

Aplicação do laser de baixa potência em células tronco estromais da polpa de dentes decíduos durante a diferenciação osteogênica

Autores: Marcella Barros Bonfim, Isabela Viera Nasser de Moraes, Carla Cristina Gomes Pinheiro, Eduardo Fregnani, Ana Cecília Aranha, Milena C de Pinho, Daniela Franco Bueno

Introdução: As células tronco da polpa dentária (DPSCs) podem ser induzidas a diferenciação em diversos tecidos, incluindo a diferenciação osteogênica. Um fator indutor de osteogênese que já foi descrito é a irradiação a laser de baixa potência in vitro destas células. A irradiação a laser promove a aceleração da mineralização da matriz óssea da linhagem celular. No entanto, não existe consenso sobre a dose e o tempo de tratamento. Utilizamos linhagens de DPSCs de pacientes com fissura lábio palatina, porque novas estratégias de engenharia de tecidos ósseos têm utilizado DPSCs em ensaios pré-clínicos e clínicos para a reabilitação das fissuras ósseas alveolares destes pacientes. A otimização das técnicas de engenharia de tecidos ósseos para pacientes com fissura lábio palatina por meio da aplicação de terapia a laser de baixa potência (LPLT) às DPSCs obtidas desses pacientes pode ajudar a melhorar as estratégias atuais para fechar rapidamente grandes fissuras alveolares.

Objetivos: Investigar os efeitos da LPLT em diferentes densidades de energia em linhagens de DPSCs obtidas de pacientes com fissura lábio palatina durante a diferenciação osteogênica in vitro.

Métodos: Dez linhagens de DPSCs foram obtidas de pacientes com fissura lábio palatina e depois utilizadas nos seguintes grupos de estudo: grupo 1: controle, as linhagens passaram por diferenciação osteogênica por 21 dias; e grupos 2, 3 e 4: as linhagens foram irradiadas diariamente com um laser vermelho de baixa potência (660 nm) (5, 10 e 20 J) durante 21 dias de diferenciação osteogênica. Usando o teste de Bonferroni,

encontrou-se uma diferença estatisticamente significativa nos valores médios entre os grupos irradiados (2, 3 e 4) e o grupo controle ($p < 0,001$). No entanto, não foi encontrada diferença significativa no potencial osteogênico entre os grupos irradiados.

Resultados: Nossos achados mostraram que o potencial osteogênico das DPSCs aumenta com a irradiação a laser vermelho em 5, 10 e 20 J, e esse tratamento poderia ser considerado uma nova abordagem para a pré-condicionamento dessas células a serem usadas na engenharia de tecidos ósseos.

Conclusões: A terapia com laser de baixa potência pode ser considerada uma estratégia promissora para melhorar a diferenciação osteogênica de DPSCs obtidas de pacientes com fissura lábio palatina, o que pode ter implicações significativas para a engenharia de tecidos ósseos em pacientes com essa condição.

Referências:

1- Pittenger M.F., Mackay A.M., Beck S.C., Jaiswal R.K., Douglas R., Mosca J.D., Moorman M.A., Simonetti D.W., Craig S., and Marshak D.R. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 284, 143, 1999.

2- de Mendonça Costa A., Bueno D.F., Martins M.T., Kerkis I., Kerkis A., Fanganiello R.D., Cerruti H., Alonso N., and Passos-Bueno M.R. Reconstruction of large cranial defects in nonimmunosuppressed experimental design with human dental pulp stem cells. *J Craniofac Surg* 19, 204, 2008.

3- Jazedje T., Perin P.M., Czeresnia C.E., Maluf M., Halpern S., Secco M., Bueno D.F., Vieira N.M., Zucconi E., and Zatz M. Human fallopian

tube: a new source of multipotent adult mesenchymal stem cells discarded in surgical procedures. *J Transl Med* 7, 46, 2009.

4- Bueno D.F., Kerkis I., Costa A.M., Martins M.T., Kobayashi G.S., Zucconi E., Fanganiello R.D., Salles F.T., Almeida A.B., do Amaral C.E.R., Alonso N., and Passos-Bueno M.R. New source of muscle-derived stem cells with potential for alveolar bone reconstruction in cleft lip and/or palate patients. *Tissue Eng A* 15, 427, 2009.

5- Zuk P.A., Zhu M., Ashjian P., De Ugarte D.A., Huang J.I., Mizuno H., Alfonso Z.C., Fraser J.K., Benhaim P., and Hedrick M.H. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell* 13, 4279, 2002.

6- Hibi H., Yamada Y., Ueda M., and Endo Y. Alveolar cleft osteoplasty using tissue-engineered osteogenic material. *Int J Oral Maxillofac Surg* 35, 551, 2006.

7- Gimbel M., Ashley R.K., Sisodia M., Gabbay J.S., Wasson K.L., Heller J., Wilson L., Kawamoto H.K., and Bradley J.P. Repair of alveolar cleft defects. *J Craniofac Surg* 18, 895, 2007.

8- Miura M., Gronthos S., Zhao M., Lu B., Fisher L.W., Robey P.G., and Shi S. SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proc Natl Acad Sci US A* 100, 5807, 2003.

9- Bueno D.F., Sunaga D.Y., Kobayashi G.S., Agüena M., Raposo-Amaral C.E., Masotti C., Cruz L.A., Pearson P.L., and Passos-Bueno M.R. Human stem cell cultures from cleft lip/palate patients show enrichment of transcripts involved in extracellular matrix modeling by comparison to controls. *Stem Cell Rev Rep* 7, 446, 2011.

10- Huang G.T.-J., Gronthos S., and Shi S. Mesenchymal stem cells derived from dental tissues vs. those from other sources: their biology and role in regenerative medicine. *J Dent Res* 88, 792, 2009.

11- Canan L.W., da Silva Freitas R., Alonso N., Tanikawa D.Y.S., Rocha D.L., and Coelho J.C.U. Human bone morphogenetic protein-2 use for maxillary reconstruction in cleft lip and palate patients. *J Craniofac Surg* 23, 1627, 2012.

12- Jin H., Park J.Y., Choi H., and Choung P.H. HDAC inhibitor trichostatin A promotes proliferation and odontoblast differentiation of human dental pulp stem cells. *Tissue Eng A* 19, 613, 2013.

13- Alkharobi H., Alhodhodi A., Hawsawi Y., Alkafaji H., Devine D., El-Gendy R., and Beattie J. IGFBP-2 and -3 co-ordinately regulate IGF1 induced matrix mineralisation of differentiating human dental pulp cells. *Stem Cell Res* 17, 517, 2016.

14- Kushibiki T., Hirasawa T., Okawa S., and Ishihara M. Low reactive level laser therapy for mesenchymal stromal cells therapies. *Stem Cells Int* 2015, 974864, 2015.

15- Abramovitch-Gottlib L., Gross T., Naveh D., Geresh S., Rosenwaks S., Bar I., and Vago R. Low level laser irradiation stimulates osteogenic phenotype of mesenchymal stem cells seeded on a three-dimensional biomatrix. *Lasers Med Sci* 20, 138, 2005.

16- Pereira L.O., Longo J.P., and Azevedo R.B. Laser irradiation did not increase the proliferation or the differentiation of stem cells from normal and inflamed dental pulp. *Arch Oral Biol* 57, 1079, 2012.

17- Stein E., Koehn J., Sutter W., Wendtlandt G., Wanschitz F., Thurnher D., Baghestanian M., and Turhani D. Initial effects of low-level

laser therapy on growth and differentiation of human osteoblast-like cells. *Wien Klin Wochenschr* 120, 112, 2008.

18- Marques M.M., Diniz I.M., de Cara S.P., Pedroni A.C., Abe G.L., D'Almeida-Couto R.S., Lima P.L., Tedesco T.K., and Moreira M.S. Photobiomodulation of dental derived mesenchymal stem cells: a systematic review. *Photomed Laser Surg* 34, 500, 2016.

19- Ballini A., Mastrangelo F., Gastaldi G., Tettamanti L., Bukvic N., Cantore S., Cocco T., Saini R., Desiate A., Gherlone E., and Scacco S. Osteogenic differentiation and gene expression of dental pulp stem cells under low-level laser irradiation: a good promise for tissue engineering. *J Biol Regul Homeost Agents* 29, 813, 2015.

20- Dimitriou R., Jones E., McGonagle D., and Giannoudis P.V. Bone regeneration: current concepts and future directions. *BMC Med* 9, 66, 2011.

21- Dillenburg C.S., Almeida L.O., Martins M.D., Squarize C.H., and Castilho R.M. Laser phototherapy triggers the production of reactive oxygen species in oral epithelial cells without inducing DNA damage. *J Biomed Opt* 19, 048002, 2014.

22- Eduardo, Fde P., Bueno D.F., de Freitas P.M., Marques M.M., Passos-Bueno M.R., Eduardo Cde P., and Zatz M. Stem cell proliferation under low intensity laser irradiation: a preliminary study. *Lasers Surg Med* 40, 433, 2008.

23- Choi K., Kang B.J., Kim H., Lee S., Bae S., Kweon O.K., and Kim W.H. Low-level laser therapy promotes the osteogenic potential of adipose-derived mesenchymal stem cells seeded on an acellular dermal matrix. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 101, 919, 2013.

24- Bloise N., Ceccarelli G., Minzioni P., Vercellino M., Benedetti L., De Angelis M.G.C., Imbriani M., and Visai L. Investigation of low-level laser

therapy potentiality on proliferation and differentiation of human osteoblast-like cells in the absence/presence of osteogenic factors. *J Biomed Opt* 18, 128006, 2013.

25- Merigo E., Bouvet-Gerbettaz S., Boukhechba F., Rocca J.P., Fornaini C., and Rochet N. Green laser light irradiation enhances differentiation and matrix mineralization of osteogenic cells. *J Photochem Photobiol B* 155, 130, 2016.

26- Bouvet-Gerbettaz S., Merigo E., Rocca J.P., Carle G.F., and Rochet N. Effects of low-level laser therapy on proliferation and differentiation of murine bone marrow cells into osteoblasts and osteoclasts. *Lasers Surg Med* 41,291, 2009.

27- Pagin M.T., De Oliveira F.A., Oliveira R.C., Sant'Ana A.C.P., De Rezende M.L.R., Greggi S.L.A., and Damante C.A. Laser and light-emitting diode effects on preosteoblast growth and differentiation. *Lasers Med Sci* 29, 55, 2014.

28- Kim H.K., Kim J.H., Abbas A.A., Kim D.O., Park S.J., Chung J.Y., Song E.K., and Yoon T.R. Red light of 647 nm enhances osteogenic differentiation in mesenchymal stem cells. *Lasers Med Sci* 24, 214, 2009.

29- Kushibiki T., and Awazu K. Blue laser irradiation enhances extracellular calcification of primary mesenchymal stem cells. *Photomed Laser Surg* 27, 493, 2009.

30- Dörtbudak O., Haas R., and Mallath-Pokorny G. Biostimulation of bone marrow cells with a diode soft laser. *Clin Oral Implants Res* 11, 540, 2000.

31- Rola P., Doroszko A., and Derkacz A. The use of low-level energy laser radiation in basic and clinical research. *Adv Clin Exp Med* 23, 835, 2014.

