

# AVALIAÇÃO DO EFEITO DE DIFERENTES BIOMATERIAIS NA VIABILIDADE DE CÉLULAS- TRONCO

**Thallyson Medeiros**

UFRGS, BRAZIL, thallysonpedro@icloud.com

**Luiza Oliveira**

UFRGS, BRAZIL, luizaoliveira@hotmail.com

**Natasha Maurmann**

UFRGS, BRAZIL, pesquisa.natasha@gmail.com

**Marina Trevelin Souza**

UFSCAR, BRAZIL, marina@vetrabrasil.com

**Patricia Pranke**

UFRGS, BRAZIL, patriciapranke@ufrgs.br

## INTRODUÇÃO

Segundo Langer, biomateriais são substâncias (ou combinação de substâncias) de origem natural ou sintética, que podem ser utilizadas no tratamento, substituição e amplificação de qualquer tecido (LANGER, 1995). São chamados de biomateriais todos os materiais utilizados para fins biomédicos, como ligas metálicas, cerâmicas, polímeros e compósitos (LOS et al., 2018).

Biocerâmicas (BC) são materiais biocompatíveis sintéticos que incluem uma gama vasta de biomateriais, como os biovidros (como Bioglass 45S5), vitro-cerâmicas (como Biosilicato®), fosfatos de cálcio, hidroxiapatita (HAp), entre outros.

O biovidro 45S5 foi o primeiro material bioativo reportado, sendo desenvolvido por Hench et al. no fim da década de 60, e apresenta uma composição relativamente simples com apenas 4 componentes ( $\text{SiO}_2$ ,  $\text{Na}_2\text{O}$ ,  $\text{CaO}$  e  $\text{P}_2\text{O}_5$ ), possuindo alta bioatividade. Esse material apresenta uma composição aproximada em peso de 45%  $\text{SiO}_2$ , 24,5%  $\text{Na}_2\text{O}$ , 24,5%  $\text{CaO}$  e 6%  $\text{P}_2\text{O}_5$  (HENCH, 1993). Essa composição, quando implantada no corpo, é capaz de se ligar quimicamente com os tecidos ósseos e tecidos moles (VÄLIMÄKI e ARO, 2006).

O Biosilicato® é uma vitrocerâmica bioativa desenvolvida no Laboratório de Materiais Vítreos (LaMaV) da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar-BR). O Biosilicato® também apresenta alta bioatividade, sendo, neste quesito, superior às cerâmicas disponíveis no mercado. Os desenvolvedores do Biosilicato declaram que:

O Biosilicato® é tão bioativo quanto os melhores biovidros comerciais, mas apresenta claras vantagens, tais como, ausência de arestas cortantes na forma particulada e, na forma monolítica, resistência superior à fratura e razoável usinabilidade (SIQUEIRA e ZANOTTO, 2011).

HAp é um dos principais constituintes do esmalte dentário e do tecido ósseo. A síntese de HAp na forma de pó pode ser realizada por precipitação química úmida. Nessa reação, o hidróxido de cálcio ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) serve como fonte de cálcio e o ácido orto-fosfórico ( $\text{H}_3\text{PO}_4$  na água) é utilizado como fonte de fósforo. HAp é um dos biomateriais mais utilizados na engenharia de tecido ósseo.

## METODOLOGIA

Para a realização dos experimentos, foram utilizadas células-tronco mesenquimais (CTM) provenientes da polpa de dentes deciduos exfoliados humanos. As CTM foram cultivadas em meio de cultura de Eagle modificado por Dulbecco de baixa glicose (DMEM) suplementado com 10% de soro fetal bovino, 100 U/mL de penicilina e 100 µg/mL de estreptomicina) e incubadas a 37°C e 5% de CO<sub>2</sub>. As células foram tripsinizadas e semeadas na densidade de 10.000/poço na quinta passagem em placa de cultivo de 96 poços. Após 24 horas, foi adicionado o tratamento de biovidro 45S5 e Biosilicato nas concentrações de 0 (controle), 0,25, 0,5, 1 e 2 mg/mL. HAp foi utilizada como controle (positivo) nas mesmas concentrações. Foi utilizado 200µL de meio com as diferentes concentrações nos respectivos poços. Após 48 horas, os biomateriais foram removidos, sendo adicionado 75 µL de brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT). Após 3 horas, foi realizada a remoção do MTT e adicionado 275 µL de Dimetil Sulfóxido P.A (DMSO) para dissolver os cristais formados pelo MTT e posterior leitura da absorbância de 200 µL em fotômetro de microplaca Multiskan™ FC nos comprimentos de onda 570 nm e 630 nm. Os resultados foram organizados em Excel e avaliados por ANOVA seguida pelo teste de Tukey.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados indicaram diferenças estatísticas entre os tratamentos ( $p < 0,0001$ ). Os valores de média e desvio padrão (DP) foram de  $0,26 \pm 0,03$  para controle de células cultivadas na placa de cultura (PC),  $0,22 \pm 0,05$  para 0,25 mg/mL de HAp,  $0,23 \pm 0,05$  para 0,5 mg/mL de HAp,  $0,21 \pm 0,04$  para 1 mg/mL de HAp e  $0,27 \pm 0,03$  para 2 mg/mL de HAp. No caso do Biosilicato, a média e DP foram de  $0,24 \pm 0,02$ ;  $0,24 \pm 0,02$ ;  $0,23 \pm 0,02$  e  $0,22 \pm 0,01$ , respectivamente, para 0,25 mg/mL, 0,5 mg/mL, 1 mg/mL e 2 mg/mL. Para o Biovidro 45S5, esses valores foram de  $0,23 \pm 0,01$  para 0,25 mg/mL;  $0,19 \pm 0,05$  ( $p < 0,01$  em comparação com o controle PC) para 0,5 mg/mL;  $0,20 \pm 0,04$  para 1 mg/mL, e  $0,18 \pm 0,02$  ( $p < 0,01$  em comparação com PC) para 2 mg/mL.

As concentrações de 0,5 e 2 mg/mL de 45S5 apresentaram diferença estatística em relação ao controle PC ( $p < 0,01$ ), mostrando

uma diminuição na viabilidade das células tratadas com essas concentrações. Isto pode ter ocorrido devido ao aumento de pH do meio decorrente da lixiviação rápida dos íons do biovidro ou bio-vitroceraâmica para o meio. Este fenômeno é vastamente conhecido e descrito na literatura (HENCH, 1993). O estudo de Rodrigues et al., de 2019 mostrou que as células estromais mesenquimais apresentaram padrões de compatibilidade satisfatórios com o Biovidro 45S5 por citotoxicidade indireta nas concentrações de 0,01, 0,1 e 1 mg/mL por 24 e 72 horas e ao crescer em contato em período de 7, 30 e 90 dias.

El-Gendy et al. em 2013 demonstraram o potencial do uso combinado das células estromais da polpa dental humana e o biovidro 45S5 na forma de *scaffolds* para a formação de um tecido semelhante ao osso tanto em análises *in vitro* quanto *in vivo*. Nesse estudo, para que houvesse um controle mais adequado do pH do meio, os *scaffolds* de biovidro 45S5 foram cultivados juntamente às células por 5 dias em incubação dinâmica, para posterior incubação estática pelo período de 2 a 4 semanas.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nesse estudo, Biovidro 45S5 diminuiu a viabilidade das células-tronco nas concentrações de 0,5 e 2 mg/mL, entretanto, nenhuma concentração analisada diminuiu a viabilidade celular em mais de 30%, o que demonstra boa compatibilidade de todos os materiais testados, conforme preconiza a norma ISO 10993-5. Os biovidros são biomateriais consagrados na enxertia óssea pois apresentam alta biocompatibilidade e bioatividade, sendo utilizados clinicamente por mais de 35 anos. Estudos que envolvem a análise de sua interação com células-tronco são de suma importância, já que trazem consigo novos entendimentos sobre a ação destes biomateriais e possibilitam a criação de novas tecnologias para área médica.

**Palavras-chave:** Biovidros, Biovitroceraâmicas, Células-tronco, Viabilidade celular.

## REFERÊNCIAS

EL-GENDY R, YANG XB, NEWBY PJ, BOCCACCINI AR, KIRKHAM J. Osteogenic differentiation of human dental pulp stromal cells on 45S5

Bioglass® based scaffolds in vitro and in vivo. **Tissue Eng Part A**. 2013 Mar;19(5-6):707-15. doi: 10.1089/ten.TEA.2012.0112.

HENCH, L. L. **An introduction to bioceramics**. World scientific, 1993.

LANGER, R. Biomaterials and biomedical engineering. **Chemical Engineering Science**, v. 50, n. 24, p. 4109-4121, 1995.

LOS, M. J.; HUDECKI, A; WIECHEC, E (Ed.). **Stem cells and biomaterials for regenerative medicine**. Academic Press, 2018.

RODRIGUES, C. et al. Bioglass 45S5: Structural characterization of short range order and analysis of biocompatibility with adipose-derived mesenchymal stromal cells in vitro and in vivo. **Materials Science and Engineering: C**, v. 103, p. 109781, 2019.

SIQUEIRA, R. L.; ZANOTTO, E. D. Biosilicato®: histórico de uma vitrocerâmica brasileira de elevada bioatividade. **Química nova**, v. 34, p. 1231-1241, 2011.

SOUZA, M. T. Desenvolvimento de Manta Flexível Altamente Bioativa. 2011. 150 p. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Departamento de Engenharia de Materiais, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2011.

VÄLIMÄKI, V.-V.; ARO, H. T. Molecular basis for action of bioactive glasses as bone graft substitute. **Scandinavian journal of surgery**, v. 95, n. 2, p. 95-102, 2006.