



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**  
Campus de Araçatuba

**Rafael Araújo Rios**

**Efeito de flavonoides EGCG e taxifolina na viabilidade e  
migração de fibroblastos**

**Araçatuba**  
**2022**

**Rafael Araújo Rios**

**Efeito de flavonóides EGCG e taxifolina na  
viabilidade e migração de fibroblastos**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado à Faculdade de Odontologia  
de Araçatuba, Universidade Estadual  
Paulista “Júlio de Mesquita Filho”-  
UNESP, como parte dos requisitos para  
obtenção do título de Cirurgião-Dentista.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Assoc. Cristiane Duque

**Araçatuba  
2022**



*Dedico este trabalho de conclusão de curso a Andreia Almeida de Araújo que, desde cedo, me ensinou a importância da busca por conhecimento e dedicação. E que me mostrou, pelo seu exemplo, o valor da compreensão, carinho e afeto.*

## **AGRADECIMENTOS**

Gostaria de agradecer primeiramente à minha família por todo o suporte. À minha mãe Andreia Almeida de Araújo e pela minha irmã, Mariana Araújo Rios, por sempre estarem comigo em todos os momentos. Agradeço também à Maridete, Marielza, Núbia, Mariana, Juliana por todo apoio e carinho e, por fim, gostaria de agradecer à Dirceu Duarte por ter me incentivado a dar o primeiro passo da minha carreira.

Gostaria de agradecer à Júlia de Sette Sato Piva por ter sido meu porto seguro durante todo esse tempo. Por todos os momentos os momentos felizes que tive ao seu lado e por todo apoio que recebi nos momentos difíceis. Foram 4 anos juntos e espero, ansiosamente, pelos próximos 40.

Gostaria de agradecer ao Departamento de Odontopediatria por ter me acolhido durante minha graduação e ter me dado a oportunidade de ter feito minha iniciação científica. Primeiramente a professora Cristiane Duque por quem sou muito grato e tenho enorme admiração, além dos meus colegas, Jesse, Gabriela, Vanessa, Rafaela, Karina, Warley, Caio, Leonardo e Gabriel aos quais me acolheram e me ensinaram com muita dedicação e paciência.

Gostaria de agradecer a Faculdade de Odontologia de Araçatuba pelos ensinamentos. Aos professores que tiveram grande importância pra mim durante a graduação. Professor Américo, Professor Aldiéres, Professora Daniela, Professor Robson, Professor José Vitor, Professora Aimée, Professor Zuim, Professor Francisley e Professora Nathália. Assim como à Jane, Gabi, Luciana, Edna, Maurício e Carlos por todo suporte prestado aos alunos.

Gostaria de agradecer às amigas que fiz durante os anos que passei em Araçatuba. Gustavo, Victor, Luis Fernando, Gabriel, Bruno, Pedro, Fernanda, Heloísa e Nathalia.

Gostaria de agradecer à Surubateria por ter feito minha graduação mais completa. Em grande parte dos bons momentos que tive durante esses 5 anos, a bateria estava presente e serei muito grato pelas lembranças e amigas que fiz.

Gostaria de agradecer ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de iniciação científica.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp) pelo auxílio pesquisa (processo 2017/10940-1).

E à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

"Se você quer ir rápido, vá sozinho. Se quiser ir longe, vá acompanhado"

Provérbio africano.

Rios, R. A. **Efeito de flavonóides EGCG e taxifolina na viabilidade e migração de fibroblastos**. 2022. 28 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2022.

## RESUMO

Compostos bioativos naturais estão sendo estudados em busca de princípios ativos que possam compor os curativos de demora. Eles poderiam auxiliar na eliminação da microbiota residual, sem causar toxicidade aos tecidos remanescentes e permitir a regeneração tecidual natural. Flavonoides são metabólitos secundários de plantas que tem apresentado grande amplitude terapêutica como ação antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória, entre outras. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito dos flavonoides taxifolina e epigalocatequina-3-galato (EGCG) sobre a viabilidade e migração de fibroblastos. Fibroblastos da linhagem L3T3 foram expostos a concentrações decrescentes (1, 0,5, 0,25, 0,125, 0,0625, 0,0312, e 0,015 mg/mL) dos flavonoides e do controle hidróxido de cálcio por 24h e determinada a viabilidade e migração celular pelo método da resazurina e de Coomassie. Os resultados foram avaliados estatisticamente considerando  $p < 0,05$ . A viabilidade celular foi superior a 80% para os compostos taxifolina, EGCG e hidróxido de cálcio, a partir das concentrações de 1mg/mL, 0,5 mg/mL e 0,125 mg/mL, respectivamente. EGCG e taxifolina apresentaram efeito similar sobre a migração dos fibroblastos, porém inferior ao hidróxido de cálcio. Conclui-se que os flavonoides taxifolina e EGCG foram citocompatíveis e não influenciaram a migração de fibroblastos nas concentrações mais baixas estudadas.

**Palavras-chave:** Flavonoides, viabilidade celular, migração celular

Rios, R. A. **Effect of flavonoids EGCG and taxifolin on fibroblast viability and migration**. 2022. 28 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2022.

## **ABSTRACT**

Natural bioactive compounds have been studied in order to search for active principles that can compose endodontic dressings. These materials could promote the elimination of residual microbiota, without causing toxicity to the remaining tissues and allowing natural tissue regeneration. Flavonoids are secondary metabolites of plants that have shown great therapeutic range as antimicrobial, antioxidant, anti-inflammatory, among others. Thus, the aim of this study was to evaluate the effect of the flavonoids taxifolin and epigallocatechin-3-gallate (EGCG) on fibroblast viability and migration. L3T3 lineage fibroblasts were exposed to decreasing concentrations of flavonoids (1, 0,5, 0,25, 0,125, 0,0625, 0,0312, e 0,015 mg/mL), isolated for 24h and cell viability and migration was determined by the resazurin and Coomassie methods. The results were statistically evaluated considering  $p < 0.05$ . Cell viability was higher than 80% for the compounds taxifolin, EGCG and calcium hydroxide, at concentrations of 1mg/mL, 0.5 mg/mL and 0.125 mg/mL, respectively. EGCG and taxifolin had a similar effect on fibroblast migration, but less than calcium hydroxide. It is concluded that the flavonoids taxifolin and EGCG were cytocompatible and had no effect on migration of fibroblasts in the lowest tested concentrations.

**Keywords:** Flavonoids, cell viability, cell migration

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Ensaio de viabilidade após o tratamento com os compostos (mg/mL) testados no período de 24 horas	17
Figura 2 –	Ensaio demonstrando a migração celular no período de 24h, 72h e 120 h.	18
Figura 3 –	Imagens representativas dos ensaios de migração celular em 24h.	19
Figura 4 –	Imagens representativas dos ensaios de migração celular em 72h.	20
Figura 5 –	Imagens representativas dos ensaios de migração celular em 120h.	21

## LISTA DE SIGLAS

°C	Grau Celsius
µg	Microgramas
3T3	3-day transfer
ANOVA	Análise de variância
Co <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
COX-2	Ciclo-oxigenase-2
DMEM	Meio de Eagle Modificado por Dulbecco
DMSO	Dimetilsulfóxido
DP	Desvio Padrão
EGCG	Epigallocatequina-3-galato
FBS	Soro Fetal Bovino
h	Hora
HC	Hidróxido de cálcio
L	Litro
mg	Miligrama
Min	Minutos
mL	Mililitro
MTA	Agregado trióxido Mineral
NF-κB	Fator nuclear kappa beta
nm	Nanômetro
PA	Pró-Análise
PBS	Tampão fosfato-salino
TNF-α	Fator de Necrose Tumoral Alfa
UI	Unidade Internacional
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVOS	13
3	METODOLOGIA	14
3.1	Delineamento do estudo - Flavonoides e controles	14
3.2	Efeito dos compostos sobre a viabilidade celular	14
3.2.1	Cultivo celular	14
3.2.2	Análise da viabilidade celular	14
3.3	Efeito dos compostos sobre a migração celular	15
3.4	Forma de análise dos dados	15
4	RESULTADOS	17
4.1	Efeito dos compostos sobre a viabilidade celular	17
4.2	Efeitos dos compostos sobre a migração celular	18
5	DISCUSSÃO	22
6	CONCLUSÃO	24
	REFERÊNCIAS	25

## 1 INTRODUÇÃO

De forma geral, o objetivo do tratamento endodôntico é manter a integridade da raiz, bem como, prevenir ou resolver doenças periapicais e perirradiculares, pela erradicação dos microrganismos e de suas toxinas presentes no sistema de canais radiculares (HARGREAVES *et al.*, 2008). No caso especificamente dos dentes permanentes jovens, este tratamento deve utilizar substâncias que eliminem a microbiota dos canais radiculares, porém não causem toxicidade celular, permitindo a continuidade do desenvolvimento radicular, além de favorecer a resolução das infecções periapicais (HARGREAVES *et al.*, 2008; IGLESIAS-LINARES *et al.*, 2013). Embora a instrumentação mecânica associada às soluções irrigadoras antimicrobianas realizada na primeira sessão do tratamento endodôntico convencional reduza significativamente a microbiota presente no interior dos canais radiculares, microrganismos podem permanecer devido à complexidade anatômica do sistema de canais radiculares e a resistência destes ao tratamento químico-mecânico ocasionarem infecções persistentes ou secundárias (SIQUEIRA JÚNIOR *et al.*, 2007; SIQUEIRA JÚNIOR; RÔÇAS, 2009). A manutenção ou o desenvolvimento de lesões periapicais, após o tratamento endodôntico tem sido atribuído a fatores relacionados com a presença e virulência de bactérias e fungos no sistema de canais radiculares e/ou tecidos periapicais (HANCOCK *et al.*, 2001; NAIR *et al.*, 1999). Assim, medicação intracanal principalmente com materiais a base de hidróxido de cálcio (HC), são indicados para eliminar essa microbiota remanescente e estimular o reparo das lesões periapicais (PARIROKH; TORABINEJAD, 2010; SHEEHY; ROBERTS, 1997). Embora esses materiais sejam muito utilizados, ainda não existem medicações consideradas biológicas, ou seja, que possam atuar sobre os microrganismos residuais, sem causar toxicidade aos tecidos remanescentes e que possam permitir a regeneração tecidual natural (IGLESIAS-LINARES *et al.*, 2013; JUNG; LEE; HARGREAVES, 2008; TANEJA; KUMARI; PARKASH, 2010).

Compostos bioativos derivados de plantas, como os flavonoides, têm recebido destaque na literatura devido à sua amplitude terapêutica (TRIPOLI *et al.*, 2007). Flavonoides constituem as classes mais importantes de polifenóis, com mais de 5000 compostos já descritos na literatura (PIETTA, 2000; TRIPOLI *et al.*, 2007). Estão presentes em frutas e vegetais, geralmente como metabólitos secundários e

atuam na defesa das plantas contra agentes externos (TRIPOLI *et al.*, 2007). Estudos têm apontado diversas propriedades farmacológicas dos flavonoides, como ação antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória, osteogênica, antiosteoclastogênica, entre outras (PIETTA, 2000; PILSAKOVA; RIECANSKY; JAGLA, 2010; TRIPOLI *et al.*, 2007). Os flavonoides são divididos em: flavonas, flavonóis, flavanonas, flavanonol, flavanóis, antocianidinas e chalconas. A taxifolina (ou dihidroquercetina) é um tipo de flavanonol que é amplamente distribuída nas cascas do gênero *Pinus* ou *Larix*, em sementes do gênero *Silybum* e encontrado em frutas, especialmente laranjas, uvas e toranjas (WEIDMANN, 2012). Taxifolina tem apresentado ampla ação terapêutica, entre as quais, atividade antimicrobiana contra *Enterococcus faecalis* resistente a vancomicina (JEONG *et al.*, 2009), *Acinetobacter hemolyticus* (CHATZOPOULOU *et al.*, 2010) e atividade antifúngica (KANWAL *et al.*, 2010). Sobre o efeito anti-inflamatório da taxifolina, estudo avaliando a silimarina, um importante composto já licenciado, que apresenta em sua composição, a taxifolina, mostrou inibição de TNF- $\alpha$  e NF- $\kappa$ B e a produção de citocinas inflamatórias por células-T (WAGONER *et al.*, 2010; FU *et al.*, 2021; MOON; LEE; NAM, 2019).

Flavanóis ou catequinas são flavonoides abundantes na natureza e diversas pesquisas tem avaliado seu potencial farmacológico principalmente quando extraídos do chá verde, produzido da folha da planta *Camellia sinensis*. Seu principal flavonoide é o EGCG que possui atividades biológicas com diversos efeitos benéficos já atribuídos ao chá verde (HUO *et al.*, 2008). O EGCG tem sido apontado como um flavonoide promissor na prevenção e tratamento de câncer, doenças cardiovasculares, diabetes, doenças neurodegenerativas, entre outras (HUO *et al.*, 2008). Além dessas aplicações, também apresentou atividade antimicrobiana contra *E. faecalis*, tanto em células planctônicas como em biofilme, em baixas concentrações (LEE; TAN, 2015) e alguns periodontopatógenos (SHAHZAD *et al.*, 2015). O EGCG também é capaz de atuar como um modulador anti-inflamatório em polpas inflamadas, inibindo a expressão de VEGF e COX-2 em células da polpa dentária (NAKANISHI *et al.*, 2015), a expressão de citocinas pró-inflamatórias e de moléculas de adesão (NAKANISHI *et al.*, 2010).

## **2 OBJETIVOS**

Avaliar o efeito dos flavonoides taxifolina e EGCG sobre a viabilidade e migração de fibroblastos.

### **3 METODOLOGIA**

#### **3.1 Preparo dos flavonoides e controles**

Neste projeto, avaliou-se os seguintes flavonoides: EGCG (#E4143) e Taxifolina (#78666) que foram obtidos da empresa Sigma-Aldrich (St. Louis, MO/USA). Soluções estoques dos flavonoides foram preparadas e congeladas em dimetilsulfóxido - DMSO à 30mg/mL. Como controles positivos foram utilizados hidróxido de cálcio PA (Biodinâmica, Ibiporã – PR/BR) dissolvido em solução salina (1mg/mL) e meio DMEM. Todos os compostos foram filtrados e os ensaios foram realizados em triplicata, em três dias independentes.

#### **3.2 Efeito dos compostos sobre a viabilidade celular**

##### **3.2.1 Cultivo celular**

Fibroblastos da linhagem L3T3 foram cultivados em Meio de Eagle Modificado por Dulbecco (DMEM; Gibco, Grand Island, NY, EUA) suplementado com 10% de soro bovino fetal (FBS; Gibco), 100 UI/mL de penicilina, 100 µg/mL de estreptomicina e 2 mmol/L de glutamina (Gibco) em incubadora umidificada com 5% de CO<sub>2</sub> e 95% de ar a 37°C (Isotemp Fisher Scientific, Pittsburgh, PA, EUA). As culturas de células foram subcultivadas a cada 2 dias até atingir a formação de uma monocamada com um número adequado de células para os ensaios subsequentes (CAIAFFA *et al.*, 2017).

##### **3.2.2 Análise da viabilidade celular**

Este ensaio foi conduzido segundo estudos anteriores de Caiaffa *et al.* (2017). Células L3T3 foram submetidas ao tratamento com tripsina (TrypLETM Express, Life Technologies Inc.) por 5 min a 37°C e semeadas (10<sup>5</sup> células/ por poço) e pré-incubadas por 24 h. Em seguida, as células então foram estimuladas com 1) grupo controle: meio DMEM; 2) solução de hidróxido de cálcio (1mg/mL) e 3) grupos experimentais (EGCG, taxifolina) por 24h em concentrações decrescentes a partir de 1 mg/mL seguida de 6 diluições subsequentes. O sobrenadante foi removido e a viabilidade celular foi avaliada pelo método da resazurina. As células foram lavadas

com PBS e uma solução de resazurina (5 µg/mL) foi adicionada ao meio de cultura por 4h. Então, amostras foram retiradas de cada poço para realização da leitura em espectrofotômetro. A absorbância foi lida a em leitor de microplacas (Biotek, Winooski, VT) a 570 e 600nm. Os valores obtidos das 2 alíquotas foram calculados para fornecer um valor único para cada poço. As médias foram calculadas para os grupos e transformadas em porcentagens de viabilidade celular em relação ao controle negativo (DMEM), que foi definido como tendo 100% de metabolismo celular.

### **3.3 Efeito dos compostos sobre a migração celular**

Os ensaios de migração celular foram conduzidos em uma placa contendo um dispositivo em forma de pino (VP Scientific VP-408FH, San Diego, CA), inserido em cada poço utilizando somente os compostos nas concentrações consideradas não citotóxicas pelo teste de viabilidade celular. Esse dispositivo foi utilizado para criar áreas padronizadas no centro dos poços onde não houve crescimento celular (áreas de “feridas”). As células foram adicionadas em cada poço e mantidas em crescimento celular por 24h. No final desse período, o dispositivo foi removido e as células foram expostas sob ação dos flavonoides nas concentrações de 0,062; 0,031 e 0,015 mg/mL durante 24h, 72h e 120h nas mesmas condições mencionadas no item 3.2.1. Em seguida, os poços foram lavados com PBS e as células fixadas com solução de 3,7% de formaldeído + 0,2% de Tritox-X100, 1X PBS por 30 min. Por fim, as células foram coradas com 0,25% azul de Coomassie + metanol 50% e ácido acético a 10% e deixadas para secar. As placas foram fotografadas e analisadas pela contagem de células que migraram a partir da área da ferida para o centro dela por meio do programa NIH-Image J e os valores expressos em % de células em relação ao controle (DMEM -100%) (SAN MIGUEL *et al.*, 2011).

### **3.4 Forma de análise dos dados**

Os dados foram analisados no programa estatístico SPSS 17.0 (SPSS GmbH, Munique, Alemanha). Os valores apresentaram distribuição normal (homogeneidade) e os dados foram submetidas a análise de variância (1-way

ANOVA) seguida pelo teste de Tukey. Todas as análises foram realizadas com nível de significância de 5%.

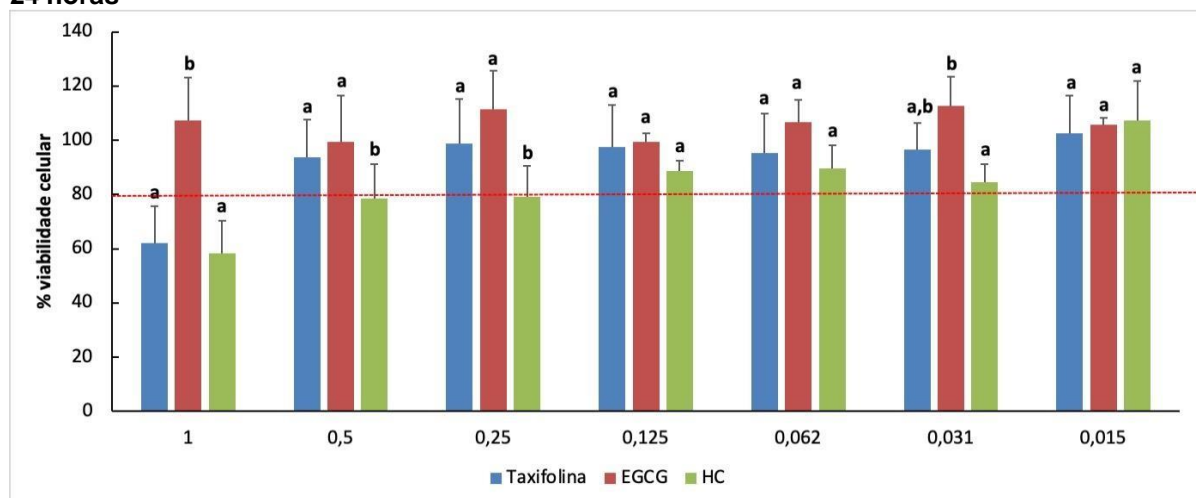
## 4 RESULTADOS

### 4.1 Efeito dos compostos sobre a viabilidade celular

Os compostos taxifolina, EGCG e o controle hidróxido de cálcio foram testados quanto seus efeitos citotóxicos pelo ensaio de viabilidade celular pelo método de resazurina. Os resultados são apresentados na **figura 1**.

Quando as células foram tratadas com EGCG apresentaram viabilidade acima de 80% a partir da primeira concentração testada (1 mg/mL) e mantiveram esse resultado em todas as concentrações testadas. A viabilidade celular para o tratamento com taxifolina foi superior a 80% a partir de 0,5 mg/mL, resultado que se manteve nas seguintes diluições. O hidróxido de cálcio apresentou toxicidade até 0,125 mg/mL. Para os ensaios seguintes foram selecionadas as concentrações de 0,062; 0,031 e 0,015 mg/mL que foram citocompatíveis para todos os compostos testados.

**Figura 1 - Ensaio de viabilidade celular. Médias (Desvios-Padrão-DP) das porcentagens de células viáveis obtidas após o tratamento com os compostos (mg/mL) testados no período de 24 horas**



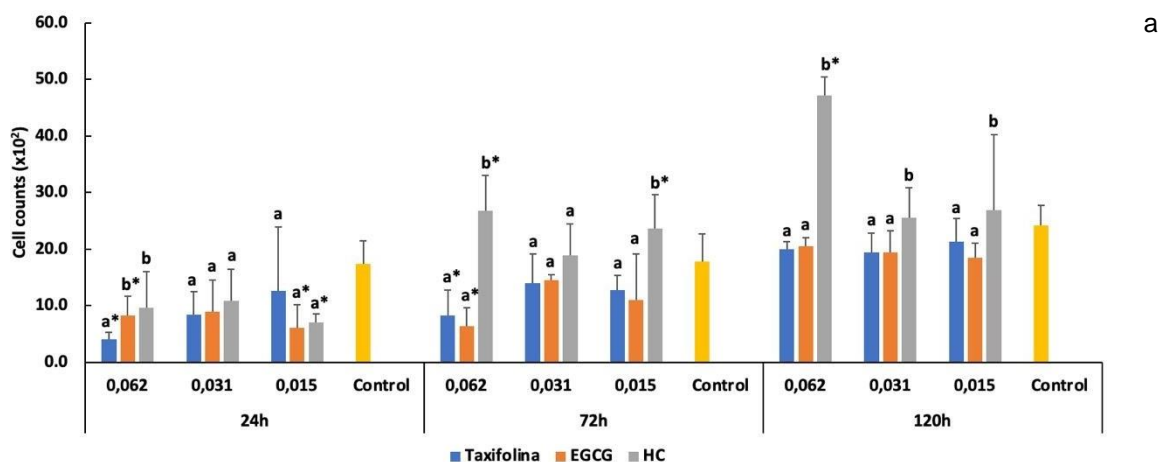
<sup>a</sup> Letras minúsculas diferentes mostram diferença entre os grupos de compostos, em cada concentração avaliada, de acordo com ANOVA e teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Fonte: Autor, 2021

## 4.2 Efeitos dos compostos sobre a migração celular

A **figura 2** apresenta o efeito dos compostos sobre a migração celular. No período de 24h, considerando a concentração de 0,062 mg/mL, diferença estatística foi observada entre taxifolina, com menor taxa de migração e os dois grupos EGCG e hidróxido de cálcio. Nesta concentração, comparando com o controle, tanto EGCG quanto taxifolina apresentaram taxas de migração inferiores ao controle. Na concentração 0,031, não houve diferença entre os grupos e entre eles e o controle. E na concentração de 0,015 mg/mL, apesar dos compostos não diferirem entre si, EGCG e hidróxido de cálcio diferiram do controle. Nos períodos de 72h e 120h, o hidróxido de cálcio demonstrou o maior efeito sobre a migração das células, quando comparado aos outros compostos, em especial na concentração de 0,062 mg/mL. Efeito similar foi observado para os demais compostos nesses tempos finais nas concentrações de 0,031 e 0,015 mg/mL, com o aumento da migração celular à medida que a concentração diminuiu. Nas **figuras 4, 5 e 6** foram selecionadas imagens representativas do ensaio de migração celular para os tratamentos com taxifolina, EGCG e hidróxido de cálcio, demonstrando as “áreas de feridas” sendo completamente preenchidas com as células ao longo do tempo, com destaque para o grupo hidróxido de cálcio.

**Figura 2 - Ensaio de migração celular. Médias (Desvios-Padrão-DP) das contagens celulares nas áreas de feridas, nos períodos de 24h, 72h e 120 h**

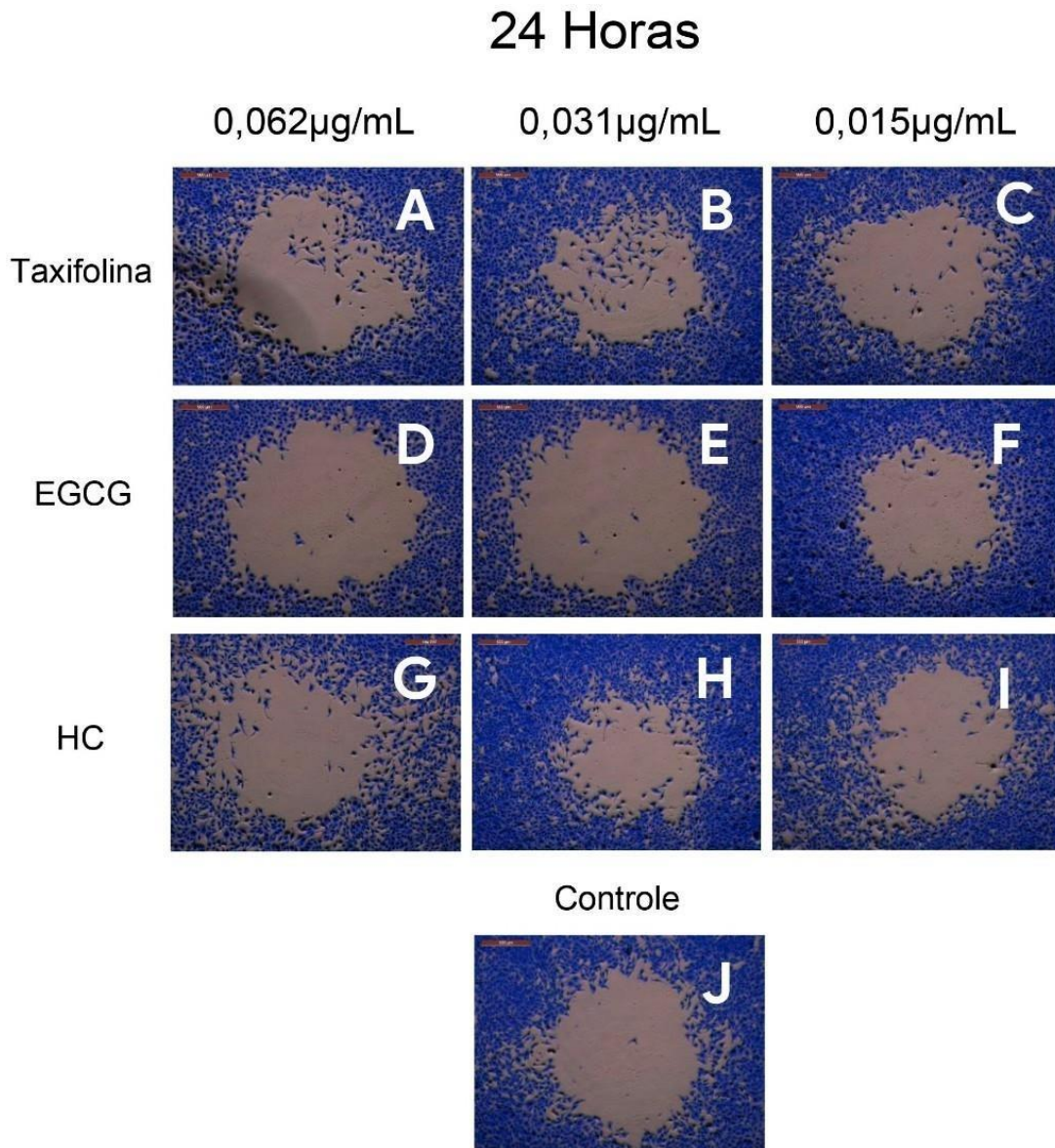


Letras minúsculas diferentes mostram diferença entre os grupos de compostos, em cada concentração avaliada, de acordo com ANOVA e teste de Tukey, considerando  $p < 0,05$ .

\* Diferença estatística entre os grupos e o controle, em cada tempo avaliado, de acordo com o teste de Dunnett, considerando  $p < 0,05$ .

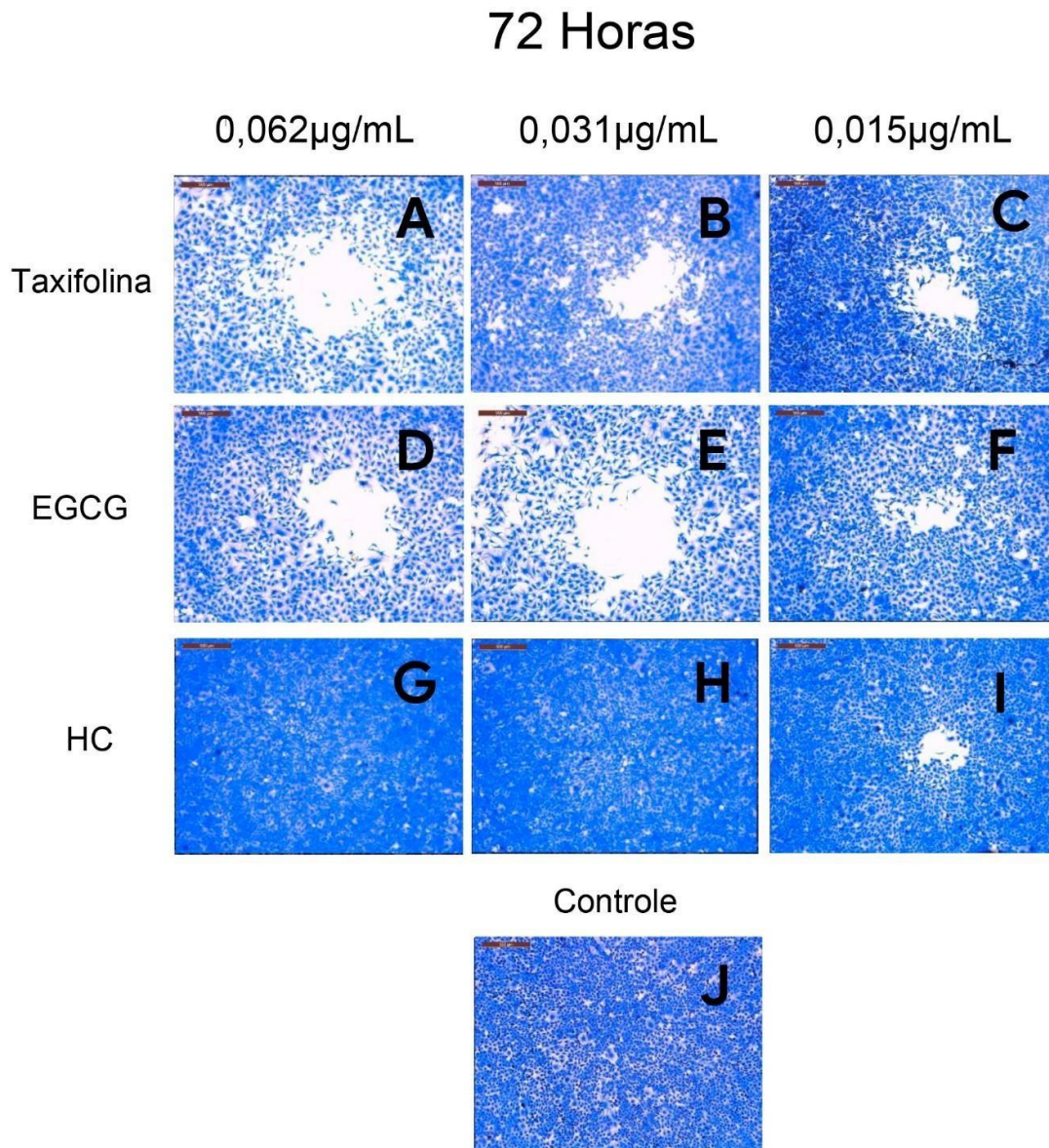
Fonte: Autor, 2022

Figura 3 - Imagens representativas dos ensaios de migração celular em 24h. Nota-se efeito similar entre os grupos taxifolina, EGCG e hidróxido de cálcio sobre migração das células após tratamento de 24h



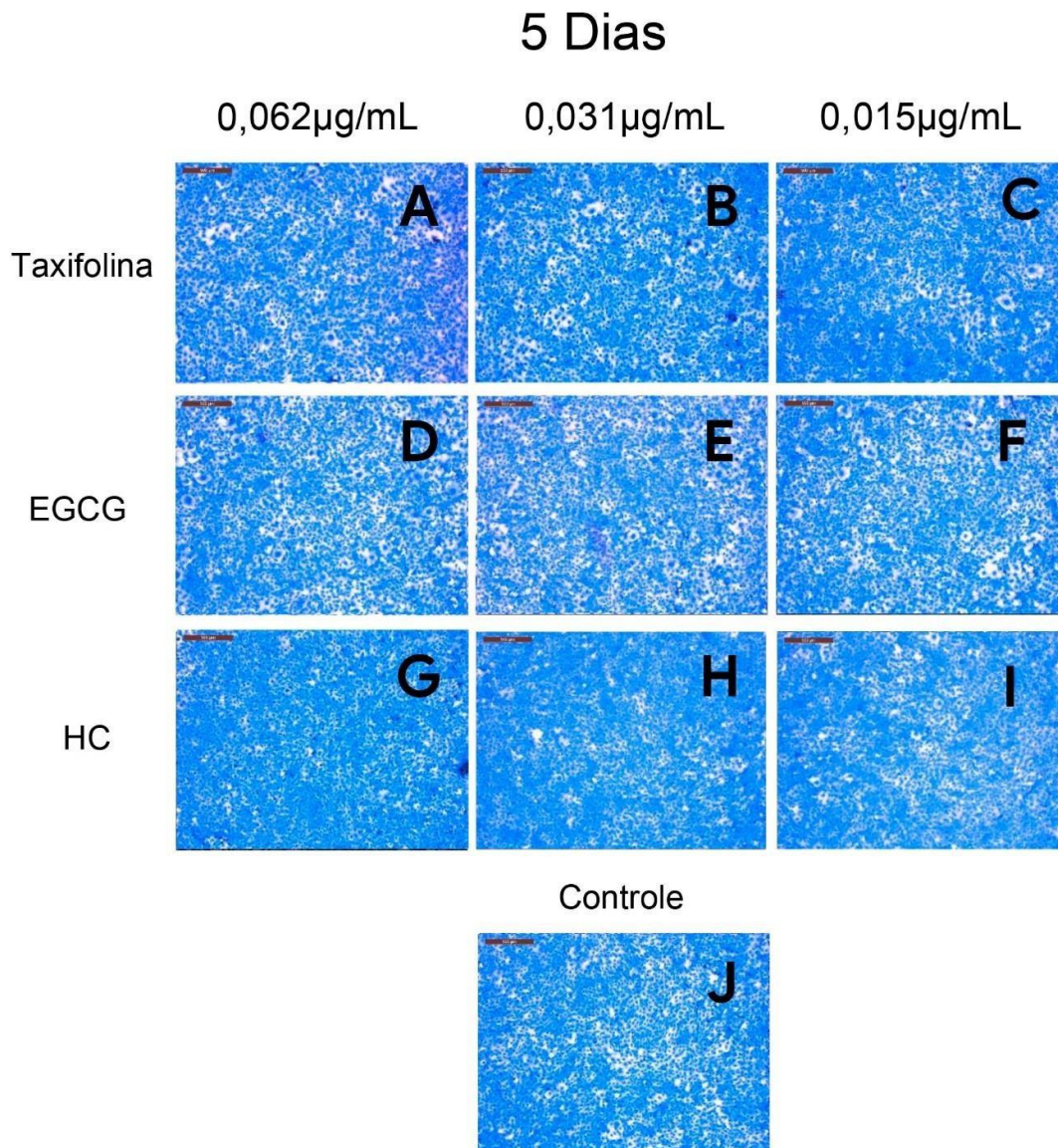
Fonte: Autor, 2022

Figura 4 - Imagens representativas dos ensaios de migração celular em 72h. Nota-se efeito similar entre os grupos taxifolina e EGCG e efeito superior para o grupo hidróxido de cálcio sobre migração das células após 72h de tratamento



Fonte: Autor, 2022

Figura 5 - Imagens representativas dos ensaios de migração celular em 120 h ou 5 dias. Nota-se efeito similar entre os grupos taxifolina e EGCG e efeito superior para o grupo hidróxido de cálcio sobre migração das células após 120h de tratamento



Fonte: Autor, 2022

## 5 Discussão

A migração celular é um importante passo no processo de reparo tecidual e tem como base o reconhecimento de sinais químicos que determinam a direção do movimento e o tipo de célula atraída (TREPAT *et al.*, 2012). Os fibroblastos fazem parte da constituição da polpa dentária e da região periapical (MOULE *et al.*, 1995) e possuem a capacidade de produzirem matriz extracelular frente a um agente agressor e induzirem o reparo tecidual (STAQUET *et al.*, 2008; STANISLAWSKI *et al.*, 1997). Na literatura podemos encontrar trabalhos evidenciando o efeito positivo dos flavonoides sobre a proliferação, migração e reparo celular (CARVALHO *et al.*, 2021; CHE ZAIN *et al.*, 2020), sobretudo, pela capacidade desses compostos em reduzirem radicais livres formados durante o processo de reparo tecidual (ANTUNES-RICARDO *et al.*, 2015).

Estudos demonstram que o EGCG é capaz de estimular o reparo tecidual de células de interesse odontológico. O composto apresentou atividade sobre a diferenciação de células pulpares tão como em células periodontais através do aumento das proteínas ligadas a via de sinalização PI3K/Akt de forma dose-dependente (DING *et al.*, 2021). Além disso, é possível encontrar trabalhos sobre a atividade osteogênica do EGCG. Kim *et al.* (2019) demonstrou a capacidade do composto em induzir a proliferação e a atividade de fosfatase alcalina em células pulpares humanas. Han *et al.* (2011) observaram que o estímulo causado pelo EGCG pode ser proliferativo ou antiproliferativo, dependendo da concentração do composto. Em células de fibroblastos da derme humana neonatal (mHDFs), esses autores verificaram que em doses baixas (100-200  $\mu$ M) causou mínimas alterações na morfologia e na proporção de células, entretanto, em doses altas (400-800  $\mu$ M) reduziu o número de células aderidas e induziu a apoptose (HAN *et al.*, 2011). Em outro estudo, EGCG estimulou a proliferação e migração de células tronco neurais ao redor de lesões traumáticas no cérebro de ratos. Além disso, EGCG eliminou ou absorveu os radicais livres produzidos pela injúria tecidual ao redor da região afetada (ITOH *et al.*, 2012). EGCG quando incorporado em matrizes de ácido hialurônico e ácido poli-láctico-co-glicólico (poly(lactic-co-glycolic acid, PLGA PLGA) aumentou a adesão e a proliferação de fibroblastos dérmicos humanos nessa matriz e acelerou o reparo de áreas de feridas em diabéticos após duas semanas da

aplicação de matriz, aumentando a reepitelização, neovascularização e a deposição de colágeno (SHIN et al., 2016).

Além do efeito antimicrobiano da taxifolina como observado sobre *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* (SHEVELEV et al., 2020, 2018.), ela também pode aumentar a expressão da enzima Anidrase carbônica IX (CA9) e causar inibição da proteína HIF-1a frente a hipoxia celular em células pulpares, efeito esse que pode manter as células vivas frente a condições inflamatórias (FU et al., 2021). Taxifolina reduziu a morte de células epiteliais afetadas pelo cádmio (metal pesado que induz apoptose celular) na concentração de até 100  $\mu\text{M}$ . O efeito protetor da taxifolina foi relacionado à sua capacidade antioxidativa e reduzir a atividade de proteínas apoptóticas como catepsina D e B, caspase 3 e 7 (MOON, LEE & NAM, 2019). Duque et al. (2022) demonstraram que EGCG e taxifolina exibem um comportamento terapêutico dependente da concentração, tempo e modo de aplicação, porém, em concentrações baixas (EGCG abaixo de 50  $\mu\text{M}$  e taxifolina abaixo de 200  $\mu\text{M}$ ) não foram tóxicos para células tronco da papila dentária, aumentando a proliferação celular, a atividade de fosfatase alcalina e a produção de nódulos de mineralização, em concentrações mais baixas (DUQUE et al., 2022).

## 6 CONCLUSÃO

Conclui-se que os flavonoides taxifolina e EGCG foram citocompatíveis e não influenciaram a migração de fibroblastos nas concentrações mais baixas estudadas.

## REFERÊNCIAS

- ANTUNES-RICARDO, M.; GUTIERREZ-URIBE, J.; O SERNA-SALDIVAR, S. Anti-inflammatory glycosylated flavonoids as therapeutic agents for treatment of diabetes-impaired wounds. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 15, n. 23, p. 2456-2463, 2015.
- CAIAFFA, K. S. *et al.* KR-12-a5 is a non-cytotoxic agent with potent antimicrobial effects against oral pathogens. **Biofouling**, v. 33, n. 10, p. 807-818, 2017.
- CARVALHO, Mikaella TB *et al.* Wound healing properties of flavonoids: A systematic review highlighting the mechanisms of action. **Phytomedicine**, v. 90, p. 153636, 2021.
- CHATZOPOULOU, A. *et al.* Depsides and other polar constituents from *Origanum dictamnus* L. and their in vitro antimicrobial activity in clinical strains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 10, p. 6064-6068, 2010.
- CHE ZAIN, M. S. *et al.* In vitro wound healing potential of flavonoid c-glycosides from oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) leaves on 3t3 fibroblast cells. **Antioxidants**, v. 9, n. 4, p. 326, 2020.
- DING, C. *et al.* Epigallocatechin gallate affects the proliferation of human alveolar osteoblasts and periodontal ligament cells, as well as promoting cell differentiation by regulating PI3K/Akt signaling pathway. **Odontology**, v. 109, n. 3, p. 729-740, 2021.
- DUQUE, C. *et al.* Effect of taxifolin and epigallocatechin-3-gallate on biomineralization potential of stem cells from dental apical papilla. **Archives of Oral Biology**, v. 138, p. 105413, 2022.
- FU, X. *et al.* Taxifolin Protects Dental Pulp Stem Cells under Hypoxia and Inflammation Conditions. **Cell Transplantation**, v. 30, p. 09636897211034452, 2021.
- HAN, D. W. *et al.* Epigallocatechin-3-gallate regulates cell growth, cell cycle and phosphorylated nuclear factor- $\kappa$ B in human dermal fibroblasts. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 32, n. 5, p. 637-646, 2011.
- HANCOCK III, H. H. *et al.* Bacteria isolated after unsuccessful endodontic treatment in a North American population. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology**, v. 91, n. 5, p. 579-586, 2001.

- HARGREAVES, K. M. *et al.* Regeneration potential of the young permanent tooth: what does the future hold?. **Pediatric Dentistry**, v. 30, n. 3, p. 253-260, 2008.
- HUO, C. *et al.* The challenge of developing green tea polyphenols as therapeutic agents. **Inflammopharmacology**, v. 16, n. 5, p. 248-252, 2008.
- IGLESIAS-LINARES, A. *et al.* Stem cells in current paediatric dentistry practice. **Archives of Oral Biology**, v. 58, n. 3, p. 227-238, 2013.
- ITOH, T. *et al.* (-)-Epigallocatechin-3-gallate increases the number of neural stem cells around the damaged area after rat traumatic brain injury. **Journal of Neural Transmission**, v. 119, n. 8, p. 877-890, 2012.
- JEONG, K. W. *et al.* Screening of flavonoids as candidate antibiotics against *Enterococcus faecalis*. **Journal of Natural Products**, v. 72, n. 4, p. 719-724, 2009.
- JUNG, I. Y.; LEE, S. J.; HARGREAVES, K. M. Biologically based treatment of immature permanent teeth with pulpal necrosis: a case series. **Journal of Endodontics**, v. 34, n. 7, p. 876-887, 2008.
- KANWAL, Q. *et al.* Antifungal activity of flavonoids isolated from mango (*Mangifera indica* L.) leaves. **Natural Product Research**, v. 24, n. 20, p. 1907-1914, 2010.
- KIM, S. Y. *et al.* A case report of a tongue ulcer presented as the first sign of occult tuberculosis. **BMC Oral Health**, v. 19, n. 1, p. 1-5, 2019.
- LEE, P.; TAN, K. S. Effects of Epigallocatechin gallate against *Enterococcus faecalis* biofilm and virulence. **Archives of Oral Biology**, v. 60, n. 3, p. 393-399, 2015.
- MOON, S. H.; LEE, C. M.; NAM, M. J. Cytoprotective effects of taxifolin against cadmium-induced apoptosis in human keratinocytes. **Human & Experimental Toxicology**, v. 38, n. 8, p. 992-1003, 2019.
- MOULE, A. J.; LI, H.; BARTOLD, P. M. Donor variability in the proliferation of human dental pulp fibroblasts. **Australian Dental Journal**, v. 40, n. 2, p. 110-114, 1995.
- NAIR, P. N. R. *et al.* Persistent periapical radiolucencies of root-filled human teeth, failed endodontic treatments, and periapical scars. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology**, v. 87, n. 5, p. 617-627, 1999.

NAKANISHI, T. *et al.* Catechins inhibit vascular endothelial growth factor production and cyclooxygenase-2 expression in human dental pulp cells. **International Endodontic Journal**, v. 48, n. 3, p. 277-282, 2015.

NAKANISHI, T. *et al.* Anti-inflammatory effect of catechin on cultured human dental pulp cells affected by bacteria-derived factors. **European Journal of Oral Sciences**, v. 118, n. 2, p. 145-150, 2010.

PARIROKH, M.; TORABINEJAD, M. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review—part I: chemical, physical, and antibacterial properties. **Journal of Endodontics**, v. 36, n. 1, p. 16-27, 2010.

PIETTA, P. G. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, v. 63, n. 7, p. 1035-1042, 2000.

PILSAKOVA, L.; RIECANSKÝ, I.; JAGLA, F.. The physiological actions of isoflavone phytoestrogens. **Physiological Research**, v. 59, n. 5, p. 651, 2010.

SAN MIGUEL, S. M. *et al.* Bioactive antioxidant mixtures promote proliferation and migration on human oral fibroblasts. **Archives of Oral Biology**, v. 56, n. 8, p. 812-822, 2011.

SHAHZAD, M. *et al.* Selected dietary (poly) phenols inhibit periodontal pathogen growth and biofilm formation. **Food & Function**, v. 6, n. 3, p. 719-729, 2015.

SHEEHY, E. C.; ROBERTS, G. J. Use of calcium hydroxide for apical barrier formation and healing in non-vital immature permanent teeth: a review. **British Dental Journal**, v. 183, n. 7, p. 241-246, 1997.

SHEVELEV, Alexei B. *et al.* A study of antimicrobial activity of polyphenols derived from wood. **Bulletin of Russian State Medical University**, n. 4, p. 46-49, 2018.

SHEVELEV, A. B. *et al.* In Vivo antimicrobial and wound-healing activity of resveratrol, dihydroquercetin, and dihydromyricetin against *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Candida albicans*. **Pathogens**, v. 9, n. 4, p. 296, 2020.

SHIN, Y. C. *et al.* Hyaluronic acid/PLGA core/shell fiber matrices loaded with EGCG beneficial to diabetic wound healing. **Advanced Healthcare Materials**, v. 5, n. 23, p. 3035-3045, 2016.

SIQUEIRA JR, J. F.; RÔÇAS, I. N. Diversity of endodontic microbiota revisited. **Journal of Dental Research**, v. 88, n. 11, p. 969-981, 2009.

SIQUEIRA JR, J. F.; GUIMARÃES-PINTO, T.; RÔÇAS, I. N. Effects of chemomechanical preparation with 2.5% sodium hypochlorite and intracanal medication with calcium hydroxide on cultivable bacteria in infected root canals. **Journal of Endodontics**, v. 33, n. 7, p. 800-805, 2007.

STANISLAWSKI, L. *et al.* In vitro culture of human dental pulp cells: some aspects of cells emerging early from the explant. **Clinical Oral Investigations**, v. 1, n. 3, p. 131-140, 1997.

STAQUET, M. J. *et al.* Different roles of odontoblasts and fibroblasts in immunity. **Journal of Dental Research**, v. 87, n. 3, p. 256-261, 2008.

TANEJA, S.; KUMARI, M.; PARKASH, H. Nonsurgical healing of large periradicular lesions using a triple antibiotic paste: A case series. **Contemporary Clinical Dentistry**, v. 1, n. 1, p. 31, 2010.

TREPAT, X.; CHEN, Z.; JACOBSON, K. Cell migration. **Comprehensive Physiology**, v. 2, n. 4, p. 2369, 2012.

TRIPOLI, E. *et al.* Citrus flavonoids: Molecular structure, biological activity and nutritional properties: a review. **Food Chemistry**, v. 104, n. 2, p. 466-479, 2007.

WAGONER, J. *et al.* Multiple effects of silymarin on the hepatitis C virus lifecycle. **Hepatology**, v. 51, n. 6, p. 1912-1921, 2010.

WEIDMANN, A. E. Dihydroquercetin: More than just an impurity? **European Journal of Pharmacology**, v. 684, n. 1-3, p. 19-26, 2012.