SPEMD
SOCIEDADE PORTUGUESA DE ESTOMATOLOGIA E MEDICINA DENTÁRIA

Gingival fibroblast dedifferentiation: an option in regenerative dentistry?

Autores: Carlos Miguel Marto, Mafalda Laranjo, Anabela Paula, Ana Margarida Abrantes, Ana Cristina Gonçalves, Ana Bela Ribeiro, António Cabrita, Maria Filomena Botelho, Eunice Carrilho
Instituição: Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra
Valor da bolsa: 200.00€
Apresentação durante o evento World Dental Congress - FDI 2017 em Madrid, Espanha | 2017-08-29

Resumo:
Objetivo: O objetivo deste trabalho é obter células estaminais semelhantes a células estaminais da polpa dentária a partir de fibroblastos gengivais de murganho, através de uma metodologia de desdiferenciação, utilizando um agente de desdiferenciação (AD).
Materiais e Métodos: Foi realizada a colheita de gengiva de murganho Balb/C (macho, 8 semanas) e o explante foi utilizado para obter as culturas primárias de fibroblastos gengivais. Resumidamente, os fragmentos de tecido foram digeridos com tripsina e colagenase tipo I e colocados em placas. Quando uma confluência de 80% foi atingida,
100.000 células/ml foram plaqueadas em placas de 12 poços e deixadas durante a noite para aderirem. Os seguintes grupos experimentais foram
utilizados: (1) controlo negativo, células não tratadas, (2) controlo do veículo, 5?M DMSO; (3) AD 5 ?M, uma aplicação, sem alteração de meio; (4) AD 5 ?M, aplicada diariamente sem alteração de meio e
(5) AD 5 ?M, aplicada diariamente com renovação do meio.
Após 96 horas as células foram analisadas quanto à morfologia (microscopia ótica de células vivas e coradas com violeta de cristal), número de células, eficiência clonogénica (ensaio clonogénico) e análise do ciclo celular (citometria de fluxo com marcação com iodeto de propídio).
Resultados: A aplicação do AD 5 ?M, sem (grupo 4) ou com (grupo 5) renovação do meio de cultura, promoveu um aumento no tamanho celular e alterações morfológicas, nomeadamente, aparência esférica e algumas alterações características da morte celular. A aplicação do AD promoveu uma diminuição na proliferação celular e na eficiência clonogénica que é dose-dependente. No entanto, o AD leva a um aumento da fase G2/M e ao aparecimento de uma população com o dobro de quantidade de DNA, provavelmente devido à formação de células tetraplóides.
Conclusão: Estes resultados preliminares apontam que o AD promove com sucesso a desdiferenciação de fibroblastos gengivais, com alterações morfológicas e genéticas compatíveis com um fenótipo tipo célula estaminal. De seguida, a caracterização das células obtidas segundo critérios da Sociedade Internacional para a Terapia Celular será concluída e as células serão usadas para pesquisa em medicina dentária regenerativa.

Anexos disponíveis:

pdf 6.54 MB | Bolsa: poster ou comunicação oral