

BIOCOMPATIBILIDADE *IN VIVO* DE *SCAFFOLD* DE PLACENTA DE BOVINOS EM CAMUNDONGOS

RAFAEL LUAN PERIN ^{1*}, VITOR EDUARDO MAMGUE², ANA LETÍCIA
RODRIGUES MARQUES³ AMANDA KNORST BELLON⁴, PATRÍCIA
ROMAGNOLLI⁵, GENTIL FERREIRA GONÇALVES⁶

1 INTRODUÇÃO

A Medicina Regenerativa não possui um conceito amplamente aceito, mas geralmente é referida como uma área da ciência da saúde que utiliza células, fatores de crescimento e os produtos da Engenharia de Tecidos, que é uma de suas subáreas, na reparação de estruturas que tenham sido lesadas (KATARI; PELOSO; ORLANDO, 2014). Juntas, preocupam-se com o desenvolvimento de técnicas e materiais biocompatíveis que permitam a regeneração de tecidos ou órgãos que tenham sofrido algum tipo de injúria celular, através de novas abordagens terapêuticas, que incluem a utilização de *scaffolds*, fatores de crescimento e produção de células. O *scaffold* é a estrutura criada para servir como substrato em substituição à matriz extracelular (MEC), sendo capaz de interferir no processo de reparação celular. Os termos Medicina Regenerativa e Engenharia de Tecidos podem ser utilizados como sinônimos em alguns artigos (HOWARD, 2008).

Diversas classes de materiais têm sido pesquisadas e utilizadas no desenvolvimento de novos biomateriais como metais, cerâmicas, polímeros e compósitos. Dentre estes, os polímeros, principalmente os naturais como o colágeno, estão mostrando grandes benefícios. O colágeno é extraído de tecidos animais, ou pode estar na composição da matriz extracelular de tecidos conjuntivos descelularizados como xenoenxertos (FERREIRA, 2017).

A placenta bovina é uma estrutura comumente descartada após o parto e possui diversas características que a caracterizam como um promissor biomaterial, como a presença de fatores angiogênicos, citotróficos, fibras colágenas tipo I, III e IV e diversas outras. Assim, com o presente estudo objetivou-se avaliar os resultados *in vivo* da matriz de cotilédone fetal

1 Discente de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Realeza, contato: rafael.perin@estudante.uffs.edu.br

2 Discente de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Realeza

3 Discente de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Realeza

4 Discente de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Realeza

5 Docente de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Realeza

6 Docente de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Realeza, **Orientador.**

bovino descelularizada aplicada em camundongos (BOOS; STELLJES; KOHTES, 2003; PFARRER, 2006).

2 OBJETIVOS

O objetivo geral do presente trabalho foi verificar a biocompatibilidade *in vivo* de *scaffold* de placenta de bovinos em camundongos.

3 METODOLOGIA

Foram utilizados 30 camundongos fêmea da linhagem *Swiss*, obtidos a partir do Biotério Central da Superintendência Unidade Hospitalar Veterinária Universitária (SUHVU). Os animais foram transferidos a partir do biotério para a sala 404, da SUHVU, em ambiente com temperatura e horas de luz diária controlados. A temperatura variou entre 18° C e 22° C durante todo o período, enquanto o período de luz foi de 12 horas diárias. Após um período de aclimatação de 15 dias, os animais foram submetidos a procedimento de implante do biomaterial (*scaffold* de placenta bovina) produzido em laboratório parceiro e doado para realização da pesquisa.

Em ambiente cirúrgico e sob condições estéreis, estando o camundongo em estado de anestesia, foi realizada incisão da linha média dorsal, sob o segmento torácico, e implantado *scaffold* com 4 mm² na porção subcutânea do antímero direito, enquanto no antímero esquerdo realizou-se apenas a divulsão do subcutâneo com tesoura cirúrgica de ponta romba. O procedimento foi repetido nos 30 camundongos do experimento, que foram separados em cinco grupos com seis camundongos cada, para realização da eutanásia, de cada um dos grupos, nos dias 3, 7, 15, 30 e 60 após o implante.

Nos dias 3 (3D), 7 (7D), 15 (15D) e 30 (30D), os grupos foram submetidos a eutanásia por superdosagem anestésica, e o fragmento de pele com subcutâneo colhido e fixado em solução de formaldeído 4% em tampão fosfato salino. Após o período de fixação, as amostras foram clivadas e processadas em processador histológico. Após o processamento, foram incluídas em parafina III, cortadas em secções de 5 micrômetros e coradas em hematoxilina e eosina.

As lâminas histológicas foram analisadas em microscópio de luz e fotomicrografadas. A avaliação histopatológica para identificação dos componentes celulares do tecido obtido foi realizada com base nos padrões morfológicos descritos por Junqueira e Carneiro (1995). Os

escores histológicos foram determinados com base nos padrões internacionais para avaliação de efeitos locais após implante de biomateriais.

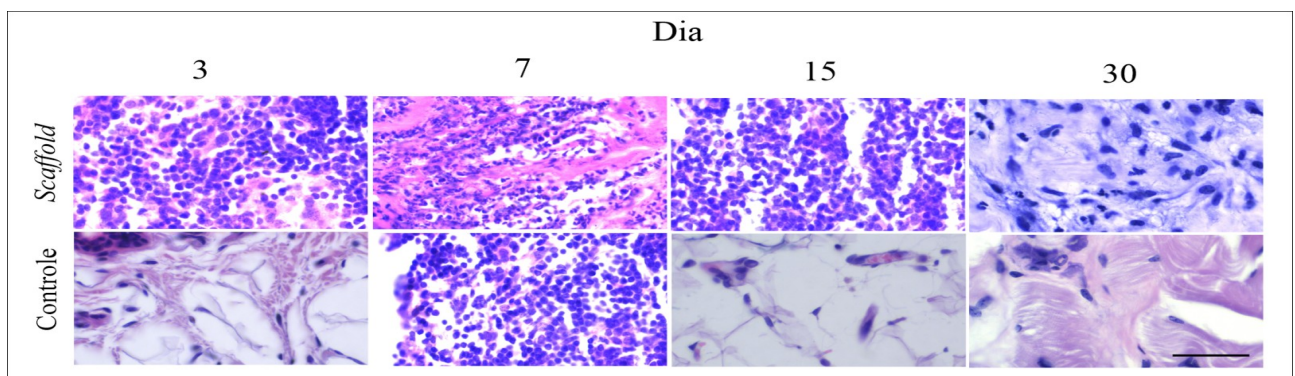
As lâminas foram avaliadas em magnificação de 40X e classificadas entre uma escala que variou 0 e 4. Para 0, nenhuma célula inflamatória por campo de grande aumento (40X), para 1, até 5 células, para 2, entre 5 e 10 células, para 3, infiltrado denso, sem coalescer, enquanto para 4, infiltrado inflamatório coalescente. As classificações respeitam o disposto nos padrões internacionais para avaliação de biocompatibilidade em implantes (ISO, 2007).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises histológicas revelam que não há diferenças consideráveis entre o processo inflamatório observado no grupo teste quando comparado ao grupo controle. A presença do *scaffold* nas amostras analisadas mostrou-se inerte no subcutâneo dos camundongos que participaram do experimento.

Os resultados obtidos por meio da coloração dos tecidos em hematoxilina e eosina revelam a persistência do processo inflamatório, com presença principalmente de infiltrado linfocítico nos períodos de tempo 3D, 7D e 15D. Por sua vez, as amostras referentes ao período 30D revelaram alto nível de infiltração por macrófagos e fibroblastos. A evolução do processo inflamatório e a presença celular nas amostras controle e com implante (Figura 1) demonstram parte dos resultados. A inflamação presente nas amostras coletadas não está associada ao biomaterial implantado, mas sim, à sequência normal do processo inflamatório esperado após incisão e divulsão do subcutâneo dos animais (ANDERSON, 2001).

Figura 1 – Evolução do infiltrado inflamatório ao longo dos períodos de estudo. Seções coradas em Hematoxilina e Eosina. Evolução do infiltrado inflamatório ao longo dos períodos de tempo do estudo. Barra de escala de 100 µm.



Fonte: elaborada pelo autor (2021).

Outros estudos avaliando a biocompatibilidade de materiais apresentam resultados similares. Jung *et al.* (2020) estudaram a biocompatibilidade de membranas produzidas a partir de colágeno de pericárdio bovino e implantados em camundongos. Difere no que diz respeito a transição entre resposta inflamatória aguda e crônica, mais lenta que na presente pesquisa, e traz por consequência uma possível extensão do processo de cicatrização.

5 CONCLUSÃO

São necessários mais estudos, e continuar as colorações em andamento, bem como a avaliação do último grupo experimental, mas os achados até o momento apresentam sinais de biocompatibilidade do material investigado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, J. M. Biological responses to material. **Annu. Rev. Mater. Res.**, v. 31, p. 81-110, 2001. Disponível em: https://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev.matsci.31.1.81?casa_token=YCwi7eCMd_UAAAAA:dHTkT0m9aFXZJma0EBGTYxdFAn9zEmS58i-JxJNygLs8XfJc11_R12psNKnqdIerMr1TAP_O7ui5P3CeH. Acesso em: 28 set. 2021.

BOOS, A.; STELLJES, A.; KOHTES, J. Collagen types I, III and IV in the placentome and interplacentomal maternal and fetal tissues in normal cows and in cattle with retention of fetal membranes. **Cells Tissues Organs**, v. 174, n. 4, p. 170-183, 2003.

FERREIRA, K. D. Cartilagem auricular de bovinos tratada com solução alcalina: avaliação histológica pré-implantação e termográfica pós-implantação na parede abdominal de coelhos (*Oryctolagus cuniculus*). 2017. 68f. Trabalho de conclusão de curso (Dissertação de Mestrado), UFG – Regional Goiânia, 2017.

HOWARD, D. **Tissue engineering: strategies, stem cells and scaffolds**. *Journal of Anatomy, Hoboken*, v. 213, n. 1, p. 66-72, 2008. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2475566/>. Acesso em: 14 abr. 2021

ISO 10993-6. Biological evaluation of medical devices - Part 6: Tests for local effects after implantation. International Standard. 2:1-19. 2007. Disponível em: <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:10993:-6:ed-3:v1:en>. Acesso em: 23 maio 2020

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. *Histologia básica*. 8.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995.

KATARI, R. S.; PELOSO, A.; ORLANDO, G. Tissue engineering. **Advances in Surgery**, Amsterdam, v. 48, p. 137-154, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yasu.2014.05.007>

PFARRER, C. D. et al. Localization of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors VEGFR-1 and VEGFR-2 in bovine placentomes from implantation until term. *Placenta*, v. 27, n. 8, p. 889-898, 2006.

Palavras-chave: Descelularização. Engenharia de tecidos. Matrix extracelular.

Nº de Registro no sistema Prisma: PES 2020-0417

Financiamento: UFFS.