

Efeito de ondas mecânicas alternadas sob o crescimento celular

Larissa Sabino dos Santos e Ademar B. Lugão
Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN/CNEN

INTRODUÇÃO

O estudo de biomateriais é uma área em crescimento intenso e constante ao longo do seu meio século de existência. Embora os biomateriais sejam utilizados principalmente para aplicações médicas, também podem ser usados para cultivar células em cultura e para aplicações biotecnológicas. O fio comum é a interação entre sistemas biológicos e o material. [2]

Atualmente, melhorar e acelerar a cicatrização de feridas é de maior interesse para a ciência médica. A utilização de curativos inteligentes varia desde materiais liberadores de fármacos que são inibidores inflamatórios, até o crescimento celular induzido pela liberação de fatores de crescimento devido à força de tração nas células, feito através de técnicas de estimulação celular elétrica ou mecânica, utilizando, por exemplo, ondas sonoras. Para interpretar e compreender os efeitos das forças mecânicas *in vivo*, pode-se comparar com estudos de tensão de cisalhamento *in vitro*. [1]

OBJETIVO

O presente estudo visa observar o efeito de ondas mecânicas em células da linhagem NIH-3T3 em cultivo e analisar se há influência na viabilidade e crescimento celular.

METODOLOGIA

Foram utilizadas células de linhagem NIH-3T3 cultivadas em meio de cultura DEMEM enriquecido com soro fetal bovino e penicilina para realizar o teste *in vitro*. Foram plaqueadas duas placas de 96 poços com 5×10^4 células por poço em 100 μ l de meio de cultura, sendo uma placa para o controle negativo e a outra para o teste. Após o plaqueamento as células foram

incubadas por 24 h a 37 °C e CO₂ a 5-6,5%. Passado esse tempo as placas foram lavadas com uma solução salina tamponada com fosfato (PBS) e foi trocado o meio de cultura. Ao fim, foi introduzido um dispositivo na placa teste, emitindo ondas quadradas com frequência de 5 Hz com tempos de duração de fase de 0,1 s e, a partir desse momento, foram realizados ensaios de MTT para 24, 48 e 72h, os ensaios foram feitos na placa teste e controle simultaneamente. As placas foram planejadas para que todos os pontos retirados tivessem efeitos igualmente representativos, ou seja, para que todos os pontos estejam recebendo estímulos do centro à periferia (Fig 1). Para o controle positivo (CP), no lugar do meio de cultura foi adicionado dimetilsulfóxido (DMSO). Os valores de viabilidade celular foram comparados por meio do teste t com nível de confiança de 95%, buscando evidenciar diferenças significativas entre o tratamento com estímulos mecânicos e o crescimento normal.

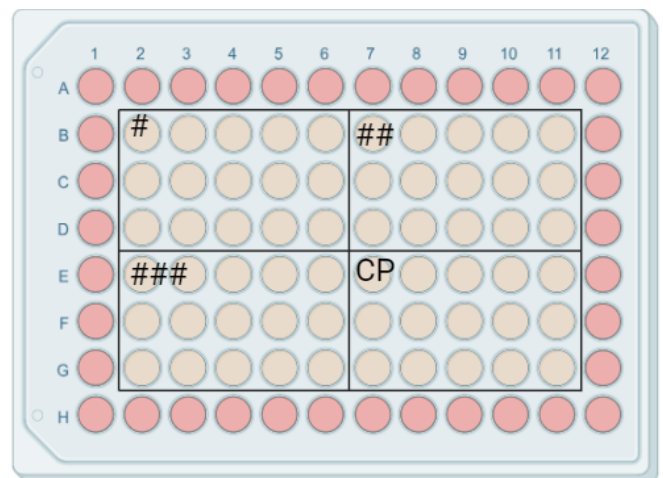


Figura 1. Modelo base utilizado na placa teste e controle, onde # = 24 h, ## = 48 h, ### = 72 h e CP = controle positivo.

Após realizar o último ensaio de MTT (após 72 h) as placas foram analisadas por espectroscopia UV/visível à 670 nm.

RESULTADOS

Em relação à média dos controles negativos, os pontos de 24 h, 48 h e 72 h — do controle negativo — tiveram uma viabilidade celular de 86,73, 103,71 e 109,56 %, respectivamente. Em comparação, ainda com a média do controle negativo, os pontos da placa teste em 24, 48 e 72 h apresentaram uma viabilidade celular de 105,75, 110,85 e 110,00 %, nessa ordem (Figura 1A).

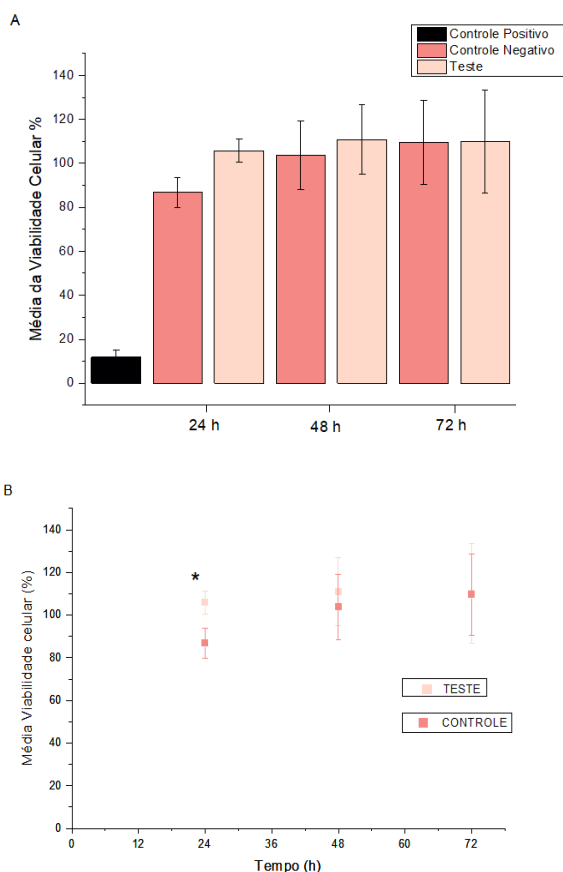


Figura 2. Representação gráfica da média da viabilidade celular para 24 h, 48 h e 72 h.

A) Representação feita com comparação entre teste e controles positivo e negativo.

B) Representação com comparação entre

controle negativo e teste ao longo do tempo do experimento, onde * demonstra $p \leq 0,05$.

Enquanto isso, a média da viabilidade celular para o CP foi de 11,98 %. Apenas o ponto de 24 h apresentou diferença significativa ($p \leq 0,05$) em relação ao controle negativo, embora em todos os tempos analisados o valor médio de viabilidade celular foi superior na placa estimulada mecanicamente. Para os outros pontos (48 h e 72 h) não foi observada diferença significativa.

CONCLUSÃO

No presente estudo foi observado que, a diferença significativa observada entre os valores de viabilidade celular média para o controle negativo e teste após as 24h confirma que o dispositivo pôde estimular o crescimento celular, influenciando, portanto, a taxa de crescimento celular. Entretanto, não foi possível observar essa diferença nos pontos de 48 e 72 h, o que pode ser explicado pela concentração inicial de células plaqueadas, de forma que, com o passar do tempo, as células podem ter atingido a confluência, não havendo mais espaço para crescimento. Sendo assim, novos experimentos precisam ser realizados para padronizar o procedimento e obter resultados mais significativos e concretos.

REFERÊNCIAS

- [1] Brugger, S. M. et al., Vibration enhanced cell growth induced by surface acoustic waves as in vitro wound-healing model, PNAS, 117 (50) 31603-31613, 2020
- [2] Pires, A. L. R. et al., Biomateriais: Tipos, aplicações e mercado. Química Nova, v. 38 (7), p. 957-971, 2015.
- [3] Ratner, B. D. et al., Biomaterials Science – An Introduction to Materials in Medicine. Elsevier: Oxford, 2013.
- [4] Hao, H. C. et al., A sensitive, rapid and specific technique for the detection of antigen-specific cells on shear horizontal surface acoustic wave (SH-SAW) sensors. SENSORS, IEEE pp. 2117-2121, 2010.

APOIO FINANCEIRO AO PROJETO
CNPq e IPEN