

**A UCS É
PRA VOCÊ
QUE CRIA O
FUTURO.**



**XXIX Encontro de Jovens Pesquisadores
e XI Mostra Acadêmica de Inovação e Tecnologia**

De 5 a 7/10

Local: UCS - Cidade Universitária,
Caxias do Sul

jovenspesquisadores.com.br



Estágio/UCS



RELAÇÃO ENTRE GENOTOXICIDADE E DEGENERAÇÃO DO DISCO INTERVERTEBRAL EM PACIENTES COM DISCOPATIA DEGENERATIVA LOMBAR

Fatores de degeneração no DIV

Autores: Camila Basso¹, Charles André Carazzo¹, Manuela Peletti-Figueiró¹, Asdrubal Falavigna¹ (Orientador)

¹Laboratório de Terapia Celular/LATEC

INTRODUÇÃO / OBJETIVO

A dor lombar é considerada incapacitante para milhões de pessoas e está entre as patologias com maior índice de afastamento do trabalho.¹ Assim, a Discopatia Degenerativa Lombar (DDL) é considerada uma doença progressiva e multifatorial, atribuída ao efeito cumulativo dos fatores ambientais, traumáticos, senescência celular e genética.²

O microambiente do Disco Intervertebral (DIV) é caracterizado pela privação de nutrientes, níveis elevados de citocinas inflamatórias (TNF- α e IL-1) e estresse oxidativo.³ Estas características limitam tanto a densidade quanto a atividade metabólica das células e a reparação de lesões.²

Nesse sentido, o objetivo desse estudo foi identificar a possível relação entre a genotoxicidade e a degeneração do DIV de pacientes com DDL.

EXPERIMENTAL

Esse estudo foi aprovado pela Plataforma Brasil e CEP/UCS sob números de CAAE: 42668520.0.0000.5341 e 2.503.156.

As análises foram realizadas até o presente momento em 4 pacientes que tiveram seu tratamento para DDL com indicação cirúrgica e assinaram o TCLE.

Assim, os DIVs obtidos no procedimento cirúrgico foram dissociados mecânica e enzimaticamente, filtrados e centrifugados.^{4,5} A suspensão celular foi eluída e utilizada no Ensaio Cometa Alcalino, conforme demonstrado na Figura 1.^{6,7}

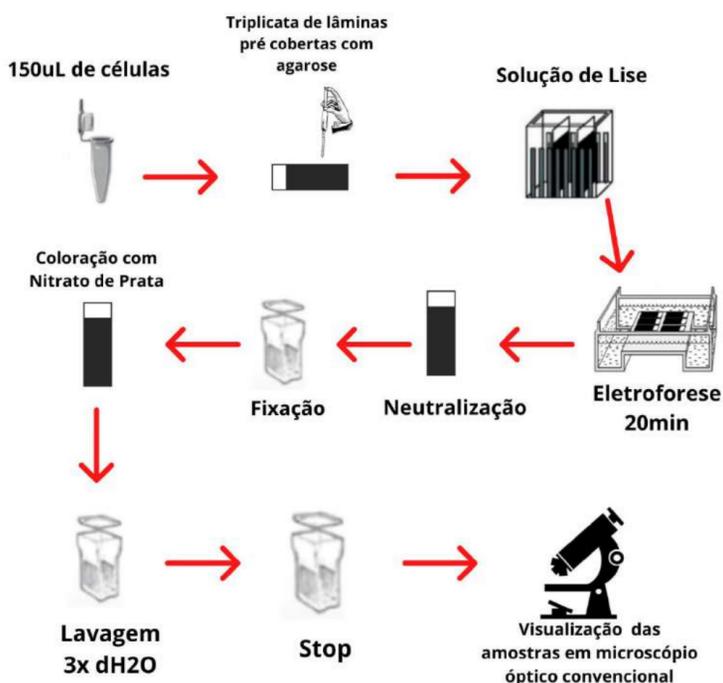


Figura 1: Esquema metodológico do Ensaio Cometa Alcalino (adaptado).⁸

Para a definição da genotoxicidade foram calculados: o Índice de Dano Genotóxico (ID) e a Frequência de Dano genotóxico (FD).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi possível identificar todos os graus de danos genotóxicos através do Ensaio Cometa Alcalino nas amostras de DIV avaliadas. Além disso, apesar do N reduzido, observou-se uma tendência de aumento do ID genotóxico nas amostras com grau IV de degeneração na classificação de Pfirmann.

Os dados demonstraram a eficiência do método de isolamento das células do DIV para a determinação do ID e FD genotóxicos, permitindo a obtenção de células em quantidade suficiente para a análise no Ensaio Cometa Alcalino.

Esse estudo mostrou a importância da realização de mais pesquisas (com aumento do N) para estabelecer a relação precisa entre a genotoxicidade e os graus de severidade da patologia.

Tabela 1: Dados amostrais e resultados da Ensaio Cometa para ID (índice de Dano) e FD (Frequência de Dano) genotóxicos.

Paciente	Idade	Sexo	Classificação de Pfirmann	Ensaio Cometa	
				ID (0-400)	FD (%)
1	60	Masculino	III	209	99
2	55	Masculino	III	214	100
3	47	Masculino	IV	271	100
4	39	Masculino	IV	256	97

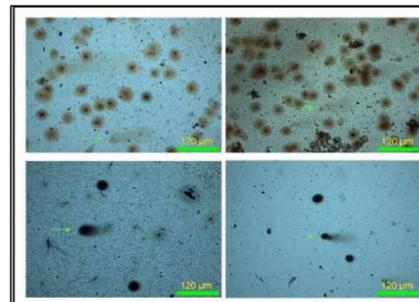


Figura 2: Imagens demonstrativas do Ensaio Cometa Alcalino no DIV obtidos de pacientes com DDL (20X). As setas em verde destacam células com graus de danos genotóxicos mais elevados.

CONCLUSÕES

Esse trabalho permitiu concluir a importância da continuidade do estudo com o aumento do número amostral e a determinação exata da interferência genotóxica na DDL, inclusive com a mensuração da Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) no microambiente do DIV.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Wu A, March L, Zheng X, Jinfeng H, Wang X, Zhao J, Blyth FM, Smith E, Buchbinder R, Hoy D. Global low back pain prevalence and years lived with disability from 1990 to 2017: estimates from the Global Burden of Disease Study 2017. *Annals of Translational Medicine*. 2020
- 2-Urban JPGG, Smith S, Fairbank JCTT. Nutrition of the Intervertebral Disc. *Spine (Phila Pa 1976)*. 29(23):2700-9. 2004.
- 3- Luoma K, Riihimäki H, Luukkainen R, Raininko R, Viikari-Juntura E, Lamminen A. Low back pain in relation to lumbar disc degeneration. *Spine (Phila Pa 1976)*. 25(4):487-92. 2000.
- 4- Vadalá G, Studer RK, Sowa G, Spiezia F, Lucu C, Denaro V, Gilbertson LG, Kang JK. Coculture of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells and Nucleus Pulposus Cells Modulate Gene Expression Profile Without Cell Fusion. *Spine (Phila Pa 1976)*. 33(8):870-6. 2008.
- 5- Peletti-Figueiró M, Roesch-Ely M, Machado DC, Falavigna A, Henriques JAP. Análise histológica, imunohistoquímica e isolamento de células-tronco mesenquimais adultas do disco intervertebral degenerado aplicadas a medicina regenerativa. Tese de Doutorado. Universidade de Caxias do Sul. 2014.
- 6- Hartmann A, Agurell E, Beevers C, Brendler-Schwaab S, Burlinson B, Clay P, Collins A, Smith A, Speit G, Thubaud V, Tice RR. Recommendations for conducting the in vivo alkaline Comet assay. 4th International Comet Assay Workshop. *Mutagenesis*. 18(1):45-51. 2003.
- 7- Nadin SB, Vargas-Roig LM, Ciocca DR. A Silver Staining Method for Single-cell Gel Assay. *J Histochem Cytochem*. 49(9):1183-6. 2001.
- 8- Luiz Gomes Júnior A. Métodos de investigação em genotoxicidade em ensaios pré-clínicos de novos fitomedicamentos. Programa de pós-graduação em Ciências Farmacéuticas. Universidade Federal de Piauí. 2012.