

Síntese e caracterização de scaffolds de nanofibras associados a uma fase mineral e seus efeitos biotativos sobre células pulpares

Filipe Koon Wu Mon, Carlos Alberto de Souza Costa, Maria Luísa de Alencar e Silva Leite, Diana Gabriela Soares, Josimeri Hebling – Campus de Araraquara – Faculdade de Odontologia – Odontologia; filipekoon@gmail.com. Bolsista FAPESP.

Palavras Chave: Nanofibras, Dentina, Engenharia tecidual.

Introdução

A formulação de scaffolds biocompatíveis e bioativos, capazes de induzir a quimiotaxia de células mesenquimais indiferenciadas residentes no tecido pulpar para o sítio de reparo, seguido de diferenciação odontoblástica e deposição de matriz dentinária, é de grande interesse em casos de exposição pulpar visando a formação de uma barreira mineralizada¹.

Objetivo

O objetivo desse estudo foi sintetizar scaffolds de nanofibras associados ou não a uma fase mineral contendo cálcio e avaliar seus efeitos bioativos sobre células da polpa dental humana (HDPCs).

Material e Métodos

Soluções de poli-caprolactona (PCL) a 10% associadas ou não à adição de uma fase mineral (M) à base de cálcio foram submetidas à técnica de electrospinning para obtenção dos scaffolds de nanofibras, estabelecendo-se os seguintes grupos: PCL e PCL+M. A caracterização dos biomateriais formulados foi realizada por meio de MEV/EDS. A seguir, as HDPCs (5×10^4) foram cultivadas sobre os scaffolds para avaliação dos seguintes parâmetros de bioatividade: viabilidade e proliferação (Alamar-Blue; Live/Dead; 1, 7 e 14 dias), adesão e espalhamento (F-actina; 1 e 3 dias), atividade de fosfatase alcalina (Timolftaleína; 14 dias) e deposição de nódulos de mineralização (Alizarin Red; 21 dias). Os dados foram submetidos aos testes de ANOVA/Tukey ($p < 0,05$).

Resultados e Discussão

As imagens de MEV/EDS (Figura 1) mostram que houve incorporação da fase mineral contendo cálcio no scaffold PCL+M e que esta associação resultou em menor diâmetro médio das nanofibras e aumento dos espaços interfibrilares comparado ao scaffold PCL. As células cultivadas sobre ambos os scaffolds foram capazes de proliferar-se ao longo dos períodos de análise (Figura 2A e 3A). Porém, o grupo PCL+M apresentou os melhores resultados de viabilidade (Figura 2A e 3A), adesão e espalhamento celular (Figura 2B), bem como maiores valores de atividade de fosfatase alcalina e deposição de nódulos de mineralização ($p < 0,05$; Figura 3B e 3C). Diversos pesquisadores têm demonstrado que a adição de fases minerais à base de cálcio, induz a expressão do fenótipo osteoblástico/odontoblástico devido a semelhança química e estrutural com os tecidos mineralizados, ocorrendo dessa forma, o aumento na deposição de matriz mineralizada in vitro e in vivo²⁻⁵. Ainda, a incorporação da fase mineral nos scaffolds de

nanofibras à base de PCL resultou em menor diâmetro das nanofibras e em maiores espaços interfibrilares. Sabe-se que o design do scaffold tem papel fundamental no sucesso das terapias de engenharia tecidual, visto que este serve como meio para adesão, proliferação e diferenciação celular, culminando com sua substituição por um novo tecido⁶.

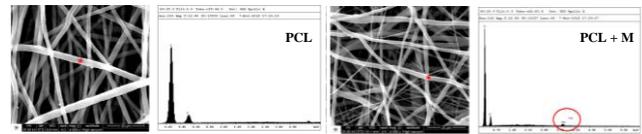


Figura 1 – Imagens de MEV/EDS dos grupos PCL e PCL+M.

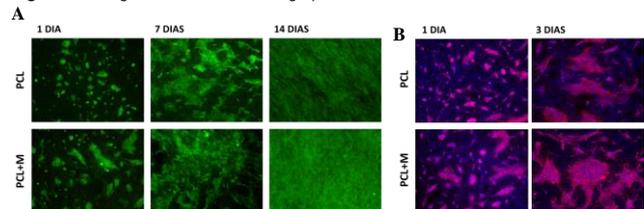


Figura 2 – Imagens da análise de Live/Dead (A) e F-actina (B).

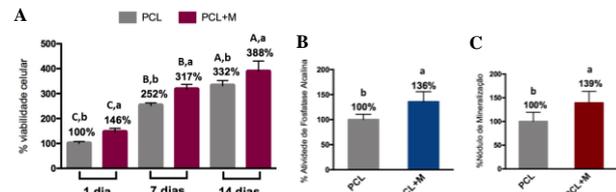


Figura 3 - Média e desvio padrão dos valores de viabilidade celular (A), atividade de fosfatase alcalina (B) e deposição de nódulos de mineralização (C) (ANOVA/Tukey; $p < 0,05$; $n = 6$). Diferentes letras minúsculas indicam diferença estatística entre os grupos em cada período de análise. Diferentes letras maiúsculas indicam diferença estatística para cada grupo entre os períodos de análise.

Conclusões

Concluiu-se que a incorporação de uma fase mineral contendo cálcio em scaffolds de nanofibras à base de PCL favoreceu a adesão e proliferação de células pulpares humanas, bem como aumentou a expressão do fenótipo odontoblástico.

Agradecimentos

CNPq: 408721/2018-9 (EU) e 303599/2014-6 (PQ-1A).
FAPESP: 2017/10658-4 (IC); 2017/22739-9 (AR)

¹ Galler, K. M.; Eid, A.; Schmalz, G. *J Endod.* **2014**; 40; S41.

² Yang, X.; Yang, F.; Walboomers, X. F.; Bian, Z.; Fan, M.; Jansen, J. A. *J Biomed Mater Res A.* **2010**; 93; 247.

³ Soares, D. G.; Rosseto, H. L.; Scheffel, D. S.; Basso, F. G.; Huck, C.; Hebling, J.; de Souza Costa, C. A. *Clin Oral Investig.* **2017**; 21; 2827.

⁴ Wang, P.; Zhao, L.; Chen, W.; Liu, X.; Weir, M. D.; Xu, H. H. *J Dent Res.* **2014**; 93; 618.

⁵ Mohamadyar-Toupkanlou, F.; Vasheghani-Farahani, E.; Bakhshandeh, B.; Soleimani, M.; Ardeshirylajimi, A. *Cell Mol Biol.* **2015**; 61; 1.

⁶ Gupte, M. J.; Ma, P. X. *J Dent Res.* **2012**; 91; 227.