



RESSALVA

Atendendo solicitação do autora, o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 25/08/2028.



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Helena Oliveira Deróbio

**Efeito de vesículas extracelulares sobre osteoblastos expostos à
medicamentos antirreabsortivos**

Araraquara

2026



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Helena Oliveira Deróbio

**Efeito de vesículas extracelulares sobre osteoblastos expostos à
medicamentos antirreabsortivos**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara para obtenção do título de Mestre em Odontologia, na Área de Reabilitação Oral

Orientadora: Profa. Dra. Taisa Nogueira Pansani

Araraquara

2026

D437e Deróbio, Helena Oliveira
Efeito de vesículas extracelulares sobre osteoblastos
expostos à medicamentos antirreabsortivos / Helena Oliveira
Deróbio. -- Araraquara, 2026
81 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
(UNESP), Faculdade de Odontologia, Araraquara
Orientadora: Taisa Nogueira Pansani

1. Vesículas extracelulares. 2. Osteoblastos. 3. Ácido
zoledrônico. 4. Denosumab. I. Título.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

O tratamento da osteonecrose dos maxilares associada a medicamentos (MRONJ) ainda é desafiador e apresenta resultados incertos. Nesse contexto, o uso de vesículas extracelulares (VEs) como uma terapia tem se mostrado promissor, uma vez que essas estruturas são biocompatíveis e capazes de modular processos biológicos fundamentais através da transferência de proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos entre as células. Até o presente momento, não há estudos que investiguem os efeitos das VEs em osteoblastos tratados com anticorpo monoclonal (denosumabe), associado ou não a um bisfosfonato (ácido zoledrônico), medicamentos frequentemente relacionados ao desenvolvimento da MRONJ. Dessa forma, a investigação in vitro dessa abordagem terapêutica poderá contribuir para ampliar a compreensão dos mecanismos envolvidos na prevenção e no tratamento da MRONJ.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

The treatment of medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ) remains challenging and presents uncertain outcomes. In this context, the use of extracellular vesicles (EVs) as a therapy has shown promising potential, as these structures can modulate fundamental biological processes through the transfer of proteins, lipids, and nucleic acids between cells. To date, there are no studies investigating the effects of EVs on osteoblasts treated with a monoclonal antibody (denosumab), either alone or in combination with a bisphosphonate (zoledronic acid), medications frequently associated with the development of MRONJ. Therefore, in vitro investigation of this therapeutic approach may contribute to expanding the understanding of the mechanisms involved in the prevention and treatment of MRONJ.

Helena Oliveira Deróbio

**Efeito de vesículas extracelulares sobre osteoblastos expostos à
medicamentos antirreabsortivos**

Comissão julgadora

**Dissertação para obtenção de grau de Mestre em Odontologia, na Área de
Reabilitação Oral**

Presidente e orientador Profa. Dra. Taisa Nogueira Pansani

2º Examinador Profa. Dra. Fernanda Gonçalves Basso

3º Examinador Prof. Dr. Pietro Ciancaglini

Araraquara, 25 de agosto de 2026.

DADOS CURRICULARES

Helena Oliveira Deróbio

NASCIMENTO: 01 de setembro de 2000, Araraquara, São Paulo.

FILIAÇÃO: Valéria de Oliveira Deróbio
João Gabriel Deróbio

2019/2024: Curso de Graduação em Odontologia Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, que sempre me deram todo apoio, suporte e incentivo nas minhas escolhas, vocês são a razão dessa conquista. Obrigada por fazerem parte desse momento, pelo amor incondicional, por não medirem esforços para que eu possa realizar meus sonhos e me darem oportunidade de sempre priorizar meus estudos.

À minha irmã Luiza, pela companhia, conselhos e apoio em todas as minhas escolhas.

À minha avó Gilda, pelo cuidado e carinho em todos os momentos da minha vida.

Às minhas queridas amigas Sara e Gabriela, que fazem parte do início da minha trajetória acadêmica. A vida é muito mais leve e especial com a companhia de vocês.

À minha orientadora Profa. Dra. Taisa Nogueira Pansani, agradeço imensamente a oportunidade, contribuições para o meu crescimento profissional e por confiar em mim para o desenvolvimento desse trabalho. Agradeço por sempre estar disposta a compartilhar seus conhecimentos e ajudar no que for preciso. Muito obrigada por todos os ensinamentos, paciência, incentivo e carinho. Você é uma inspiração para mim, como pessoa, pesquisadora e professora.

À Profa. Dra. Fernanda Gonçalves Basso, pelo convívio no laboratório, ensinamentos e toda contribuição para que eu chegasse até aqui. Sua trajetória é inspiradora.

Ao Prof. Dr. Pietro Ciancaglini e a Dra. Maryanne Trafani de Melo, por serem tão solícitos e dispostos a compartilhar conhecimento, tempo e experiência. As conversas e momentos em Ribeirão Preto foram muito importantes para mim.

Ao Prof. Dr. Carlos Alberto de Souza Costa por todo apoio profissional.

À Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP, nas pessoas da atual Diretora Profa. Dra. Patrícia P. Nordi Sasso Garcia e Vice-diretora Profa. Dra. Elaine Pereira da Silva Tagliaferro.

À Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP, representada pela Coordenadora Dra. Morgana Rodrigues Guimarães Stabili e pela Vice-coordenadora Profa. Dra. Daniela Leal Zandim-Barcelos.

Aos Professores do Programa de Odontologia (Área de Concentração em Reabilitação Oral) da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, por todos os ensinamentos.

Aos funcionários da Seção de Pós-graduação, Alessandra e Cristiano por serem sempre prestativos.

À FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processo nº 2022/06491-5 e 2024/10548-8) pelo apoio financeiro essencial para realização dessa pesquisa.

A todos que contribuíram, de maneira direta e indireta, para que este momento pudesse acontecer: muito obrigada.

Deróbio HO. Efeito de vesículas extracelulares sobre osteoblastos expostos à medicamentos antirreabsortivos [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2026.

RESUMO

A osteonecrose dos maxilares induzida por medicamentos é uma condição debilitante e de difícil resolução clínica, caracterizada pela presença de osso exposto na região maxilofacial por pelo menos 8 semanas. O uso de vesículas extracelulares (VEs) derivadas de células-tronco da polpa dental (DPSC) surge como uma modalidade terapêutica promissora, dado que essas partículas têm capacidade de regular a angiogênese e osteogênese além de apresentarem baixa imunogenicidade. O objetivo deste estudo foi caracterizar VEs derivadas de DPSC e avaliar seu potencial terapêutico sobre osteoblastos expostos ao ácido zoledrônico (AZ) e/ou denosumabe (D). DPSCs foram isoladas da polpa de 5 dentes de 3 pacientes e caracterizadas com marcadores positivos (CD73, CD90 e CD105) e negativos (CD45 e CD34) para células-tronco por citometria de fluxo. VEs derivadas de DPSCs foram isoladas por ultracentrifugação e caracterizadas por rastreamento de partículas (NTA), citometria de fluxo, quantificação de proteínas, microscopia de força atômica (AFM), espalhamento de luz dinâmico (DLS), potencial zeta, microscopia eletrônica de transmissão (TEM) e capacidade de internalização por osteoblastos. Foram estabelecidos 8 grupos: controle (CN), AZ (5 μ M), D (40 μ g/mL), AZ+D, e os respectivos grupos tratados com VEs (10 μ g/mL). Osteoblastos humanos (SAOS-2) foram semeados em placas de 96 compartimentos (8×10^3 células/compartimento) em meio DMEM com 10% de soro fetal bovino (SFB). Após 24 h, as células foram expostas aos medicamentos por 48 h, seguidas de tratamento com VEs ou meio sem SFB por 24 h. Posteriormente, as células foram mantidas em meio osteogênico por 48 h, e então foram realizados ensaios de viabilidade celular (VC, AlamarBlue, n=8), síntese de proteína total (PT, n=8), atividade de fosfatase alcalina (ALP, n=8), formação de nódulos mineralizados (NM, n=6), sobrevivência celular (Live or dead, n=2) e adesão celular (Actin Red, n=2) por fluorescência e expressão gênica de *ALP*, *COL1A1* e *TGFB1* (qPCR, n=4). Os dados foram submetidos a análise de variância ANOVA One-way, $\alpha=5\%$. Também foi investigada a inativação da via NF κ - β pelas VEs pelos osteoblastos. As DPSCs apresentaram marcação positiva para células-tronco acima de 93% e abaixo de 2% para os marcadores negativos. As VEs isoladas foram compostas majoritariamente por microvesículas com um tamanho modal de 92,3 nm, morfologia arredondada e presença de marcadores CD9, CD63 e CD81, específicos para VEs. Os osteoblastos demonstraram eficiente capacidade de internalização de VEs após 24 h de exposição às mesmas. Os tratamentos com AZ e AZ+D comprometeram todas as funções celulares, observados através da redução da VC, PT, ALP, NM sobrevivência, adesão celular e reduzida expressão dos genes avaliados. Os grupos tratados com D apresentaram metabolismo celular semelhante ao grupo controle. O tratamento com VEs foi capaz de reverter parcialmente a redução da atividade de ALP no grupo tratado com AZ e aumentar a produção de NM no grupo tratado com AZ+D ($p < 0,05$), além de reduzir a ativação da via NF- κ B nos grupos tratados com AZ e AZ+D. Adicionalmente, as VEs aumentaram a expressão gênica de *ALP* e *COL1A1*. As VEs derivadas de DPSCs apresentam um potencial terapêutico de osteoblastos tratados com AZ.

Palavras-chave: Vesículas extracelulares; Osteoblastos; Ácido zoledrônico, Denosumab.

Deróbio HO. Effect of extracellular vesicles on osteoblasts exposed to antiresorptive drugs [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2026.

ABSTRACT

Medication-related osteonecrosis of the jaw, induced by drugs is a debilitating condition with challenging clinical management, characterized by the presence of exposed bone in the maxillofacial region for at least 8 weeks. The use of extracellular vesicles (EVs) derived from dental pulp stem cells (DPSCs) has emerged as a promising therapeutic approach, as these particles can regulate angiogenesis and osteogenesis and exhibit low immunogenicity. The aim of this study was to characterize (EVs) derived DPSCs and investigate their therapeutic potential in osteoblasts exposed to zoledronic acid (ZA) and/or denosumab (D). DPSCs were isolated from the pulp of 5 teeth from 3 patients and characterized by positive stem cell markers (CD73, CD90, and CD105) and negative markers (CD45 and CD34) using flow cytometry. EVs derived from DPSCs were isolated by ultracentrifugation and characterized by nanoparticle tracking analysis (NTA), flow cytometry, protein quantification, atomic force microscopy (AFM), dynamic light scattering (DLS), zeta potential, scanning electron microscopy (SEM), and EV internalization by osteoblasts. Eight groups were established: control (CN), ZA (5 μ M), D (40 μ g/mL), ZA+D, and their respective groups treated with EVs (10 μ g/mL). Human osteoblasts (SAOS-2) were seeded in 96-well plates (8×10^3 cells/well) in DMEM supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS). After 24 hours, the cells were exposed to the drugs for 48 hours, followed by treatment with EVs or serum-free medium for 24 hours. Subsequently, the cells were maintained in osteogenic medium for 48 hours. Cell viability (CV, AlamarBlue, n=8), total protein synthesis (TP, n=8), alkaline phosphatase activity (ALP, n=8), mineralized nodule formation (MN, n=6), cell survival (Live or Dead assay, n=2), and cell adhesion (Actin Red, n=2) were evaluated by fluorescence and the gene expression of *ALP*, *COL1A1* and *TGFB1* (qPCR, n=4). Data were analyzed using one-way ANOVA, with $\alpha = 5\%$. The inactivation of the NF κ - β pathway by EVs was also evaluated in osteoblasts. DPSCs showed over 93% positivity for stem cell markers and less than 2% for negative markers. The isolated EVs consisted predominantly of microvesicles with a modal size of 92.3 nm, rounded morphology, and the presence of CD9, CD63, and CD81, EV-specific markers. Osteoblasts demonstrated efficiency in their capacity to internalize EVs after 24 hours of exposure to them. Treatments with ZA and ZA+D compromised all cellular functions, observed through reductions in CV, TP, ALP, MN, cell survival and cell adhesion and reduction in expression of the evaluated genes. The groups treated with D exhibited cellular metabolism comparable to the control group. Treatment with EVs was able to partially reverse the reduction in ALP activity in the ZA-treated group and increase MN production in the ZA+D-treated group ($p < 0.05$), in addition to decreasing activation of the NF- κ B pathway in the ZA and ZA+D-treated group. In addition, EVs increased *ALP* e *COL1A1* gene expression. EVs derived from DPSCs exhibit therapeutic potential for AZ-treated osteoblasts.

Keywords: Extracellular vesicles; Osteoblasts; Zoledronic acid; Denosumab.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 PROPOSIÇÃO	16
3 REVISÃO DA LITERATURA	17
3.1 Osteonecrose dos Maxilares Induzida por Medicamentos	17
3.2 Manifestações Clínicas da MRONJ	19
3.3 Fisiopatologia da MRONJ	20
3.4 Desafios Clínicos e Efeitos in Vitro	22
3.5 Potencial Terapêutico das Células-Tronco	24
3.6 Potencial Terapêutico das Vesículas Extracelulares	27
4 MATERIAL E MÉTODO	30
4.1. Materiais Utilizados	30
4.2 Estabelecimento e Caracterização da Cultura Primária de Células-tronco da Polpa Dental Humana (DPSCs)	31
4.2.1 Estabelecimento da cultura primária de células-tronco da polpa dental humana (DPSCs)	31
4.2.2 Caracterização da cultura primária de células-tronco da polpa dental por citometria de fluxo	33
4.3 Isolamento e Caracterização das Vesículas Extracelulares	34
4.3.1 Isolamento das vesículas extracelulares	34
4.3.2 Análise de rastreamento de partículas (NTA)	35
4.3.3 Identificação de marcadores específicos de VEs (CD9, CD63, CD81) – citometria de fluxo	36
4.3.4 Quantificação de proteínas nas VEs – Quibt Protein Assay	36
4.3.5 Microscópio de força atômica (AFM)	37
4.3.6 Medida de tamanho e poli dispersão das VEs (DLS) e Potencial Zeta	37

4.3.7 Microscopia de transmissão eletrônica (TEM)	37
4.3.8 Internalização de vesículas extracelulares (PKH67)	37
4.4 Cultura Celular e Efeitos Terapêutico das VEs.....	38
4.4.1 Cultura celular	38
4.4.2 Viabilidade celular - AlamarBlue®, n=8.....	39
4.4.3 Produção de proteína total – PT, n=8	40
4.4.4 Atividade de fosfatase alcalina – ALP, n=8.....	40
4.4.5 Nódulos de mineralização – Alizarin Red, n=6	41
4.4.6 Sobrevivência celular por Live/Dead, n=2.....	41
4.4.7 Adesão e morfologia celular por Actin Red, n=2.....	41
4.4.8 Avaliação da Expressão Gênica – qPCR, n=4.....	42
4.5 Investigação In Vitro da Inativação da Via NF-kB por VEs no Desenvolvimento de MRONJ.....	43
4.5.1 Ativação da via de sinalização NF-kB.....	43
4.6 Análise Estatística.....	45
5 RESULTADO	46
5.1 Caracterização da Cultura Primária de Células-Tronco da Polpa Dental por Citometria de Fluxo	46
5.2 Isolamento e Caracterização das Vesículas Extracelulares	47
5.2.1 Análise de rastreamento de partículas (NTA)	48
5.2.2 Identificação de marcadores específicos de VEs (CD9, CD63, CD81) – Citometria de Fluxo	48
5.2.3 Quantificação de proteínas nas VEs – Quibt Protein Assay	49
5.2.4 Microscópio de Força Atômica (AFM)	49
5.2.5 Medida de tamanho e poli dispersão das VEs (DLS) e Potencial Zeta	50
5.2.6 Microscopia de transmissão eletrônica (TEM)	51
5.2.7 Internalização de vesículas extracelulares (PKH67)	51

5.3 Avaliação do Efeito das VEs Sobre Osteoblastos Expostos ao Ácido Zoledrônico e/ou Denosumabe	52
5.3.1 Viabilidade celular - AlamarBlue®	53
5.3.2 Produção de proteína total – PT	53
5.3.3 Atividade de fosfatase alcalina – ALP	54
5.3.4 Nódulos de mineralização – Alizarin Red.....	55
5.3.5 Análise sobrevivência celular - Live/Dead	56
5.3.6 Adesão e morfologia celular – Actin Red.....	58
5.3.7 Avaliação da Expressão Gênica – qPCR.....	59
5.4 Investigação In Vitro da Inativação da Via NF-κB por VEs no Desenvolvimento de MRONJ.....	60
5.4.1 Ativação da via de sinalização NF-κB.....	60
6 DISCUSSÃO	62
7 CONCLUSÃO	68
REFERÊNCIAS.....	69
ANEXO	80

1 INTRODUÇÃO

A osteonecrose dos maxilares associada a medicamentos (MRONJ), descrita originalmente por Marx¹, em 2003, constitui uma patologia debilitante e de difícil resolução clínica. Segundo as diretrizes da American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons (AAOMS)² esta condição é caracterizada pela exposição de osso necrótico na região maxilofacial, ou osso passível de sondagem por fístula intra ou extraoral, por no mínimo oito semanas em pacientes sob terapia atual ou prévia com agentes antirreabsortivos ou antiangiogênicos, na ausência de histórico de radioterapia em cabeça e pescoço. A presença da MRONJ compromete drasticamente a qualidade de vida do indivíduo, o que impõe limitações severas às funções essenciais como a mastigação e o convívio social, além de tornar o tratamento odontológico um desafio complexo³.

A ocorrência desta condição é influenciada por fatores anatômicos, sendo a mandíbula mais afetada que a maxila devido a proeminências como a linha oblíqua interna e o sulco milo-hioideo^{4,5}, embora ambas possam ser acometidas simultaneamente⁶. Entre os fatores de risco locais, destacam-se exodontias, traumas por próteses, periodontite, tratamento com implantes e má higiene oral⁵. Sistemicamente, o risco é aumentado por condições como diabetes, tabagismo, idade avançada, uso de corticosteroides e quimioterapia para tumores malignos e doenças cardiovasculares⁷.

Os medicamentos antirreabsortivos são amplamente utilizados para o tratamento de doenças que causam um desequilíbrio entre a formação e reabsorção óssea, levando à perda gradual de massa óssea no esqueleto⁸, como a osteoporose, câncer de mama, próstata e mieloma múltiplo. Nesta classe de medicamentos, destacam-se os bisfosfonatos, que são medicamentos amplamente prescritos e sua estrutura química apresenta duas moléculas de fosfonato ligadas a um carbono não hidrolisável, conferindo alta afinidade ao osso através da quelação de íons cálcio⁹.

Esses fármacos possuem duas cadeias, sendo uma delas a R1 que geralmente apresenta um grupo hidroxila capaz de aumentar a afinidade do composto pelo osso, e uma cadeia R2 responsável pela determinação do quão antirreabsortivo é esse medicamento⁹. Os bisfosfonatos de primeira geração não possuem nitrogênio na sua porção R2, como por exemplo o etidronato, enquanto os

bisfosfonatos de segunda geração possuem nitrogênio em sua cadeia R2, o que confere a esses medicamentos uma potência cerca de 10 a 100 vezes maior, como o alendronato e pamidronato⁹. Além disso, existem os bisfosfonatos de terceira geração, como o ácido zoledrônico (AZ), que contém um anel heterocíclico na sua cadeia R2, os quais são considerados ainda mais potentes¹⁰. O AZ atua inibindo a enzima farnesil pirofosfatase na via do mevalonato, o que regula negativamente a sinalização de pequenas GTPases (Ras, Rac e Rho), levando à apoptose de osteoclastos¹¹. Esse medicamento está fortemente relacionado ao desenvolvimento da MRONJ, com prevalência entre 1,0 e 2,3%, em pacientes sob seu uso por três anos⁷.

Como alternativa, aprovado em 2010, o denosumabe atua como um anticorpo monoclonal anti-RANKL e foi aprovado pela Food and Drug Administration of the United States (FDA) e European Medicines Agency (EMA) para ser utilizado no tratamento e prevenção de metástases ósseas¹². Esse medicamento, diferente dos bisfosfonatos, não se une à matriz óssea, mas é encontrado no meio extracelular¹³. Seu mecanismo de ação é a partir de sua ligação ao RANKL, impedindo a ligação RANK-RANKL, uma proteína expressa na parede de osteoclasto¹³. A ligação do RANKL ao RANK é fundamental para que ocorra a diferenciação de precursores de osteoclastos em osteoclastos maduros¹³. Entre suas vantagens, destacam-se administração subcutânea, ausência de necessidade de ajuste em casos de pacientes com insuficiência renal e uma meia-vida curta, de apenas 26 dias, contrastando com os bisfosfonatos, que permanecem no osso por até 10 anos^{2,14}. Apesar das vantagens, estudos demonstram que o uso desse medicamento pode aumentar as chances do desenvolvimento da MRONJ, sendo que a prevalência da osteonecrose dos maxilares em pacientes fazendo uso do denosumabe há 3 anos varia de 1,3 a 3,2%⁷.

Com o aumento da expectativa de vida, alguns pacientes podem apresentar falhas nos tratamentos de doenças relacionadas ao metabolismo ósseo, nessas situações pode ser necessário o tratamento sequencial ou conjunto com diferentes fármacos, buscando atingir múltiplos aspectos do metabolismo ósseo e otimizando a eficácia dos medicamentos¹⁵. Nesse cenário, a transição terapêutica dos bisfosfonatos para o denosumabe tornou-se uma prática comum¹². No entanto, a associação de antirreabsortivos está relacionada a uma maior prevalência de MRONJ, quando comparada aos fármacos utilizados individualmente¹⁶. Embora sua

fisiopatologia exata permaneça como tema de debate, a literatura sugere uma origem multifatorial, decorrente de inflamação, infecção, inibição da angiogênese e disfunções no sistema imune inato e adquirido¹².

O tratamento para MRONJ é definido de acordo com o estadiamento da doença, e pode variar desde o uso de medicamentos para dor e antibióticos, bem como bochechos com antimicrobianos, tratamentos com laser e até mesmo tratamento cirúrgico para desbridamento da lesão¹⁷. O tratamento para a osteonecrose dos maxilares é considerado difícil e incerto, exigindo uma abordagem multidisciplinar e preventiva¹⁸. Nesse sentido, novas terapias estão sendo desenvolvidas para o tratamento e prevenção da MRONJ, como por exemplo o uso de células-tronco mesenquimais.

As células-tronco mesenquimais foram reconhecidas pela primeira vez há mais de 40 anos por Friedenstein, que caracterizou as mesmas como uma população de células aderentes com aparência de fibroblastos e que podem se diferenciar em múltiplas linhagens celulares, como células ósseas, adiposas ou musculares¹⁹. Essas células possuem características quimiotáticas e podem migrar para áreas de inflamação e dano tecidual, participando da cicatrização de feridas, tornando-se uma abordagem promissora na regeneração tecidual²⁰. As células-tronco mesenquimais podem ter efeitos imunomodulatórios, anti-inflamatórios, são capazes de estimular a angiogênese e acelerar a remodelação óssea através da liberação de fatores parácrinos²⁰. No ano 2000, células-tronco do tecido dental foram isoladas em terceiros molares por Gronthos e colaboradores²¹, abrindo novas perspectivas para as terapias celulares, uma vez que sua aquisição é minimamente invasiva, e as questões éticas envolvidas são consideravelmente menores. As células-tronco do tecido dental possuem similaridades com as células-tronco derivadas da medula óssea, como marcadores de superfície e proteínas associadas com a formação de tecido mineralizado²². Fatores bioativos secretados pelas células-tronco, como fatores tróficos, citocinas e vesículas extracelulares são fundamentais para o reparo tecidual e a comunicação entre células²².

As vesículas extracelulares (VEs) são partículas delimitadas por membrana lipídica fundamentais para a comunicação intercelular através da transferência de proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos²³. As VEs podem exercer seu papel de diferentes maneiras: (I) ativando diretamente receptores na superfície celular, (II) fundindo seu conteúdo com a célula receptora ou (III) através de sua fagocitose ou

endocitose²³. Além disso, as VEs podem ser classificadas de acordo com o seu tamanho e biogênese em exossomos, microvesículas e corpos apoptóticos²³. Essas vesículas participam de diversas vias biológicas, como na regulação da expressão gênica, proliferação, apoptose, diferenciação, resposta imunológica e regulação do metabolismo em situações patológicas e fisiológicas²⁴. O uso das VEs na terapia regenerativa possui diversas vantagens, como a baixa imunogenicidade, menores chances de desenvolvimento de tumores, uma vez que não se auto replicam, são capazes de cruzar a barreira hematoencefálica e impedem o risco de transmissão de infecções²⁵.

Os bisfosfonatos e denosumabe têm seu mecanismo de ação direcionado aos osteoclastos, com o objetivo de diminuir a reabsorção óssea. Apesar disso, osteoclastos e seus precursores são capazes de liberar fatores que regulam a atividade de osteoblastos, como fatores liberados pela matriz óssea durante o processo de reabsorção e secretados pelos osteoclastos ativos, o que pode levar a uma redução na atividade de osteoblastos, em pacientes que fazem uso de antirreabsortivos⁸. Ademais, estudos demonstram que osteoblastos expostos a diferentes concentrações de ácido zoledrônico apresentaram alterações em sua morfologia, na expressão de enzimas e proteínas^{26,27}. Até o presente momento, não existem dados sobre o efeito das VEs em células tratadas com o denosumabe associado a um bisfosfonato. Portanto, o objetivo do presente estudo é investigar se as VEs derivadas de DPSCs podem minimizar o efeito do ácido zoledrônico, denosumabe ou a associação destes medicamentos aplicados sobre osteoblastos humanos.

7 CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo demonstram que as vesículas extracelulares isoladas de células-tronco da polpa dentária apresentaram características compatíveis com vesículas desta mesma natureza (MSCs). Além disso, as VEs apresentam potencial capacidade modulatória no contexto da osteonecrose associada a medicamentos, especialmente sobre os efeitos negativos decorrentes do tratamento com AZ.

A capacidade dessas VEs de interferir na via de sinalização inflamatória NF- κ B e promover uma melhora parcial no metabolismo de osteoblastos humanos sugere um possível papel protetor e regulador no microambiente ósseo sob estresse. Essa abordagem terapêutica baseada no uso de VEs minimiza riscos biológicos inerentes ao transplante celular direto, oferecendo uma alternativa terapêutica mais segura, controlada e menos invasiva. Embora investigações adicionais sejam fundamentais para otimizar a concentração terapêutica, a frequência de administração e possíveis estratégias capazes de superar o dano severo do AZ, este estudo contribui para o avanço de terapias mais seguras e previsíveis.