



Avaliação do Zolendronato e de compostos bioativos em células-tronco mesenquimais extraídas de dentes decíduos

Rafaela Hartmann Kasper, Audrey Oliveira Rutkoski, Gabriela Moraes Machado, Vithória Ongaratto Vencato, Caren Serra Bavaresco
Universidade Luterna do Brasil - Ulbra

Introdução

A osteonecrose da mandíbula é uma complicação clínica frequentemente relatada em pacientes medicados com bisfosfonatos (como zoledronato - ZOL) para patologias ósseas. No entanto, sua patogênese ainda não é totalmente compreendida e não existe um protocolo efetivo para a prevenção da osteonecrose. O uso de compostos bioativos tem sido uma estratégia promissora utilizada na regeneração de tecidos perdidos.

Objetivos

Avaliar, nas células-tronco mesenquimais (CTMs), a viabilidade celular após o tratamento com ZOL e com compostos bioativos.

Metodologia

As CTMs foram tratadas com ZOL em diferentes concentrações (2,5, 5 ou 10 μM por 1 dia e 1, 3, 5 ou 10 μM por 4 dias) [teste 1] e com compostos bioativos como o ácido ascórbico 2 fosfato (ASAP) (172 μM), fluoreto de sódio (NaF) (50 μM) e glicina (10 mM) por 4 dias [teste 2]. Além disso, o composto bioativo que apresentou a melhor viabilidade celular teve seu potencial citoprotetor testado depois do tratamento com ZOL [teste 3]. A avaliação da viabilidade foi realizada através do teste de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difenil brometo de tetrazolina (MTT) depois dos tratamentos (Figura 1).

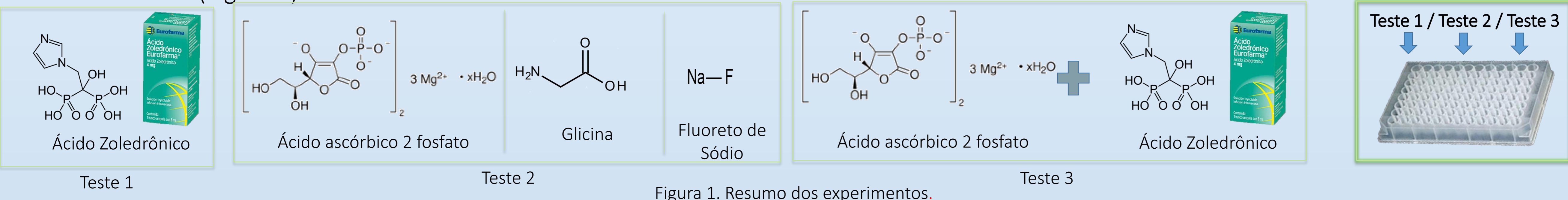


Figura 1. Resumo dos experimentos.

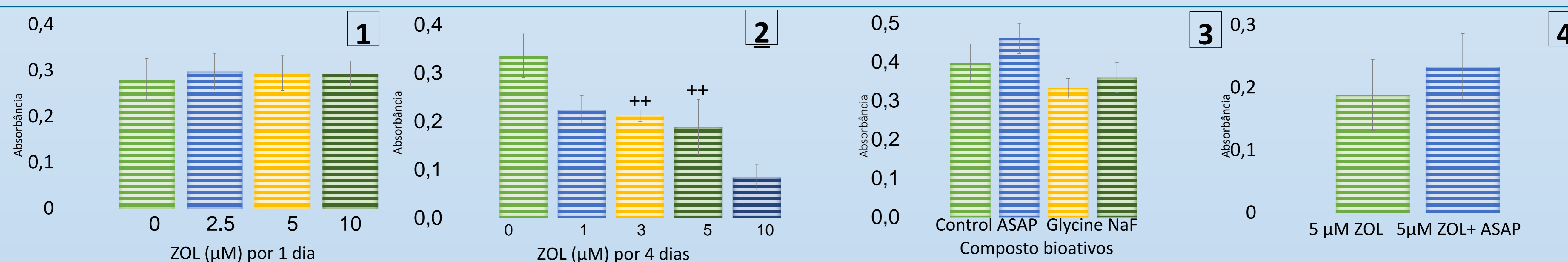


Figura 2. Representação da viabilidade celular em diferentes concentrações de ZOL durante 1 dia pelo ensaio de MTT.

Figura 3. Representação da viabilidade celular em diferentes concentrações de ZOL durante 4 dias pelo ensaio de MTT. Estatisticamente significativo em: ++p<0.01 and #p<0.001.

Figura 4. Representação da viabilidade celular depois do tratamento com compostos bioativos. Estatisticamente significativo em: *p<0.05 and **p<0.01.

Figura 6. Representação do teste de citoproteção do ASAP contra o ácido zoledrônico.

1. Os resultados das células tratadas com ZOL não apresentaram diferença estatisticamente significativa em todas as concentrações no período de 1 dia ($F(3,49) = 0,587$; $p = 0,63$). Os resultados do desvio padrão (DP), relacionados à viabilidade celular após 1 dia de tratamento com ZOL foram: $0,279 \pm 0,046$ para o grupo controle, $0,297 \pm 0,040$ para os 2,5 μM , $0,244 \pm 0,038$ para os 5 μM e $0,292 \pm 0,028$ para os 10 μM .

2. Após 4 dias, houve uma diferença estatisticamente significativa em todas as concentrações em relação ao controle; os resultados da absorbância média \pm DP foram: $0,336 \pm 0,045$ para o grupo controle, $0,224 \pm 0,029$ para o 1 μM ($p < 0,01$), $0,212 \pm 0,012$ para o 3 μM ($p < 0,01$), $0,188 \pm 0,057$ para os 5 μM ($p < 0,01$) e $0,084 \pm 0,026$ para o 10 μM ($p < 0,01$).

3. Entre os compostos bioativos, o ASAP foi o único que aumentou significativamente a viabilidade das CTMs. A glicina diminuiu a viabilidade celular. Após 4 dias, a absorbância média \pm DP foi: $0,396 \pm 0,050$ para o controle, $0,461 \pm 0,039$ para o ASAP ($p < 0,05$), $0,360 \pm 0,039$ para o NaF ($p = \text{ns}$) e $0,332 \pm 0,025$ para a glicina ($p < 0,01$). As células tratadas com ASAP foram estatisticamente diferentes das tratadas por glicina e NaF ($p < 0,01$).

4. No entanto, embora apenas o ASAP tenha aumentado a viabilidade celular, quando associado ao ZOL, demonstrou um aumento da absorbância, mas não demonstrou a característica citoprotetora na concentração utilizada, sendo $0,188 \pm 0,057$ a absorbância média \pm DP para células tratadas com 5 μM de ZOL e $0,233 \pm 0,053$ para 5 μM de ZOL + ASAP ($p > 0,05$).

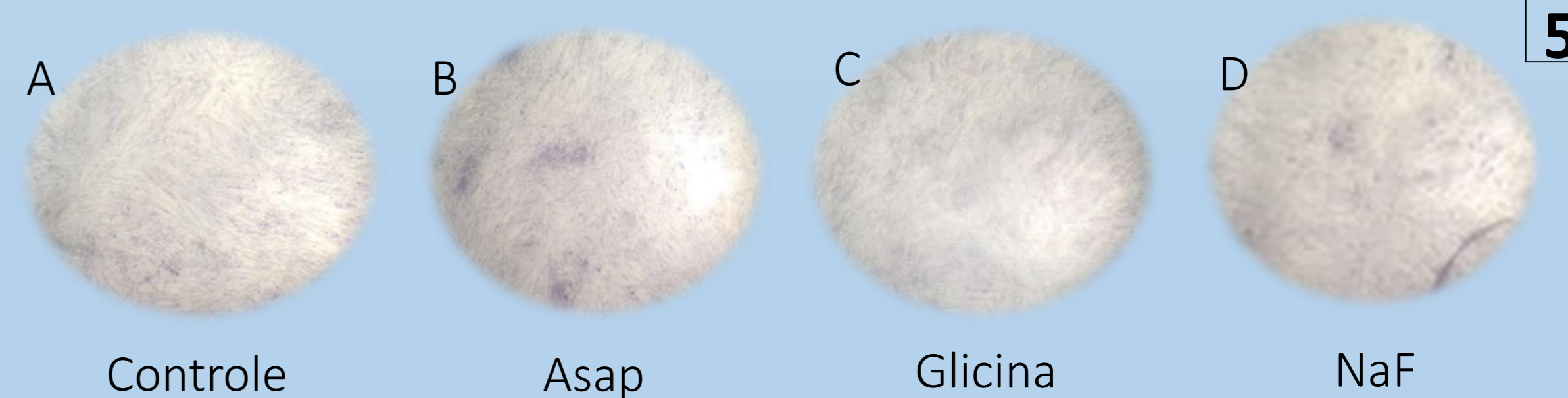


Figura 5. Imagens microscópicas do controle e dos compostos bioativos

5. As imagens de microscopia óptica dos compostos bioativos (Figura 5) são sugestivas de um aumento na quantidade de células no grupo ASAP (B) em relação aos grupos controle (A), glicina (C) e NaF (D), vindo de acordo com as análises estatísticas citadas.

Conclusões finais ou parciais

A partir desse estudo, sugere-se que o ácido ascórbico seja um composto bioativo promissor para a regeneração tecidual, embora na concentração estudada não proteja contra a citotoxicidade do fármaco estudado.

Referências

Lungu AE, Lazar MA, Tonea A, Rotaru H, Roman RC, Badea ME. Observational study of the bisphosphonate-related osteonecrosis of jaws. *Clujul Medical*. 2018;91(2):209-215. doi:10.15386/cjmed-838.
Brauer A, Pohlemann T, Metzger W. Osteogenic differentiation of immature osteoblasts: Interplay of cell culture media and supplements. *Biotech Histochem*. 2016; 91 (3): 161-9. doi: 10.3109/10520295.2015.1110254. Epub 2016 21 de janeiro.

Endereço eletrônico do autor principal: rafaelakasper@hotmail.com