

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA E CIÊNCIAS DA SAÚDE
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM CLÍNICA CIRÚRGICA
FACULDADE DE MEDICINA

**AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE *IN VITRO* E DA
BIOCOMPATIBILIDADE *IN VIVO* DE BIOMATERIAIS
POLIMÉRICOS**

VANUSCA DALOSTO JAHNO

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Pontifícia
Universidade Católica do Rio Grande do Sul, para obtenção
do título de Doutora em Medicina e Ciências da Saúde

Orientador: Prof. Dr Jefferson Luis Braga da Silva
Co-orientadoras: Profa. Dra. Rosane Angélica Ligabue
Profa. Dra. Sandra Mara Oliveira Einloft

Porto Alegre
2009

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu marido **Gilmar**, por sua compreensão, companheirismo, amor, que me apóia, ao nosso picorrucho **Nicolas** que me motiva com seu lindo sorriso e aos meus pais, **Jane e Pedro, minha vó Maria** (*IN MEMORIAM*), indispensáveis na minha formação pessoal e profissional, que fizeram de mim o que sou hoje. A minha família e amigos que sempre me apoiaram no meu desejo de ser uma cientista-pesquisadora.

A todos mencionados, minha gratidão.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Dr. **Jefferson Braga da Silva**, por ter “aberto as portas” e acreditado em mim.

Às minhas co-orientadoras e coordenadoras de projeto Dra. **Sandra Einloft** e Dra. **Rosane Ligabue**, pelo exemplo de profissionalismo, pelo estímulo, pela confiança, respeito, carinho e apoio.

À Prof^a Dr^a **Karina Bombonato-Prado** por todo carinho e suporte para a realização dos testes in vitro.

À Prof^a **Jeane Dullius** por todo apoio, carinho e alegria tão particulares a sua pessoa.

Ao amigos do **LOR** (FAQUI-PUCRS) por fazerem do laboratório uma “casa”, dentre eles **Renata, Emanuelli, Fernanda Siqueira, Rafael, Manoela, Camila, Tassiani, Natália, Aline, Deise, Paula e Vitória**. Também pela agradável convivência e ajuda em “todas as horas”, verdadeiros amigos. E a todos que sempre estiveram próximos e compartilharam os bons momentos nesses últimos anos.

A **Tatiana, Natacha, Fernanda Melo e a Viviane** pela amizade, atenção e preocupação comigo nos momentos difíceis. Pela dedicação e ajuda sempre de maneira desprendida.

À **Alessandra, Lucas Mano, Caroline, Franciele e ao funcionário Gilmar do Laboratório de Habilidades Médicas** pela amizade e por toda a estrutura para que esse trabalho se realizasse, minha terceira casa. Ao **Javier, Camilla Assad e Thiago Alexi** por serem “minhas mãos na microcirurgia”, sem vocês parte deste trabalho não sairia do papel.

À Prof^a.Dr^a **Denise Cantarelli Machado**, sempre prestativa e esclarecedora, ao amigo de trabalho, **Christian**, sempre pronto para ajudar no que fosse preciso e a todos do Laboratório de Pneumologia do IPB/HSL da PUCRS pela amizade e pela força sempre presentes. Também no IPB, no Laboratório de Gerontologia, a funcionária **Priscila** pela imensa ajuda no trabalho de histologia.

Ao Prof. Dr^o **Vinícius Durval** e ao funcionário **Tiago Giuliani Lopes** do Laboratório de Patologia do HSL pela disponibilidade e atenção em responder às minhas dúvidas.

À Patologista Bucal e dentista **Juliana Romanini** pela inestimável ajuda na análise histológica do material e pela amizade.

À **Raquel da Histologia (FABIO-PUCRS)** pela ajuda na microscopia óptica.

Ao Profº **Drº Carlos Bergmann**, que abriu seu laboratório para a fabricação das nanofibras (LACER/UFRGS) e a Drª **Annelise** pela paciência e disposição de sanar minhas dúvidas na área.

Ao pessoal do Laboratório de Cultura de Células da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, coordenado pela profª **Karina**, em especial, a **Luciana e a Maily** por toda ajuda prestadas.

Ao pessoal do **Laboratório de Biofísica** da Faculdade de Biociências da PUCRS pela força e amizade.

A secretária **Sandra** do consultório do Dr Jefferson, pelo apoio e amizade.

Ao CEMM pela disponibilização do laboratório, possibilitando a realização dos ensaios de microscopia eletrônica de varredura.

Aos **Professores e aos Funcionários da Faculdade de Química da PUCRS** pelo suporte técnico, intelectual e pela disponibilidade para realização deste trabalho. As meninas da secretaria da Química, **Nilza, Neiva e Luciana**, sempre dispostas a ajudar e pela amizade criada ao longo desses anos. Ao vidreiro Nelson, sempre pronto a ajudar. E o pessoal do Almoxarifado da Química, **Roberto, Marcus, Luciane e Paulo** pela ajuda constante. A todos os amigos da **FAQUI** pelos bons momentos.

Aos **Professores da Pós-Graduação da Medicina e Ciências da Saúde da PUCRS** e aos **funcionários da Pós-Graduação da Medicina e Ciências da Saúde da PUCRS, Sônia, Ernesto e Vanessa** pela constante ajuda prestada.

À **ASTechnology, ao Sidival Dias e ao Sidival Júnior** pelo apoio não só financeiro, mas pelo incentivo a pesquisa e por depositar em mim sua confiança. À **Nilene** pela ajuda e amizade.

A UFRGS, CNPq, USP, FAPESP pelo apoio financeiro.

A **Pontificia Universidade Católica do RS, PUCRS**, além da minha bolsa de doutorado pelo ProBolsas, por oportunizar meu crescimento profissional desde minha graduação.

Aos professores, **Dr Jaderson Costa, Dr Jarbas Oliveira, Dr Carlos Bergmann e Dra Jeane Dullius**, por aceitarem fazer parte na banca da defesa.

E a todos, que de alguma forma contribuíram para que este trabalho fosse realizado.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	10
LISTA DE TABELAS	14
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	15
RESUMO	17
ABSTRACT	18
EPÍGRAFE	19
1 INTRODUÇÃO	20
2 OBJETIVOS	22
3 REVISÃO DE LITERATURA	23
3.1 Biomateriais	23
3.2 Polímeros Bioabsorvíveis	26
3.3 Electrospinning	30
3.4 Regeneração óssea	33
3.4.1 Osso Alveolar	36
3.5 Regeneração nervosa periférica	39
3.6 Testes de citotoxicidade e biocompatibilidade	42
4. MATERIAIS E MÉTODOS	45
4.1 Biomateriais	45
4.2 Teste de citotoxicidade	45
4.2.1 Cultura de células osteoblásticas de fragmentos de osso alveolar humano	46
4.2.2 Cultura com Células-tronco de linhagem odontoblástica de camundongos (MDPC-23)	47
4.2.3 Proliferação celular	48
4.2.4 Viabilidade celular	48

4.2.5 Medida de proteína total	48
4.2.6 Medida da atividade de fosfatase alcalina (ALP)	49
4.2.7 Formação de matriz mineralizada	49
4.2.8 Análise estatística	50
4.3 Fabricação dos scaffolds de nanofibras de Poli(L- lactide) (PLLA)	50
4.3.1 Teste de Citotoxicidade das nanofibras de poli (L-lactide) em cultura de células de fibroblastos de camundongos, NIH-3T3	52
4.4 Teste de biocompatibilidade <i>in vivo</i>	53
4.4.1 Descrição do material	53
4.4.2 Procedimentos cirúrgicos	54
4.4.3 Método histológico	58
4.4.4 Avaliação microscópica da superfície dos filmes de PU-PCL	59
4.4.5 Espectroscopia Dispersiva (EDS)	49
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	60
5.1. Teste de citotoxicidade <i>in vitro</i>	60
5.1.1. Citotoxicidade do Poli(L-ácido láctico) com osteoblastos	60
5.1.2 Adesão Celular com células osteoblásticas	62
5.1.3 Conteúdo de Proteína Total com células osteoblásticas	63
5.1.4 Atividade de Fosfatase Alcalina com células osteoblásticas	64
5.1.5 Mineralização com células osteoblásticas	65
5.2 Citotoxicidade do Poli(L-ácido láctico-co-glicólico) e do Poli(ácido glicólico) com odontoblastos	66
5.2.1 Conteúdo de Proteína total com células odontoblásticas	68
5.2.2 Atividade de Fosfatase Alcalina com células odontoblásticas	69
5.3 Citotoxicidade do Poliuretano-caprolactona com osteoblastos	70

5.3.1. Conteúdo de Proteína Total com células osteoblásticas	71
5.3.2 Atividade de Fosfatase Alcalina com células osteoblásticas	71
5.4 Teste de Citotoxicidade das nanofibras de poli (L-lactide) em cultura de células de fibroblastos de camundongos, NIH-3T3	72
5.5. Teste de biocompatibilidade <i>in vivo</i> do filme de PU-PCL	74
5.5.1 Método histológico	76
5.5.1.1 <i>Tecido ósseo</i>	76
5.5.1.2 <i>Tecido nervoso</i>	80
5.5.1.2 Tecido subcutâneo	85
5.6 Avaliação microscópica através de Microscopia Eletrônica de Varredura e de Espectroscopia dispersiva da superfície dos filmes implantados após 60 dias.	89
6. CONCLUSÕES	93
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	94
8. ANEXOS	109
ANEXO A	109
ANEXO B	110
ANEXO C	111
ANEXO D- ARTIGO CIENTÍFICO publicado no Journal of biomaterials Science 2009 (20): 167-179.	113
ANEXO E- ARTIGO CIENTÍFICO submetido ao periódico European Polymer Journal 2009	127

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Classificação dos materiais de acordo com sua origem.	23
Figura 2: Degradação dos poli(α -hidróxi ácidos) pelo processo de hidrólise.	26
Figura 3: Rota metabólica da degradação e excreção de alguns poliésteres.	27
Figura 4: Estrutura da cadeia poliuretânica.	28
Figura 5: Síntese de poliuretano biodegradável.	29
Figura 6: Diagrama esquemático do processo de electrospinning	32
Figura 7: Formação óssea intramembranosa	35
Figura 8: Células-tronco isoladas do tecido pulpar de dentes decíduos têm alta capacidade proliferativa e são capazes de se diferenciarem em odontoblastos maduros, adipócitos ou células neurais.	39
Figura 9: O compartimento endoneural (EN) contém fibras nervosas mielinizadas e não mielinizadas e células de Schwann que é cercada pelo perineuro (PN).	40
Figura 10: Aparelho utilizado para a técnica de electrospinning	51
Figura 11: Filme de PU-PCL para implantação experimental	53
Figura 12: a)Nervo periférico dissecado e b)Nervo periférico entrelaçado com o filme de PU-PCL.	55
Figura 13: a)Nervo periférico dissecado com o filme de PU-PCL ambientado no meio e b)Nervo periférico sendo envelopado com o filme de PU-PCL	55
Figura 14: Acesso ao fêmur após debridamento muscular e descolamento periostal.	56
Figura 15: Ostectomia realizada com broca carbide.	56
Figura 16: Campo operatório do dorso do rato.	57
Figura 17: Processador de tecidos	58

Figura 18: Micrótomo	60
Figura 19: Proliferação celular após 24 horas, 4 , 7 e 11 dias de cultura em contato com 0, 10, 20 e 30% de meio condicionado com o PLA.	60
Figura 20: Viabilidade celular após 24 horas, 4, 7 e 11 dias de cultura em contato com 0, 10, 20 e 30% de meio condicionado com o PLA.	61
Figura 21: Imunomarcações de células osteoblásticas do osso alveolar humano controles	62
Figura 22: Imunomarcações de células osteoblásticas do osso alveolar humano controles	63
Figura 23: Quantidade de proteína total após 7, 14 e 21 dias de osteoblastos humanos derivados do osso alveolar com e sem a adição de meio condicionado com PLA	64
Figura 24: Atividade de fosfatase alcalina após 7, 14 e 21 dias de osteoblastos humanos derivados do osso alveolar com e sem a adição de meio condicionado com PLA	64
Figura 25: Formação de nódulos após 21 dias de cultura de osteoblastos humanos derivados do osso alveolar com e sem a adição de meio condicionado com PLA.	65
Figura 26: Proliferação de células odontoblásticas expresso como número de células $\times 10^4$ / poço em 3, 7, 10 e 14 dias de cultura em contato com poliestireno (grupo controle), polímeros PGA e PLGA.	66
Figura 27: Porcentagem de Viabilidade celular de células odontoblásticas em 3, 7, 10 e 14 dias de cultura em contato com poliestireno (grupo controle), PGA e PLGA.	67
Figura 28: Conteúdo Total protéico de células odontoblásticas a 3, 7, 10 e 14 dias de cultura em contato com poliestireno (grupo controle), PGA e PLGA	68
Figura 29: Atividade da fosfatase alcalina em células odontoblásticas em 3, 7, 10 e 14 dias de cultura em contato com poliestireno (grupo controle) e os polímeros PGA e PLGA	69
Figura 30: Proliferação de células osteoblásticas expresso como número de células $\times 10^4$ / poço em 3, 7, 10 e 14 dias de cultura em contato com poliestireno	70

(grupo controle) e do polímero PU-PCL.

Figura 31: Porcentagem de Viabilidade celular de células osteoblásticas em 3, 7, 10 e 14 dias de cultura em contato com poliestireno (grupo controle) e do PU-PCL	70
Figura 32: Conteúdo Total protéico de células osteoblásticas em 7 e 14 dias de cultura em contato com poliestireno (grupo controle) e PU-PCL.	71
Figura 33: Atividade da fosfatase alcalina em células osteoblásticas em 7 e 10 dias de cultura em contato com poliestireno (grupo controle) e PU-PCL	71
Figura 34: Gráfico de viabilidade celular nos períodos de 24,48 e 72h em cultura de fibroblastos	73
Figura 35: Micrografia óptica: a) Controle negativo placa estireno 200x; b) Controle positivo cobre 200x; c) PLLA fibers em 72h no meio.	73
Figura 36: Nervo periférico com 7 dias com o PU-PCL.	75
Figura 37: Microscopia ótica de corte histológico de tecido ósseo após 7 dias após a cirurgia:	77
Figura 38: Microscopia ótica de corte histológico de tecido ósseo com 14 dias.	78
Figura 39: Microscopia ótica de corte histológico de tecido ósseo após 30 dias	79
Figura 40: Microscopia ótica de corte histológico de tecido nervoso periférico	81
Figura 41: Microscopia ótica de corte histológico de tecido nervoso periférico após 14 dias	81
Figura 42: Microscopia ótica de corte histológico de tecido nervoso após 30 dias de implantação	82
Figura 43: Microscopia ótica de corte histológico de tecido nervoso após 60 dias de implantação	83
Figura 44: Microscopia ótica de corte histológico de tecido nervoso periférico após 120 dias de implantação	84
Figura 45: Microscopia ótica de corte histológico de tecido subcutâneo após 7 dias de implantação:	85
Figura 46: Microscopia ótica de corte histológico de tecido subcutâneo após 14 dias de implantação	86

Figura 47: Microscopia ótica de corte histológico de tecido subcutâneo após 30 dias de implantação	87
Figura 48: Microscopia ótica de corte histológico de tecido subcutâneo após 60 dias de implantação	88
Figura 49: Micrografia do filme de PU-PCL não implantado (1000X e 4000X).	89
Figura 50: Micrografias do filme de PU-PCL após 60 dias de implante no dorso do rato (2000X e 4000X).	90
Figura 51: Micrografias e espectro da superfície do filme de PU-PCL após 60 dias implantado no fêmur do rato	91

LISTA DE QUADROS E TABELAS

QUADRO 1: Aplicações clínicas dos biomateriais.	25
QUADRO 2: Parâmetros estruturais de scaffold para aplicação na engenharia tecidual	31
QUADRO 3: Alguns dos marcadores bioquímicos da formação óssea	37
TABELA 1: Parâmetros utilizados para fabricação de nanofibras de PLLA por electrospinning a temperatura e pressão ambiente.	52
TABELA 2: Teste estatístico (Kruskal Wallis) da proliferação de células odontoblasticas	67
TABELA 3: Teste estatístico(Kruskal Wallis) do conteúdo total protéico de células odontoblasticas.	68
TABELA 4: Teste estatístico(Kruskal Wallis) da Atividade da fosfatase alcalina em células odontoblásticas	69
TABELA 5: Valores da média e desvio padrão de absorbância nos períodos de 24,48 e 72h.	72

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ALP	Fosfatase alcalina
ASTM	<i>American Society for Testing and Materials</i>
Ca ²⁺	Íons Cálcio
CO ₂	Dióxido de carbono
EDS	Espectroscopia Dispersiva
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
N ₂	Gás nitrogênio
OH	Hidroxila
PBS	Tampão fosfato salino
PCL	Poli (caprolactona)
PDLLA	Poli (DL-ácido láctico) ou poli (DL-lactide)
PDS	Poli(p-dioxanona)
PET	Poli etileno tereftalato
PGA	Poli (ácido glicólico)
PLA	Poli (ácido láctico) ou poli (lactide)
PLLA	Poli (L-ácido láctico) ou poli (L-lactide)
PMMA	Polimetilmetacrilato
PTFE	Poli(tetraflúoretileno)
PU-PCL	Poli(uretano-caprolactona)

SHED	<i>Stem cells from human exfoliated deciduous teeth</i>
SNC	Sistema nervoso central
SNP	Sistema nervoso periférico
TCA	<i>Tricarboxylic acid cycle</i>

RESUMO

OBJETIVO: Avaliar a citotoxicidade *in vitro* do poli(ácido L-láctico), poli(uretano-caprolactona), poli(ácido glicólico), poli(L-ácido láctico-co-glicólico), nanofibras de poli(lactide) e a biocompatibilidade *in vivo* do poli(uretano-caprolactona), como possível biomaterial para regeneração óssea e nervosa.

MÉTODOS: No presente trabalho, foi testado *in vitro* em cultura de células osteoblásticas de osso alveolar humano o poli(ácido L-láctico) e poli(uretano-caprolactona). O poli(ácido glicólico) e o poli(L-ácido láctico – co-glicólico) foram testados em cultura de células-tronco de linhagem odontoblástica de camundongos (MDPC-23). As nanofibras de poli(lactide) foram testadas em cultura de células de fibroblastos de camundongos, NIH-3T3. Os testes *in vivo* do poli(uretano-caprolactona) foram em ratos Wistar, separados em 5 grupos, referentes aos tempos de observação de 7, 14, 30, 60 e 120 dias pós-operatórias, a fim de se observar as reações entre este biomaterial e o tecido ósseo, nervoso e dorsal do animal. Foram feitas análises de microscopia óptica e eletrônica de varredura.

RESULTADOS: Os polímeros PLLA, PGA, PLGA, PU-PCL e as nanofibras de poli(lactide) mostraram viabilidade celular superior a 85% nos testes *in vitro*. Nos testes *in vivo*, o PU-PCL foi biocompatível, parcialmente absorvido em 60 dias e com ausência de reações indesejáveis que pudessem ser atribuídas ao implante.

CONCLUSÕES: Os polímeros poli(ácido L-láctico), poli(ácido glicólico), poli(ácido L-láctico-co-glicólico), nanofibras de poli(lactide) e o poli(uretano-caprolactona) avaliados neste estudo, apresentaram resultados bastante favoráveis para seu uso como biomaterial nas aplicações de substituição tecidual.

Palavras-chave: Biomateriais. Polímeros bioabsorvíveis. Biocompatibilidade.

ABSTRACT

OBJECTIVE: To evaluate the *in vitro* cytotoxicity of poly (L-lactic acid), poly(urethane-caprolactone), poly (glycolic acid), poly (L-lactic acid-co-glycolic), nanofibers of poly (lactide) and *in vivo* biocompatibility of poly(urethane-caprolactone), as a possible biomaterial for bone and nervous regeneration.

METHODS: In this study, was tested *in vitro* in cell culture of osteoblastic human alveolar bone to poly (L-lactic acid) and poly(urethane-caprolactone). The poly (glycolic acid) and the poly (L-lactic acid - co-glycolic) were tested in cell culture of odontoblastic line of mice (MDPC-23). The poly (lactide) nanofibers were tested in cell culture of fibroblasts of mice, NIH-3T3. The *in vivo* tests of poly(urethane-caprolactone) were performed in rats, which were separated into 5 groups, based in the time of observation, 7, 14, 30, 60 and 120 days of postoperative, in order to observe the reactions between the biomaterial and bone, nerve and dorsal tissues of the animal. Were performed analyses in light microscopy and scanning electron.

RESULTS: The polymer PLLA, PGA, PLGA, and PCL-PU nanofibers of poly (lactide) showed cell viability above 85% in tests *in vitro*. *In vivo* tests showed that the PU-PCL is biocompatible and were partially absorbed in 60 days and with no undesirable reactions that could be attributed to the implant.

CONCLUSIONS: The poly (L-lactic acid), poly (glycolic acid), poly (L-lactic acid-co-glycolic), nanofibers of poly (lactide) and poly(urethane-caprolactone) polymers evaluated in this study showed very favorable results for its use as a biomaterial for applications in tissue replacement.

Keywords: Biomaterials. Bioabsorbable polymers. Biocompatibility.

*“Descobri como é bom chegar quando se
tem paciência, e para se chegar onde quer
que seja, aprendi que não é preciso dominar
a força, mas a razão.*

É preciso, antes de mais nada, querer.

Um dia é preciso parar de sonhar,

Tirar os planos das gavetas e,

De algum modo, partir...”

(Amyr Klink)

1 INTRODUÇÃO

O uso de biomateriais vem crescendo nos últimos anos impulsionado em parte, pela motivação dos pesquisadores, tendo em vista o aumento da expectativa de vida das pessoas. No Brasil, além da necessidade de melhoria da saúde geral dos brasileiros, grande parte dos biomateriais utilizados é importada e acabam por gerar gastos elevados por parte do Sistema Único de Saúde (SUS). Desta forma, observa-se uma enorme necessidade de desenvolvimento científico e tecnológico brasileiro na área de biomateriais, como forma de atender às necessidades do povo brasileiro de melhoria da saúde geral e de redução de custos dos materiais envolvidos (UFMG, 2009).

Um material adequado para uso como biomaterial deve ser biocompatível ao organismo. Entre os materiais utilizados como biomaterial existem os polímeros bioabsorvíveis, como o poli (ácido láctico), poli (ácido glicólico), poli (caprolactona), poli (dioxanona) e copolímero poli (ácido láctico-co-glicólico), que são extensivamente investigados utilizando principalmente células animais (SHIRAHATA, 2002; RIMONDINI, 2005). Os materiais poliméricos têm recebido atenção especial por sua biocompatibilidade, boas propriedades biomecânicas e seu fácil manuseio (GRIFFITH, 2000).

Aliado a estes polímeros bioabsorvíveis, os poliuretanos constituem-se, atualmente, numa das classes de polímeros sintéticos que tanto podem ser flexíveis como podem ser rígidos, devido à possibilidade de modificações estruturais. Os poliuretanos biocompatíveis, biodegradáveis e bioabsorvíveis têm atraído cada vez mais a atenção na área médica, tendo sido aplicados em liberação controlada de fármacos, implantes e suturas (VANCE,2005).

Desde 1960, estudos de toxicidade *in vitro* tem demonstrado que testes com culturas celulares são métodos rápidos, sensíveis, reprodutíveis e de baixo custo quando utilizados para avaliação de biomateriais (WILHELMUS, 2001; SCHMALZ,

1994). Conforme a *International Standard Organization* (ISO 10993-5), o ensaio de citotoxicidade *in vitro* é o primeiro teste para avaliar a biocompatibilidade de qualquer material para uso como biomaterial e, após comprovada sua biocompatibilidade, os experimentos com animais poderão ser realizados. Estes ensaios têm a vantagem de utilizar tanto células humanas como animais, de diferentes tecidos, podendo ter a mesma origem das células ou tecidos atingidos pelos produtos quando testados *in vivo*.

6. CONCLUSÕES

Concluimos neste estudo que os polímeros avaliados não apresentaram citotoxicidade *in vitro*. Os resultados *in vitro* do PLLA modificado em forma de meio condicionado mostraram que ele permite a proliferação, viabilidade celular e síntese de proteína em osteoblastos originários de osso alveolar humano, mas atrasa eventos da osteogênese como a atividade de fosfatase alcalina e formação de nódulos de mineralização.

Nos testes *in vitro* do PU-PCL com células osteoblásticas, houve menor proliferação, viabilidade similar e uma tendência à maior atividade de fosfatase alcalina, o que poderia favorecer a formação de nódulos calcificados.

Os resultados de viabilidade celular do PGA e PLGA em cultura de células-troco de linhagem odontoblásticas, sugerem que os componentes destes materiais não afetam a viabilidade celular.

Os resultados do filme de PU-PCL *in vivo* obtiveram uma resposta inflamatória discreta que foi diminuindo com o tempo experimental, não causando necrose ou reação fibrótica nos tecidos adjacentes à lesão. Os resultados *in vivo* corroboram os *in vitro*.

As nanofibras de PLLA, nas diferentes concentrações, não demonstraram serem citotóxicas *in vitro* em cultura de fibroblastos.

Os polímeros poli(ácido L-láctico), poli(ácido glicólico), poli(ácido L-láctico-co-glicólico), nanofibras de poli(lactide) e o poliuretano-caprolactona avaliados neste estudo, apresentaram resultados bastante favoráveis para seu uso como biomaterial nas aplicações de substituição tecidual.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

J25a Jahno, Vanusca Dalosto
Avaliação da citotoxicidade in vitro e da biocompatibilidade in vivo de biomateriais poliméricos / Vanusca Dalosto Jahno. – Porto Alegre, 2009.
144 f. il.

Tese (Doutorado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Doutorado em Medicina e Ciências da Saúde. Área de Concentração: Clínica Cirúrgica.

Orientador: Prof. Dr. Jefferson Luis Braga da Silva.

1. Biomateriais. 2. Polímeros Bioabsorvíveis. 3. Biocompatibilidade. 4. Regeneração de Tecido Nervoso. 5. Regeneração de Tecido Ósseo. I. Silva, Jefferson Luis Braga da. II. Título.

CDD 617.05

**Ficha Catalográfica elaborada por
Nívea Bezerra Vasconcelos e Silva CRB 10/1255**