

INTRODUÇÃO E OBJETIVO

O Peróxido de Hidrogénio (PH) é uma espécie reativa de oxigénio (ERO)¹ que liberta oxigénio aquando da sua decomposição, resultando em stress oxidativo^{1,2}. Técnicas de branqueamento dentário, tratamentos periodontais e desinfeção de superfícies implantares são exemplos de procedimentos dentários passíveis de causar stress oxidativo nos tecidos³⁻⁷.

O fibroblasto é o principal constituinte celular do periodonto⁸ cuja principal função é garantir a homeostasia dos tecidos periodontais⁹. O contacto do PH com os fibroblastos está associado a atrasos na divisão celular e alterações nas proteínas membranares, que podem resultar em apoptose^{11,12}.

Avaliar os efeitos citotóxicos do peróxido de hidrogénio em fibroblastos gengivais humanos e determinar de que forma o tempo de exposição e concentração afetam o seu potencial citotóxico *in vitro*.

RESULTADOS

VIABILIDADE CELULAR FIBROBLASTOS

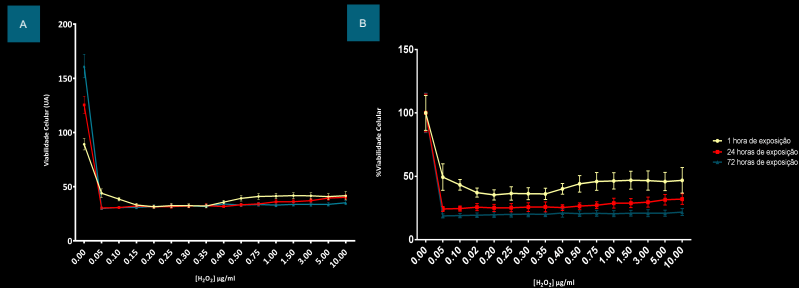


Gráfico 1 – Gráfico de linhas expressa a viabilidade celular em A unidades arbitrárias, e em B em percentagem nos três tempos de exposição para as várias concentrações testadas. Cada ponto representa a viabilidade média e as barras correspondem ao intervalo de confiança de 95%.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os fibroblastos gengivais humanos (HFG - hTERT, ABM® Canada) foram cultivados a 37°C numa atmosfera com uma humidade de 100% e contendo 5% CO₂, num meio composto por Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM, Lonza®, Basel, Switzerland) suplementado com 10% Soro Bovino Fetal (FBS; Biowest®, Nuailié, France) e 1% penicilina/estreptomicina (Biowest®, Nuailié, France). Após uma incubação de 24 horas, procedeu-se à troca do meio de cultura, sendo substituído por uma das 16 soluções de PH (resultantes de uma solução mãe de 3% PH com meio de cultura) em concentrações entre 0.0 µg/ml e 10 µg/ml – 0.00 µg/ml, 0.05 µg/ml, 0.1 µg/ml, 0.15 µg/ml, 0.20 µg/ml, 0.25 µg/ml, 0.30 µg/ml, 0.35 µg/ml, 0.40 µg/ml, 0.50 µg/ml, 0.75 µg/ml, 1.00 µg/ml, 1.50 µg/ml, 3.00 µg/ml e 10.0 µg/ml – por um período de 1 hora, 24 horas ou 72 horas (n=24). A viabilidade celular foi obtida através de um teste fluorométrico baseado na conversão da rezasurina a resorufina e as amostras lidas num espectrofotómetro (comprimento de onda de 560/590 nm, excitação/emissão, respetivamente), e os resultados expressos em unidades arbitrárias (A.U.) ou como percentagem de viabilidade relativa ao controlo. A avaliação da morfologia celular foi realizada a partir de micrografias obtidas por um microscópio invertido de contraste de fase com uma ampliação de 25x por dois observadores independentes em que se considerou a densidade celular, a adesão e a morfologia das células. A análise estatística foi realizada através de ANOVA usando como teste post-hoc Turkey ou Dunnet, sendo os resultados apresentados em média± desvio padrão com uma significância de α= 0.05.

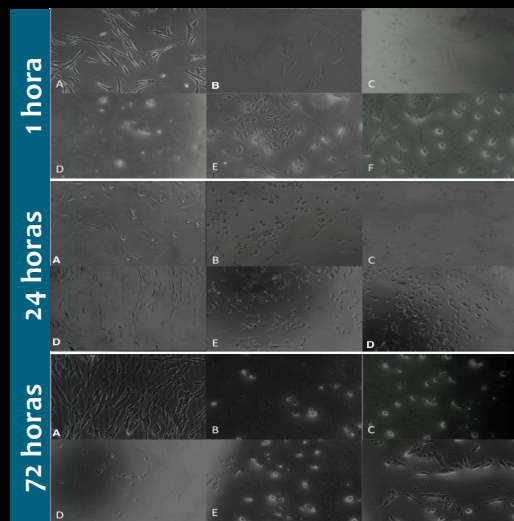


Fig. 1 - Morfologia dos HGF após exposição ao PH durante 1 hora, 24 e 72 horas testadas com diferentes concentrações de PH A-0,0 µg/ml (controlo); B- 0,05 µg/ml; C- 0,40 µg/ml; D- 0,75 µg/ml; E- 3,0 µg/ml; F- 10,0 µg/ml. Fotografias foram obtidas com uma ampliação de 25x.

DISCUSSÃO

- A exposição ao PH resultou num efeito citotóxico severo (diminuição de mais de 50% da viabilidade face ao controlo) observado a partir da primeira concentração estudada (0.5 µg/ml) nos três tempos em estudo. Os resultados prévios publicados na literatura apenas reportam estes efeitos para concentrações 10x superiores (50 µmol/l –equivalente a 1.7 µg/ml)¹².
- Não foram observadas diferenças significativas na viabilidade celular entre os tempos de exposição ou entre as diferentes concentrações testadas.
- Observou-se contudo um aumento ligeiro da viabilidade **após 1h de exposição** ao PH para concentrações superiores a 0,40 µg/ml (p>0.05), sugerindo um potencial efeito estimulatório a curto prazo nestas concentrações de PH em fibroblastos gengivais.
- Quando observada a morfologia dos fibroblastos nos tempos pré-definidos, denota-se uma morfologia esférica contrastando com o controlo fusiforme e aderente do controlo, compatível com fenómenos de morte celular e destacamento.

CONCLUSÕES

A exposição ao PH em fibroblastos gengivais humanos resultou em efeitos citotóxicos moderados a severos, observando em concentrações inferiores às previamente referidas na literatura. Mais estudos *in vitro* serão necessários para determinar o limiar de segurança da aplicação direta de PH.

REFERÊNCIAS

1. Miller U. 2000. Safety Issues Related to the Use of Hydrogen Peroxide in Dentistry. *Australian Dental Journal* 45 (6): 207-209. doi: 10.1111/j.1832-0014.2000.tb00111.x
 2. Miller U. 2000. Safety Issues of Tooth Whitening Using Peroxide-Based Materials. *British Dental Journal* 222 (2): 29-34. doi: 10.1054/bdj.2000.3333
 3. Miller U, et al. 2000. Tooth Bleaching: a Critical Review of the Biological Aspects. *Clinical Reviews in Oral Biology & Medicine* 11 (6): 298-304. doi: 10.1054/cro.2000.3333
 4. Miller U, et al. 2001. Safety Concerns in Tooth Bleaching. *Clinical Oral Implants Research* 12 (2): 125-131. doi: 10.1034/j.1600-0501.2001.1202125.x
 5. Miller U, et al. 2002. Effects of Decarboxylation on the Surface of Titanium Implants: Morphology, Composition, and Biocompatibility. *Clinical Oral Implants Research* 13 (1): 1-10. doi: 10.1034/j.1600-0501.2002.130101.x
 6. Miller U, et al. 2003. In Vitro Evaluation of H2O2 (Hydrogen Peroxide) Treatment of Aged Titanium Surfaces to Enhance Biocompatibility. *Clinical Oral Implants Research* 14 (2): 125-131. doi: 10.1034/j.1600-0501.2003.1402125.x
 7. Miller U, et al. 2003. Clinical Effects of Hydrogen Peroxide on Human Gingival Fibroblasts in Vitro. *Operative Dentistry* 28 (3): 333-338. doi: 10.1034/j.1600-0501.2003.2803333.x
 8. Gattazzo-Garcia, Gloria, Adriana Galderano-Solis, Carmen Muñoz-Solis, and Juan Antonio Argente-Cano. 2015. "Hydrogen Peroxide-Induced Apoptosis in Human Gingival Fibroblasts." *Journal of Oral Biology and Biomechanics* 8 (12): 1559-72. doi: 10.4236/job.2015.81207