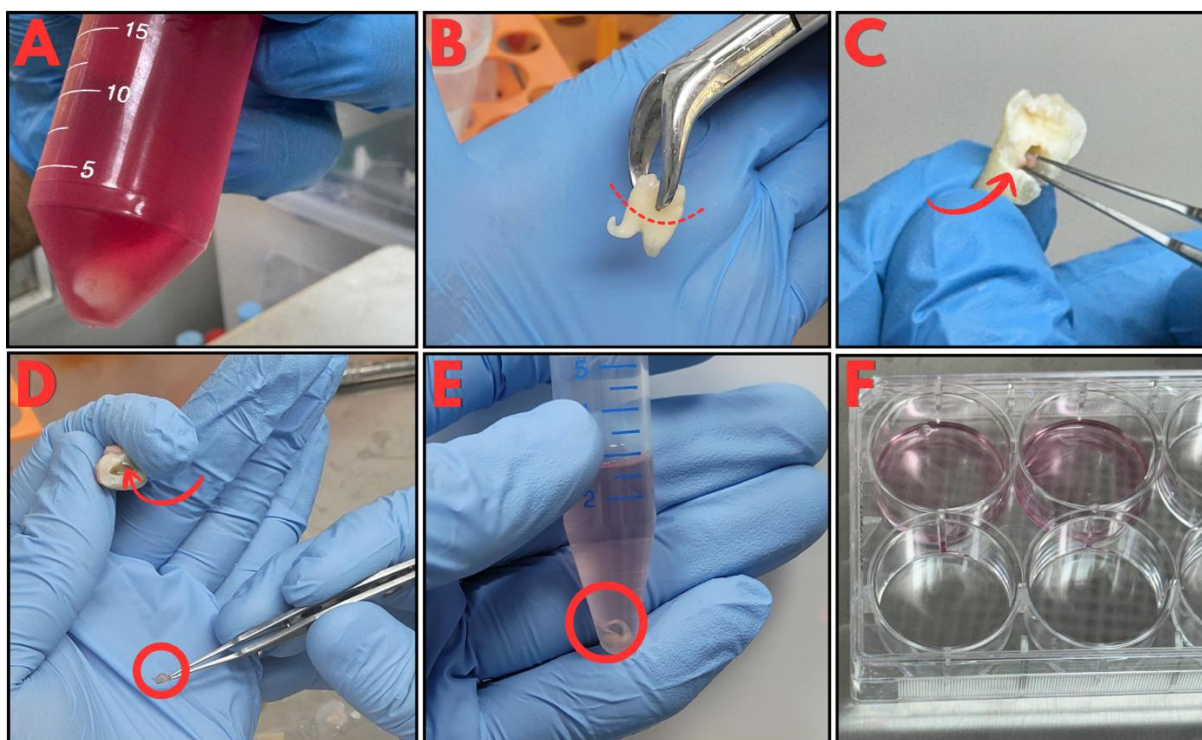


Figura 2: Extração dos tecidos pulpare. **A)** Dente em tubo cônico, imerso em meio de transporte. **B)** Posição do fórceps na junção amelocementária (linha pontilhada) para a secção do dente. **C)** Câmara pulpar após a secção do dente e exposição da polpa coronária (seta). **D)** Forame radicular após a retirada do tecido pulpar (seta) e polpa removida com auxílio de pinça (círculo). **E)** Tecido pulpar imerso em solução de collagenase tipo 1 (círculo) **(F)** As células foram plaqueadas e levadas pra incubadora. Fotos de autoria própria.

Para a extração das células DPSC a partir da polpa, avaliamos dois protocolos diferentes: *explant* e extração enzimática.

A obtenção de células através da técnica do *explant* é bastante conhecida e aplicada na literatura em trabalhos de cultivo celular primário de diversos tecidos, segundo revisado por Hendijani *et al*, 2017 (34). A técnica baseia-se na fragmentação do tecido de interesse, seguida de sua adesão em placas de cultivo, permitindo que as células presentes migrem a partir do fragmento tecidual para a superfície da placa, conforme mostrado por Huang *et al*, 2006 (35). Em um primeiro momento, realizamos alguns experimentos utilizando protocolos de laboratórios colaboradores, que focavam principalmente na técnica de *explant*, mas com algumas adaptações, como por exemplo, realizavam a adesão do tecido na placa através da formação de ranhuras, em contraste com a técnica da adesão por uso de lamínulas. Ao realizarmos esta técnica, não obtivemos sucesso, pois os tecidos frequentemente perdiam a aderência à placa, e as células demoraram para migrar nos poços, possivelmente por utilizar um

tamanho de tecido maior e pelo pouco tempo de adesão à placa. Acreditamos que a sensibilidade da técnica e a inexperiência do operador, por ser uma técnica de cultivo utilizado pela primeira vez, possa ter contribuído para o insucesso inicial. Assim, optamos por utilizar o método de processamento enzimático por collagenase tipo 1 e posterior processamento mecânico, como descrito a seguir.

Para extração enzimática, adaptamos o protocolo de Vishniwanath *et al*, 2013 (36), que empregaram collagenase tipo I para a obtenção das células dos tecidos pulpare. No entanto, introduzimos modificações baseado em experiências prévias do nosso grupo de pesquisa com culturas primárias, a fim de preservar a viabilidade celular. Para tanto, após retirada a polpa, a seccionamos com lâmina de bisturi em diversos fragmentos e esses foram colocados em tubo cônico contendo collagenase tipo 1 na concentração de 0,125% diluída em meio F12 e, em seguida, acondicionado em incubadora a 37°C por 60 minutos.

Após o processamento enzimático, foi realizada homogeneização em agitador do tipo vórtex por 30 segundos e centrifugação a 3000 rotações por minutos (rpm) por 3 minutos. Este procedimento induz a formação de um *pellet* de tecido, que foi reservado após o descarte do sobrenadante e, em seguida, as células foram ressuspensas em 1mL de MC para a realização do processamento mecânico. Para esse, foram utilizadas pipetas *pasteur* de vidro previamente condicionadas (diminuiu-se o diâmetro da sua menor extremidade e removeu-se as bordas cortantes através do aquecimento da ponta da pipeta em uma fonte de calor), realizando o processamento do tecido por 10 vezes em cada um dos diâmetros (foram utilizados 2 diâmetros diferentes).

Após a dissociação do tecido, as células foram plaqueadas em placas de 12 ou 24 poços, a depender do tamanho inicial das polpas obtidas e foi adicionado mais 1mL de MC, totalizando 2 mL em cada poço.

Com o estabelecimento da cultura, a manutenção celular foi realizada com DMEM com 10% de SFB até a expansão celular. Para expansão da cultura celular, o DMEM foi descartado e as células lavadas com 1 mL de PBS 1X. Posteriormente, foi adicionado 0,25mL de tripsina-EDTA 0,5% por 2 minutos para que as células fossem desaderidas e, após esse processo, foram coletadas e centrifugadas a 3000 rpm por 2 minutos para obtenção de um *pellet* de células. O sobrenadante foi descartado e em seguida, as células foram ressuspensas em quantidade adequada de MC e, posteriormente, alocadas em garrafas maiores para induzir expansão celular até a sexta passagem.

CÉLULAS-TRONCO DA POLPA DENTÁRIA HUMANA

Obtivemos sucesso no estabelecimento da cultura com o protocolo enzimático em nosso laboratório e, portanto, o adotamos para os ensaios subsequentes, conforme apresentado na Figura 3. Após o plaqueamento celular descrito anteriormente, iniciamos a sua expansão com troca do MC a cada 2 ou 3 dias. Sempre antecedente à troca do meio, as células foram visualizadas e analisadas em microscópio de fase invertida, quantitativamente em relação à sua confluência e qualitativamente em relação à sua morfologia. Após 3 dias de plaqueamento, foi possível observar o aspecto geral da cultura com as células já aderidas.

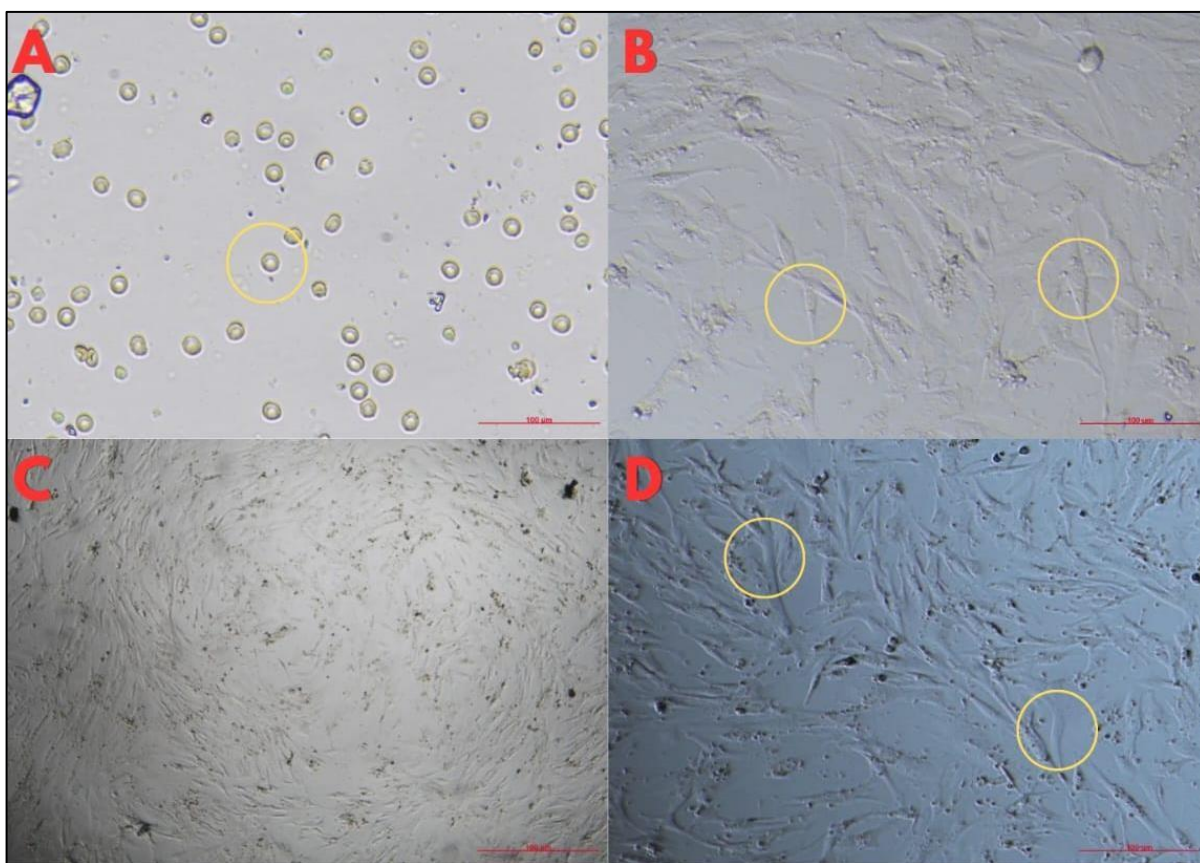


Figura 3: Microscopia de luz invertida das culturas primárias de DPSCs. A) Morfologia geral das DPSCs após 3 dias de cultivo celular apresentando células circulares com núcleo bem delimitado, conforme indicado no círculo amarelo (aumento de 100x). **B)** Morfologia geral da cultura primária de DPSCs após 7 dias de cultivo, apresentam crescimento e desenvolvimento de células DPSCs com morfologia *fibroblasto-like* (círculo amarelo). **(C)** Morfologia geral da cultura primária de DPSCs após 14 dias de cultivo com a placa com 95% de confluência. **(D)** Morfologia aproximada das células (aumento 100x) demonstra o crescimento das células DPSCs (círculo amarelo). Fotos de autoria própria.

Na Figura 3A, podemos observar a morfologia circular, com o núcleo e citoplasma bem demarcados, sendo que esse primeiro ocupa quase a totalidade da célula. Nesse período, por toda a placa, ainda era possível observar alguns debris do tecido pulpar, que foram posteriormente removidos em decorrência das trocas de meio de cultura. Após 7 dias de cultivo, foi possível identificar a morfologia das DPSCs típica de fibroblasto-like com os prolongamentos fibroblásticos ao redor do tecido pulpar (Figura 3B), conforme descrito por Gronthos *et al.* (28), em 2000. Após 14 dias de cultivo, as células alcançaram uma confluência de 80%, sendo necessária realizar sua expansão e passagem celular (Figura 3C). Já na Figura 3D, com aumento de 100x, observamos uma visualização mais detalhada das células, evidenciando sua morfologia semelhante à de fibroblastos, além de permitir a observação de seus núcleos. As DPSCs são descritas na literatura como células de alta proliferação e crescimento rápido, entretanto esse aspecto só se faz presente quando as células são adicionadas em poços com diâmetro de até 15,6mm (placa de 24 poços) ou 22,2mm (placas de 12 poços), limitando seu espaço para que haja um volume maior de interação célula-célula, culminando em sua expansão com as células mais agregadas. Observamos que o contrário também ocorria, pois quando havia pouca interação entre as células devido ao espaço entre elas, apresentava demora na expansão celular. Neste momento, é descrito que as células entram em estado de senescência, com redução da atividade proliferativa, gerando demora na expansão, diferenciação prejudicada, estresse oxidativo, disfunção mitocondrial e regulação epigenética, segundo revisado por Zhang *et al*, 2025 (37).

Também observamos que nas primeiras trocas de MC, havia perda celular em decorrência da ausência de adesão de células na placa, porém, o uso de laminina na concentração de 1mg/mL, por uma hora antes de iniciar o plaqueamento dos tecidos como fator de adesão nas placas de cultura não gerou benefício quanto a esse aspecto. A laminina é uma proteína que apresenta diversas funções, como proliferação, migração e na adesão celular utilizado em diversas culturas celulares, como a exemplo dos GRD (38,39). Apesar de seu uso estabelecido em cultura primária de células de GRD, em nossa experiência com DPSC não obtivemos o mesmo resultado.

Dos 22 dentes utilizados, foi possível obter sucesso no estabelecimento do cultivo em 5 tecidos pulpare.

ESTABELECIMENTO DE CULTURA DE CÉLULAS-TRONCO DA POLPA

DENTÁRIA – PROTOCOLO DE DIFERENCIAÇÃO

Para este estudo, selecionamos dois protocolos publicados, conforme descrito anteriormente na metodologia. A escolha baseou-se no objetivo central da pesquisa, a diferenciação de DPSCs em neurônios visando sua aplicação em estudos de neurotoxicidade associada a quimioterápicos, considerando a disponibilidade de reagentes e a viabilidade de utilização de protocolos menos dispendiosos descritos na literatura.

No primeiro protocolo, Darabi *et al.* 2019 (33) realizaram a diferenciação das DPSCs em células neuronais colinérgicas em duas etapas, pre-indução e indução. A primeira consistiu no tratamento das células com 1mM de β -mercaptoetanol (BME) por 48 horas, seguido da etapa de indução com NGF, empregando uma curva concentração-efeito (1, 25, 50 e 100ng/mL). A validação da diferenciação foi realizada pela técnica de imunocitoquímica, com avaliação da expressão de marcadores neuronais, como nestina, neurofilamento 160 (NF160), microtúbulos associados à proteína 2 (MAP2) e colina acetiltransferase. O segundo protocolo foi feito por Ariffin *et al.* (40), que induziram a diferenciação de DPSCs de camundongos por meio da privação de soro fetal bovino (SFB). Aproximadamente $1,0 \times 10^5$ células foram plaqueadas em placas de 24 poços contendo meio completo e mantidas por 24 horas para garantir a adesão celular. Em seguida, o meio foi retirado, as células foram lavadas com PBS 1X e cultivadas em α -MEM sem soro por 5 dias, com trocas de meio a cada 2–3 dias. O controle do experimento consistiu em células mantidas em α -MEM completo suplementado com 15% de SFB. A validação incluiu o ensaio de reação em cadeia da polimerase (PCR), que demonstrou amplificação dos clusters de diferenciação CD146 e CD166, marcadores de adesão presentes antes da diferenciação, bem como avaliação da expressão da proteína MAP2 e análise morfológica, que revelou características neurônio-like em cerca de 70% das culturas. Após cinco dias de indução, observou-se aumento na expressão de nestina e amplificação de tubulina β 3.

Com base nesses protocolos, realizamos adaptações para adequá-los às condições do presente estudo. Inicialmente, foram utilizadas apenas células na quarta passagem, que foram posteriormente desaderidas com tripsina-EDTA 0,5% e após contagem, $1,5 \times 10^4$ células foram distribuídas em placas de 8 poços e permaneceram sem troca de meio por 48 horas, sendo 2 controles, e para cada intervenção (privação

de soro e BME-NGF), foram utilizados 3 poços.

O primeiro protocolo de diferenciação avaliado foi conduzido em 2 etapas: pré-indução com BME (1mM) por 24 horas, seguida pela indução com NGF (100ng/mL) por dois dias, até a obtenção do fenótipo neurônio-*like*.

A evolução morfológica das células pôde ser acompanhada ao longo da linha do tempo (Figura 4). No primeiro dia (D1), as células permaneceram em adesão por 48h antes do início dos experimentos, após verificação do formato fibroblasto-*like* dessas células, foi designado o controle. No segundo dia (D2), durante a etapa de pré-indução com BME, as células mantiveram morfologia fibroblasto-*like*. No terceiro dia (D3), observou-se, em aumento de 100×, a alteração morfológica inicial de algumas células, com formação de neuritos, indicando início da diferenciação, como pode ser observado em destaque na Figura 4. Ao final do período de indução (D4), embora a diferenciação tenha ocorrido em um número ainda reduzido de células, a análise da imagem aproximada permitiu identificar morfologia compatível com neurônios, validando parcialmente o protocolo.

O estudo de Darabi *et al.* 2019 (33) apresenta um período total de sete dias de indução, e, segundo os autores, resultando em taxa de diferenciação superior a 70%. Contudo, devido à limitação temporal do presente trabalho, não foi possível desenvolver o protocolo completo. Além disso, os ensaios de imunocitoquímica e PCR, essenciais para confirmar a expressão dos marcadores de diferenciação não puderam ser realizados, constituindo perspectivas para análises complementares em estudos futuros em nosso laboratório.

No segundo protocolo avaliado, adaptado de Ariffin *et al.* 2013 (40), utilizamos DMEM sem SFB. Após 48 horas de adesão (D1), estabelecemos o controle e, então, substituímos o meio completo por DMEM sem soro após lavagem com PBS 1X. No primeiro dia de privação de soro, predominaram células com morfologia fibroblasto-*like*, sem indícios iniciais de diferenciação, observado em microscópio de luz invertida. No D3, em aumento de 100x, foi possível identificar células apresentando morfologia neurônio-*like*, com projeções semelhantes a neuritos. Nesse período, notamos também a presença de células em suspensão, resultado esperado em protocolos de diferenciação por privação de soro, uma vez que essa condição pode induzir estresse celular e alguns autores defendem que, por esse motivo, apresentam uma pseudo morfologia neuronal (41). No último dia (D4), observou-se um pequeno número de células com características neuronais, indicando diferenciação parcial, conforme observado na Figura 4.

Ainda que ambos os protocolos considerados apresentem validações robustas na literatura, não foi possível, no presente estudo, realizar os ensaios de imunocitoquímica e PCR necessários para confirmar a expressão dos marcadores neuronais de forma concludente. Esses testes serão implementados em etapas futuras no laboratório, antes do início dos experimentos voltados à investigação da neurotoxicidade induzida por quimioterápicos.

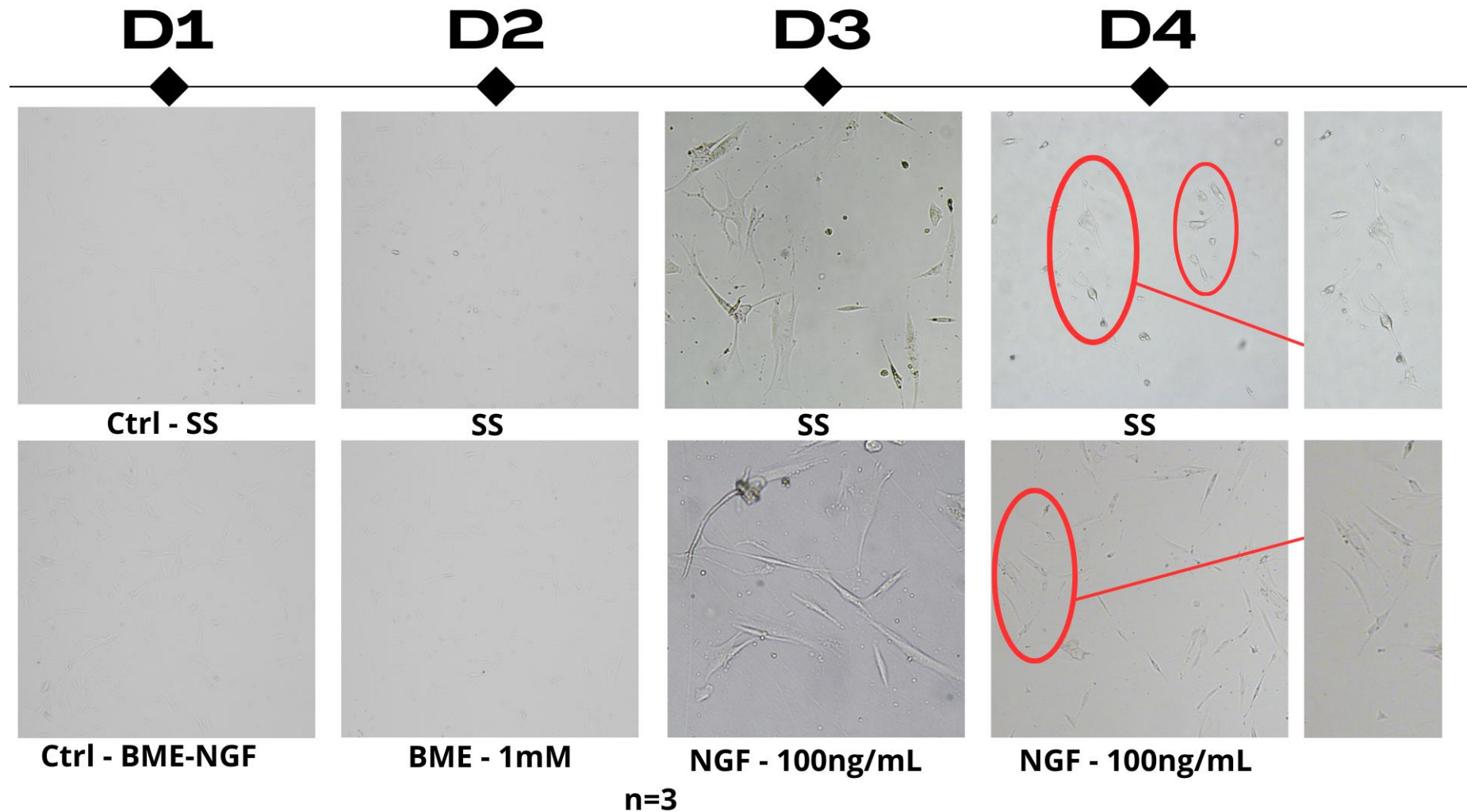


Figura 4: Linha do tempo de microscopia de luz invertida das DPSCs diferenciadas em células neurônio-like. **D1)** Controle (Ctrl) sem soro (SS), apresenta morfologia geral das DPSCs 48h após plaqueamento, apresentando células com formato fibroblasto-like. (aumento de 50x) Ctrl – BME-NGF, apresenta morfologia geral das DPSCs 48h após plaqueamento, apresentando células com formato fibroblasto-like. (aumento de 50x); **D2)** Primeiro dia de indução das células SS - apresentam ainda formato fibroblasto-like, sem alteração das células em primeiro dia de indução (aumento de 50x). Pré indução das células com BME - apresentam ainda formato fibroblasto-like, sem alteração das células em primeiro dia de tratamento (aumento de 50x); **D3)** Segundo dia de indução das células SS, apresentam alteração morfológica inicial de algumas células, com formação de neuritos, indicando início da diferenciação (aumento 100x). Primeiro dia de indução com NGF, apresenta células com morfologia neurônio-like, com projeções semelhantes a neuritos (aumento 100x); **D4)** Células SS com características neuronais, indicando diferenciação, com apresentação de neuritos conforme mostrado no círculo vermelho e evidenciado na imagem em destaque (aumento 100x). Células induzidas por NGF apresentaram ao último dia morfologia compatível com neurônios, conforme mostrado no círculo vermelho e evidenciado na imagem em destaque (aumento de 50x). Fotos de autoria própria.

ALTERNATIVAS DE MODELOS PARA ESTUDO DE DOENÇAS NEURODEGENERATIVAS

Os estudos *in vitro* são amplamente empregados na comunidade científica por possibilitarem a investigação de processos biológicos em condições controladas, os quais podem posteriormente ser observados em pesquisas *in vivo*, incluindo modelos animais, e, futuramente, aplicados em seres humanos em estudos clínicos. Nos últimos anos, visando minimizar os impactos éticos e práticos relacionados ao uso de animais, têm sido enfatizados o princípio dos 3Rs (Replacement, Refinement & Reduction), recomendados pelo *National Centre for the Replacement, Refinement & Reduction of Animals in Research* (42). Esse princípio, traduzido como substituição, refinamento e redução, orientam a comunidade científica a priorizar estratégias experimentais alternativas, como os ensaios *in vitro*, a fim de reduzir a necessidade de modelos animais em experimentação *in vivo*.

Guiados pelo princípio dos 3Rs, estabelecemos o uso das DPSCs como modelo para estudos de neurotoxicidade e neuroproteção. Essa linhagem celular tem sido amplamente empregada na investigação de modelos patológicos associados a doenças neurodegenerativas. Exemplos recentes incluem o estudo de Younes e colaboradores (43), que avaliou o potencial terapêutico do secretoma das DPSCs na esclerose lateral amiotrófica (ELA), e o trabalho de Carvalho *et al.* (44), que utilizou essas células no desenvolvimento de modelos de doenças neurológicas, incluindo a mucopolissacaridose.

Além de sua reconhecida capacidade de autorregeneração em diferentes tecidos, diversos estudos destacam o potencial das DPSCs, demonstrando sua aplicabilidade em processos de regeneração, neuritogênese e axoniogênese, tanto em estudos *in vivo* quanto *in vitro* (45). No entanto, até o momento, não foram encontrados relatos na literatura sobre a utilização dessas células em modelos de NPIQ. Assim, a implementação desse estudo no Laboratório de Ensaios Farmacológicos da Universidade de Brasília reforça a relevância científica e inovadora deste trabalho.

A NPIQ, se apresenta como um evento adverso que tem se configurado como um fator limitante para a continuidade do tratamento antitumoral e impactando diretamente a qualidade de vida dos pacientes (46). Diante disso, torna-se fundamental que a comunidade científica busque estratégias voltadas ao desenvolvimento de fármacos com potencial neuroprotetor, objetivando tanto a prevenção ou a reversão desse quadro. Uma das abordagens promissoras para essa investigação consiste no uso de culturas de células com características neuronais, que podem ser obtidas a partir da diferenciação das DPSCs em células neurônio-like. Essa estratégia não apenas explora o potencial multipotente das DPSCs, mas também possibilita o aproveitamento de um material biológico que seria descartado, contribuindo para o avanço

científico e, simultaneamente, alinhando-se ao princípio dos 3Rs. Para essa diferenciação, a literatura descreve diversos protocolos distintos. Além dos já mencionados, as células podem ser induzidas, por exemplo, à diferenciação em células neuronais colinérgicas por meio de diferentes metodologias, o que evidencia sua notável capacidade de diferenciação. Essa versatilidade tem sido amplamente revisada por autores como Kang e colaboradores (47). Dessa forma, nossos objetivos iniciais foram de estabelecer o cultivo das DPSCs, e posteriormente diferenciá-las em células neurônio-like para realizar experimentos para estudos de NPIQ. Dessa forma, após o estabelecimento da cultura de DPSCs e a diferenciação neuronal, realizaremos nos próximos estudos a validação desses protocolos por meio de ensaios de imunocitoquímica, análise da morfologia e extensão de neuritos, além de investigar os efeitos dos quimioterápicos sobre essas células diferenciadas.

LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Durante a realização do estudo, enfrentamos inúmeras dificuldades para seu desenvolvimento, como descrito a seguir. O primeiro desafio foi a obtenção do aceite do trabalho do comitê de ética, mesmo que tenhamos apresentado a proposta dentro do prazo, obtivemos morosidade burocrática por diversas instituições, o que culminou em postergar o início das coletas dos dentes para a realização dos experimentos. Além disso, enfrentamos desde 2024 dificuldades na infraestrutura da Universidade, em que, por exemplo, tivemos prejuízos em decorrência da instabilidade da rede elétrica, que culminou na perda de reagentes, materiais biológicos e da incubadora de células, equipamento essencial para o cultivo celular em decorrência de quedas constantes de energia elétrica na Faculdade de Ciências da Saúde e pela ausência de gerador de energia elétrica em nosso laboratório. Além disso, o acesso aos pacientes foi dificultado, pois a ala de odontologia do Hospital Universitário de Brasília está sendo reformada em 2025 e durante os meses de junho, julho e agosto enfrentou diversas dificuldades de funcionamento, tendo que ser fechada nos dois últimos meses mencionados, que por fim resultou na baixa quantidade de dentes coletados, totalizando 22. Diante dos problemas enfrentados, o andamento dos experimentos foi afetado, de forma que a realização de algumas atividades fora impeditiva para que finalizássemos todos os objetivos inicialmente propostos.

CONCLUSÃO

Foi possível estabelecer e padronizar o cultivo de DPSCs humanas em nosso laboratório e diferenciá-las em células neurônio-*like*, consolidando-as como modelo experimental para pesquisas em neurotoxicidade e neuroproteção.

REFERÊNCIAS

1. Mauermann ML, Staff NP. Peripheral Neuropathy: A Review. JAMA [Internet]. 17 de novembro de 2025; Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/41247746>
2. Starobova H, Vetter I. Pathophysiology of chemotherapy-induced peripheral neuropathy. Vol. 10, *Frontiers in Molecular Neuroscience*. Frontiers Media S.A.; 2017.
3. Hu LY, Mi WL, Wu GC, Wang YQ, Mao-Ying QL. Prevention and Treatment for Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy: Therapies Based on CIPN Mechanisms. *Curr Neuroparmacol*. 28 de fevereiro de 2018;17(2):184–96.
4. Tamás S, Magdolna D, Gyöngyvér S, Márta V. “Chemobrain”: Kemoterápiával összefüggő neurokognitív zavar. Vol. 27, *Neuropsychopharmacol Hung*. 2025.
5. Baron R, Binder A, Wasner G. Neuropathic pain: Diagnosis, pathophysiological mechanisms, and treatment. Vol. 9, *The Lancet Neurology*. 2010. p. 807–19.
6. Zhai M, Hu H, Zheng Y, Wu B, Sun W. PGC1 α : an emerging therapeutic target for chemotherapy-induced peripheral neuropathy. Vol. 16, *Therapeutic Advances in Neurological Disorders*. SAGE Publications Ltd; 2023.
7. Wolf S, Barton D, Kottschade L, Grothey A, Loprinzi C. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: Prevention and treatment strategies. *Eur J Cancer*. julho de 2008;44(11):1507–15.
8. Cavaletti G, Alberti P, Argyriou AA, Lustberg M, Staff NP, Tamburin S. Chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity: A multifaceted, still unsolved issue. Vol. 24, *Journal of the Peripheral Nervous System*. Blackwell Publishing Inc.; 2019. p. S6–12.
9. Loprinzi CL, Lacchetti C, Bleeker J, Cavaletti G, Chauhan C, Hertz DL, et al. Prevention and Management of Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy in Survivors of Adult Cancers: ASCO Guideline Update [Internet]. Vol. 38, *J Clin Oncol*. 2020. Disponível em: www.cancer.net
10. Mezzanotte JN, Grimm M, Shinde N V., Nolan T, Worthen-Chaudhari L, Williams NO, et al. Updates in the Treatment of Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. Vol. 23, *Current Treatment Options in Oncology*. Springer; 2022. p. 29–42.
11. Zajackowska R, Kocot-Kępska M, Leppert W, Wrzosek A, Mika J, Wordliczek J. Mechanisms of chemotherapy-induced peripheral neuropathy. Vol. 20, *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG; 2019.
12. Maihöfner C, Diel I, Tesch H, Quandt T, Baron R. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy (CIPN): current therapies and topical treatment option with high-concentration capsaicin. *Supportive Care in Cancer*. 23 de agosto de 2021;29(8):4223–38.
13. Park SB, Cetinkaya-Fisgin A, Argyriou AA, Höke A, Cavaletti G, Alberti P. Axonal degeneration in chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity: clinical and experimental evidence. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. novembro de 2023;94(11):962–72.

14. Oliveira HR, Coelho MS, Neves F de AR, Duarte DB. Cisplatin-induced changes in calcitonin gene-related peptide or TNF- α release in rat dorsal root ganglia in vitro model of neurotoxicity are not reverted by rosiglitazone. *Neurotoxicology*. dezembro de 2022;93:211–21.
15. INCA. Estimativa 2023: incidência de câncer no Brasil [Internet]. 2023 [citado 28 de maio de 2024]. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/publicacoes/livros/estimativa-2023-incidencia-de-cancer-no-brasil>
16. Wang CY, Lin TT, Hu L, Xu CJ, Hu F, Wan L, et al. Neutrophil extracellular traps as a unique target in the treatment of chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *EBioMedicine*. 1º de abril de 2023;90.
17. Ceresa C, Nicolini G, Rigolio R, Bossi M, Pasqua L, Cavaletti G. Functionalized Mesoporous Silica Nanoparticles: A Possible Strategy to Target Cancer Cells Reducing Peripheral Nervous System Uptake. *Curr Med Chem*. 1º de maio de 2013;20(20):2589–600.
18. Tarasiuk O, Invernizzi C, Alberti P. *In vitro* neurotoxicity testing: lessons from chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 10 de dezembro de 2024;20(11–12):1037–52.
19. Smith CE, Nanci A. Overview of morphological changes in enamel organ cells associated with major events in amelogenesis. *Int J Dev Biol* [Internet]. fevereiro de 1995 [citado 20 de novembro de 2025];39(1):153–61. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7626402>
20. Lacruz RS, Habelitz S, Wright JT, Paine ML. DENTAL ENAMEL FORMATION AND IMPLICATIONS FOR ORAL HEALTH AND DISEASE. *Physiol Rev* [Internet]. 2017;97:939–93. Disponível em: www.prv.org
21. Linde A, Goldberg M. Dentinogenesis. Vol. 4, *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*. 1993.
22. Yu C, Abbott P V. An overview of the dental pulp: its functions and responses to injury. Vol. 52, *S4 Australian Dental Journal Endodontic Supplement*. 2007.
23. Harichane Y, Hirata A, Dimitrova-Nakov S, Granja I, Goldberg A, Kellermann O, et al. Pulpal progenitors and dentin repair. *Adv Dent Res*. julho de 2011;23(3):307–12.
24. Górski B. Gingiva as a new and the most accessible source of mesenchymal stem cells from the oral cavity to be used in regenerative therapies. *Postepy Hig Med Dosw* [Internet]. 17 de agosto de 2016;70:858–71. Disponível em: <https://publisherspanel.com/ucid/1214383>
25. Grawish ME. Human dental pulp stem/stromal cells in clinical practice. Vol. 16, *World Journal of Stem Cells*. Baishideng Publishing Group Inc; 2024. p. 54–7.
26. Rodríguez-Lozano FJ, Bueno C, Insausti CL, Meseguer L, Ramírez MC, Blanquer M, et al. Mesenchymal stem cells derived from dental tissues. *Int Endod J*. setembro de 2011;44(9):800–6.
27. Rafiee F, Pourteymourfard-Tabrizi Z, Mahmoudian-Sani MR, Mehri-Ghahfarrokhi A, Soltani A, Hashemzadeh-Chaleshtori M, et al. Differentiation of dental pulp stem cells into neuron-like cells. *International Journal of Neuroscience*. 1º de fevereiro de

2020;130(2):107–16.

28. Gronthos S, Mankani M, Brahimi J, Robey PG, Shi S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo [Internet]. Disponível em: www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.240309797
29. Sui B, Wu D, Xiang L, Fu Y, Kou X, Shi S. Dental Pulp Stem Cells: From Discovery to Clinical Application. *J Endod.* 1º de setembro de 2020;46(9):S46–55.
30. Luo L, He Y, Wang X, Key B, Lee BH, Li H, et al. Potential roles of dental pulp stem cells in neural regeneration and repair. Vol. 2018, *Stem Cells International*. Hindawi Limited; 2018.
31. Nuti N, Corallo C, Chan BMF, Ferrari M, Gerami-Naini B. Multipotent Differentiation of Human Dental Pulp Stem Cells: a Literature Review. Vol. 12, *Stem Cell Reviews and Reports*. Humana Press Inc.; 2016. p. 511–23.
32. Zainal Ariffin SH, Kermani S, Zainol Abidin IZ, Megat Abdul Wahab R, Yamamoto Z, Senafi S, et al. Differentiation of dental pulp stem cells into neuron-like cells in serum-free medium. *Stem Cells Int.* 2013;
33. Darabi S, Tiraihi T, Bojnordi MN, Hamidabadi HG, Rezaei N, Zahiri M, et al. Research Paper: Trans-differentiation of human dental pulp stem cells into cholinergic-like neurons via nerve growth factor. *Basic Clin Neurosci.* 1º de novembro de 2019;10(6):609–18.
34. Hendijani F. Explant culture: An advantageous method for isolation of mesenchymal stem cells from human tissues. Vol. 50, *Cell Proliferation*. Blackwell Publishing Ltd; 2017.
35. Huang GTJ, Sonoyama W, Chen J, Park SH. In vitro characterization of human dental pulp cells: Various isolation methods and culturing environments. *Cell Tissue Res.* maio de 2006;324(2):225–36.
36. Vishwanath VR, Nadig RR, Nadig R, Prasanna JS, Karthik J, Pai VS. Differentiation of isolated and characterized human dental pulp stem cells and stem cells from human exfoliated deciduous teeth: An in vitro study. *Journal of Conservative Dentistry.* setembro de 2013;16(5):423–8.
37. Zhang P, Cui Y, Li Z, Liu L, Liu X, Ding X, et al. Senescence of dental pulp stem cells: phenotypes, underlying mechanisms and regulatory molecules. Vol. 38, *Human Cell*. Springer; 2025.
38. Mrówczyńska E, Machalica K, Mazur AJ. Non-integrin laminin receptor (LamR) plays a role in axonal outgrowth from chicken DRG via modulating the Akt and Erk signaling. *Front Cell Dev Biol.* 2024;12.
39. Pakkala T, Virtanen Ismo, Oksanen J, Jones JCR, Hormia M. Function of Laminins and Laminin-Binding Integrins In Gingival Epithelial Cell Adhesion. *J Periodontol.* julho de 2002;73(7):709–19.
40. Zainal Ariffin SH, Kermani S, Zainol Abidin IZ, Megat Abdul Wahab R, Yamamoto Z, Senafi S, et al. Differentiation of dental pulp stem cells into neuron-like cells in serum-free medium. *Stem Cells Int.* 2013;
41. Al-Maswary AA, O'Reilly M, Holmes AP, Walmsley AD, Cooper PR, Scheven BA.

Exploring the neurogenic differentiation of human dental pulp stem cells. PLoS One. 1º de novembro de 2022;17(11 November).

42. The 3Rs [Internet]. [citado 9 de novembro de 2025]. Disponível em: <https://nc3rs.org.uk/who-we-are/3rs#definitions-of-the-3rs>
43. Younes R, Issa Y, Jdaa N, Chouaib B, Brugiotti V, Challuau D, et al. The Secretome of Human Dental Pulp Stem Cells and Its Components GDF15 and HB-EGF Protect Amyotrophic Lateral Sclerosis Motoneurons against Death. Biomedicines. 1º de agosto de 2023;11(8).
44. Carvalho S, Santos JI, Moreira L, Gonçalves M, David H, Matos L, et al. Neurological Disease Modeling Using Pluripotent and Multipotent Stem Cells: A Key Step towards Understanding and Treating Mucopolysaccharidoses. Vol. 11, Biomedicines. MDPI; 2023.
45. Mead B, Logan A, Berry M, Leadbeater W, Scheven BA. Intravitreally transplanted dental pulp stem cells promote neuroprotection and axon regeneration of retinal ganglion cells after optic nerve injury. Invest Ophthalmol Vis Sci. 22 de outubro de 2013;54(12):7544–56.
46. Burgess J, Ferdousi M, Gosal D, Boon C, Matsumoto K, Marshall A, et al. Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy: Epidemiology, Pathomechanisms and Treatment. Vol. 9, Oncology and Therapy. Adis; 2021. p. 385–450.
47. Kang YH, Shivakumar SB, Son YB, Bharti D, Jang SJ, Heo KS, et al. Comparative analysis of three different protocols for cholinergic neuron differentiation in vitro using mesenchymal stem cells from human dental pulp. Anim Cells Syst (Seoul). 4 de julho de 2019;23(4):275–87.

ANEXOS

ANEXO 1 – DOCUMENTO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Estabelecimento de cultura de células-tronco da polpa dentária de humanos para modelo de neurotoxicidade induzida por quimioterápicos

Pesquisador: Djane Braz Duarte

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 86509824.6.0000.0030

Instituição Proponente: FACULDADE DE SAÚDE - FS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 7.586.510

Apresentação do Projeto:

Segundo documento "PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2367740.pdf", postado em 22/04/2025:

"Resumo:

O organismo possui diversas células capazes de se autorrenovarem e diferenciarem em células específicas, que são denominadas células-tronco. Elas se localizam em diversas partes do corpo humano, como no cordão umbilical, na medula óssea e na polpa dentária. Essa última é um tecido de fácil acesso que pode ser extraído por inúmeras razões clínicas em diferentes fases da vida. Esse tecido abriga as células-tronco da polpa dentária (DPSCs), que podem ser utilizadas para o estabelecimento de modelos in vitro de diversas patologias dada à sua capacidade de diferenciação celular multipotente, incluindo em modelos de neurotoxicidade. Um exemplo, é a neuropatia periférica induzida por quimioterápicos (NPIQ), efeito adverso causado pelo tratamento antitumoral, tais como os derivados da platina, taxanos e bortezomibe. Esse importante efeito adverso ainda não possui tratamento preventivo e/ou curativo. Dessa forma, desenvolver ou aprimorar metodologias que permitam estudar este fenômeno é crucial, e as DPSCs apresentam-se como uma potencial ferramenta para o estudo de NPIQ, de neurotoxicidade e neuroproteção."

Endereço: Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília - Campus Darcy Ribeiro

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.910-900

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3107-1947

E-mail: cepfsunb@gmail.com



FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - UNB



Continuação do Parecer: 7.586.510

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2367740.pdf	22/04/2025 16:45:38		Aceito
Cronograma	05_Cronograma.xlsx	22/04/2025 16:44:05	Djane Braz Duarte	Aceito
Outros	CARTA_DE_RESPOSTAS_AS_PENDENCIAS_APONTADAS_PELo_CEP_VICTOR.pdf	19/03/2025 16:36:57	Djane Braz Duarte	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	07_Projeto_de_pesquisa.pdf	19/03/2025 16:35:18	Djane Braz Duarte	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	06_TCLE.pdf	19/03/2025 16:35:06	Djane Braz Duarte	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto_Victor.pdf	13/02/2025 13:37:17	Djane Braz Duarte	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Victor.pdf	13/02/2025 13:32:33	Djane Braz Duarte	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Djane_Duarte.pdf	13/02/2025 13:31:59	Djane Braz Duarte	Aceito
Outros	anuencia_HUB_victor.pdf	13/02/2025 13:27:04	Djane Braz Duarte	Aceito
Declaração de concordância	Termo_de_concordancia_Victor_Emanuel.pdf	13/02/2025 13:21:24	Djane Braz Duarte	Aceito
Declaração de Pesquisadores	03_Termo_de_Responsabilidade_e_Compromisso_do_Pesquisador_Responsavelassinado.pdf	19/06/2024 17:41:47	Djane Braz Duarte	Aceito
Solicitação Assinada pelo Pesquisador Responsável	01_Carta_de_encaminhamento_de_projeto_ao_CEPassinado.pdf	19/06/2024 17:40:20	Djane Braz Duarte	Aceito
Orçamento	04_Planilha_de_orcamento.docx	19/06/2024 17:39:04	Djane Braz Duarte	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília - Campus Darcy Ribeiro

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.910-900

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3107-1947

E-mail: cepfsunb@gmail.com



FACULDADE DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE DA UNIVERSIDADE DE
BRASÍLIA - UNB



Continuação do Parecer: 7.586.510

BRASILIA, 22 de Maio de 2025

Assinado por:
Janine Araki
(Coordenador(a))

Endereço: Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília - Campus Darcy Ribeiro
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.910-900
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3107-1947 **E-mail:** cepfsunb@gmail.com

Página 12 de 12



Faculdade de Ciências da Saúde

Departamento de Farmácia

Página 1/2

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE

Convidamos o(a) Senhor(a) a participar voluntariamente do Projeto de Pesquisa de Iniciação Científica **“Estabelecimento de cultura de células-tronco da polpa dentária de humanos para avaliação de potencial efeito neuroprotetor em neuropatia periférica induzida por quimioterápicos”**, sob a responsabilidade da pesquisadora professora Dra. Djane Braz Duarte. O projeto visa usar células-tronco da polpa dentária para estudar a neuropatia periférica induzida por quimioterápicos, um efeito adverso prevalente em pacientes oncológicos que fazem quimioterapia com alguns medicamentos específicos. A neuropatia periférica é uma alteração dos neurônios que faz com que os pacientes tenham sensação de formigamento, agulhadas ou queimação nas pontas dos dedos das mãos e dos pés e também pode causar dor.

Com essa pesquisa, temos o objetivo de estudar e entender como esse efeito adverso ocorre e avaliar possíveis medicamentos que possam proteger os neurônios das pessoas que fazem quimioterapia.

O(a) senhor(a) receberá todos os esclarecimentos necessários antes e no decorrer da pesquisa e lhe asseguramos que seu nome não aparecerá em nenhuma publicação, sendo mantido o mais rigoroso sigilo pela omissão total de quaisquer informações que permitam identificá-lo(a).

A sua participação se dará por meio da cessão do dente extraído por questões clínicas (fratura, mobilidade etc.) que seriam descartados. O procedimento de retirada do dente (extração) será feito na Unidade de Saúde Bucal do Hospital Universitário de Brasília (USBUC-HUB) e após esse procedimento, o dente será levado em um recipiente estéril para o Laboratório de Ensaios Farmacológicos da Universidade de Brasília (UnB), sob responsabilidade da Prof^a Dra. Djane Braz Duarte. Esse, será cortado ao meio para expor a polpa dentária (material mais interno do dente), que será retirada, lavada com solução estéril e cortada em pequenos pedaços que serão utilizados para se obter células. Depois disso, as células serão estimuladas para serem transformadas em neurônios (as células responsáveis por você sentir dor) e são essas células que vamos utilizar para estudar possíveis medicamentos/remédios para prevenir que pessoas que estejam utilizando quimioterapia desenvolvam dor crônica. Caso haja alguma perda, alteração ou destruição excepcional do material biológico, o participante será informado. A cirurgia da retirada do dente possui procedimentos e duração de tempo variáveis, que serão realizados de acordo com sua necessidade clínica. Entretanto, os procedimentos realizados para a pesquisa serão apenas da coleta do material biológico e assinatura de documentos necessários, com um tempo estimado total de 5 minutos. Uma única visita será necessária para sua realização.

Não há riscos de saúde decorrentes de sua participação na pesquisa, já que o dente a ser cedido já foi extraído. Essa extração será realizada independente do aceite ou não de participação na pesquisa. Os riscos que este estudo poderá oferecer seriam em decorrência da identificação das células do(s) dente(s) com o nome do paciente. Entretanto, para reduzir tais riscos, os dentes coletados serão armazenados com um código numéral, garantindo, assim, a sua confidencialidade (não estando aparente o nome do participante). Em resumo, sua identidade será resguardada. Se o(a) senhor(a) aceitar participar, ajudará no desenvolvimento da ciência no país e no estudo da neuropatia periférica induzida por quimioterapia. A pesquisa em questão não apresenta benefício imediato e direto, entretanto, como benefício futuro há grande importância no desenvolvimento de futuras terapias para uma melhor qualidade de vida de pacientes que fazem quimioterapia e desenvolvem alteração dos neurônios.

O(a) Senhor(a) pode se recusar a responder (ou participar de qualquer procedimento) qualquer questão que lhe traga constrangimento, podendo desistir de participar da pesquisa em qualquer momento sem nenhum prejuízo para o(a) senhor(a). Sua participação é voluntária, isto é, não há pagamento por sua colaboração.

O(a) senhor(a) não terá nenhum custo com a pesquisa, o(a) senhor(a) estará apenas cedendo seu(s) dente(s) com indicação de extração para contribuir com esta pesquisa, consciente de que este(s) dente(s) foi(ram) extraído(s) por indicação clínica. Os dentes e todos os materiais biológicos utilizados nos experimentos a serem descartados serão depositados em uma lixeira específica para resíduos biológicos, contendo um saco branco leitoso com o símbolo internacional de risco biológico. A etiqueta do saco será corretamente preenchida respeitando-se a confidencialidade dos participantes da pesquisa, com as

Participante: _____ Pesquisador Responsável: _____

informações seguindo o modelo estipulado no manual de orientação para descarte de resíduos biológicos da Universidade de Brasília. Após o devido lacre, o saco de resíduos biológicos será recolhido pela empresa responsável da UnB que faz a coleta deste tipo de resíduo na Faculdade de Ciências da Saúde, garantindo o descarte adequado dentro da universidade.

Caso haja algum dano direto ou indireto decorrente de sua participação na pesquisa, o(a) senhor(a) deverá buscar ser indenizado, obedecendo-se as disposições legais vigentes no Brasil.

Os resultados da pesquisa serão divulgados no sítio eletrônico do programa de iniciação científica da UnB e poderão ser publicados posteriormente em revistas e eventos científicos, sempre mantendo seus dados em sigilo. Os dados e materiais serão utilizados somente para esta pesquisa. Além disso, ao final da pesquisa os resultados serão divulgados aos participantes em formato de cartilha eletrônica direcionada à população.

Se o(a) Senhor(a) tiver qualquer dúvida em relação à pesquisa, por favor telefone para: Djane Braz Duarte pelo telefone (61) 98234-5201 ou por e-mail, djane@unb.br, na Faculdade de Ciências da Saúde da UnB no telefone, disponível inclusive para ligação a cobrar e disponível para contato a qualquer hora.

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências da Saúde (CEP/FS) da Universidade de Brasília. O CEP é composto por profissionais de diferentes áreas cuja função é defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos. As dúvidas com relação à assinatura do TCLE ou os direitos do participante da pesquisa podem ser esclarecidos pelo telefone (61) 3107-1947 ou do e-mail cepfs@unb.br ou cepfsunb@gmail.com, outras informações podem ser conferidas no site <https://fs.unb.br/comite-de-etica-cep-fs/sobre-cep>. O CEP/FS se localiza na Faculdade de Ciências da Saúde, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Universidade de Brasília, Asa Norte.

Caso concorde em participar, pedimos que assine este documento que foi elaborado em duas vias, uma ficará com o pesquisador responsável e a outra com o(a) Senhor(a).

Nome e assinatura do Participante de Pesquisa

Nome e assinatura do Pesquisador Responsável

Brasília, ____ de ____ de ____.