

Análise da biocompatibilidade de substitutos ósseos em osteoblastos derivados de osso humano

Fernanda Saraiva de Oliveira, Samira Esteves Afonso Camargo, Noala Vicensoto Moreira Milhan. Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos, Odontologia, fernanda.saraiva@fosjc.unesp.br – bolsa auxílio Fapesp.

Palavras Chave: Hidroxiapatita bovina, Beta fosfato tricálcico, Biocompatibilidade osteoblástica.

Introdução

Substitutos ósseos são amplamente utilizados na odontologia para reconstruir ou substituir falhas ósseas em diversos casos.

O β -fosfato tricálcico (β -TCP) é um biomaterial usado como enxerto ósseo. É biocompatível, absorvível e apresenta propriedades de osteocondução. Contudo, estudos têm demonstrado que pequenas alterações em suas propriedades podem levar a diferentes comportamentos biológicos. Dessa forma, o estudo dos substitutos ósseos com características superiores e o aperfeiçoamento dos materiais já existentes, são muito importantes para a evolução das pesquisas médico-odontológicas no setor de biomateriais.

Objetivos

Objetivou-se investigar e comparar in vitro o comportamento de osteoblastos-like (MG 63) em contato indireto com os substitutos ósseos Beta fosfato tricálcico (β -TCP - Bionnovation) e Beta fosfato tricálcico experimental (β -TCP experimental). Analisando a biocompatibilidade destes materiais, através dos testes de citotoxicidade e genotoxicidade.

Material e Métodos

Os testes de biocompatibilidade foram realizados pelo método indireto. Os substitutos ósseos ficaram em contato com o meio suplementado por 24 horas, na proporção de 16 mg material/mL meio. Os osteoblastos-like foram cultivados até o momento do plaqueamento.

Para citotoxicidade foram plaqueadas 8×10^3 células em cada poço na placa de 96 poços; com desenho experimental de n=4, e foram mantidas durante 24 horas em estufa a 37°C com 5% CO₂. Após este período as culturas celulares foram expostas ao meio condicionado (200 μ L por poço) e mantidas em estufa por mais 24 horas. A viabilidade celular foi determinada pelo ensaio colorimétrico de MTT, e a leitura foi mensurada em espectrofotômetro a 570nm. A citotoxicidade foi expressa como porcentagem em relação ao grupo controle (=100%).

No teste de genotoxicidade, 3×10^5 células foram cultivadas em lâminas de vidro (n=4) em 4 mL de meio por 24h. Posteriormente as células foram expostas ao meio condicionado e ao EMS 5mM (controle positivo) durante 24 horas. As placas foram lavadas, e as células foram fixadas e coradas para montagem das lâminas e

análise microscópica para contagem de micronúcleos em células mononucleadas. Foram avaliadas 1.000 células/placa, em dois experimentos independentes.

Resultados

A análise dos resultados foi dada pelo teste estatístico ANOVA, em função do tempo. E de teste de Tukey. Ambos com nível de significância de 5%.

Tabela 1. Dados estatísticos do teste MTT. Comparação dos substitutos ósseos com o grupo controle (100%). P < 0, 05

Citotoxicidade	β -TCP	β - TCP EXP
Média	130,6	86,4
Mediana	131,5	84,8
Desvio Padrão	2,8	3,9
Valor mínimo	126,0	83,1
Valor máximo	133,9	94,8
P-valor	<0,001*	<0,001 *

Tabela 2. Dados obtidos na análise de micronúcleos. Comparação dos substitutos ósseos com o controle negativo. Teste ANOVA (p < 0, 05)

Nº micronúcleos	Controle Negativo	β -TCP EXP	EMS	β -TCP
Média	13,0	14,3	65,5	14,3
Mediana	13,0	14,0	65,5	14,5
Desvio Padrão	1,8	2,2	4,9	1,7
Valor Mínimo	11,0	12,0	62,0	12,0
Valor Máximo	15,0	17,0	69,0	16,0
P-valor	-	0,944	<0,001	0,944

Conclusões

Os substitutos ósseos β -TCP (Bionnovation) e β -TCP experimental foram biocompatíveis e induziram a osteogênese in vitro. Além de não apresentarem formação de micronúcleos; o β -TCP (Bionnovation) induziu maior proliferação celular e osteogênese, comparado ao β -TCP experimental.

Agradecimentos e Referencias

Processo FAPESP: 2012/00574-4

- Aarvold A, Smith JO, Tayton ER, Lanham SA, Chaudhuri JB, Turner IG, Oreffo ROC. 2013. The effect of porosity of a biphasic ceramic scaffold on human skeletal stem cell growth and differentiation in vivo. J Biomed Mater Res Part A. 2013; 00A:000-00