

Análise citotóxica do cimento de ionômero de vidro modificado por conchas marinhas em células de *Saccharomyces cerevisiae*

Vilches, P¹, Giacomelli, É², Hirakata, LM², Medina-Silva, R.¹ (orientador)

¹*Faculdade de Biociências, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul*

²*Faculdade de Odontologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul*

Introdução

A odontologia necessita de materiais que possam produzir ou fornecer uma melhor regeneração de estruturas de tecidos perdidos e que sejam biocompatíveis com células animais. O cimento ionômero de vidro (CIVs) é um material de uso bastante amplo, ele foi criado por Wilson & Kent em 1971 e vem sendo utilizado desde este momento (WILSON et al, 1972). O CIVs já é utilizado a mais de 20 anos sem apresentar problemas citotóxicos significantes, o que permite o uso deste material no reparo de estruturas ósseas. O CIVs deste estudo foi modificado através da adição de carbonato de cálcio obtido a partir de conchas marinhas. A modificação deste material pelo carbonato de cálcio gerou uma estrutura tridimensional, sendo esta adequada para abrigar a estrutura tecidual desejada. Mesmo que o CIVs tenha gerado poucos problemas citotóxicos, a mudança estrutural e química deste material poderia gerar um efeito tóxico para as células vivas. Desta forma, neste projeto foram testados peças de ionômeros com diferentes concentrações de carbonato cálcio, visando obter uma relação entre quantidade e toxicidade do material. Os testes de citotoxicidade foram realizados com a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, que é um microrganismo muito utilizado como modelo microbiológico experimental. O uso de *S. cerevisiae* se deve ao fato dela ser um eucarioto, que apresenta características celulares e bioquímicas semelhantes a células animais (De Freitas et al. 2003). Além disso, é um microrganismo que apresenta necessidades simples de crescimento, com curto tempo de multiplicação e facilidade de manipulação, promovendo a geração de um robusto corpo dados em um curto espaço de tempo (Poletto, 2008).

Metodologia

O estudo foi realizado com três concentrações diferentes de carbonato de cálcio adicionado ao CIVs (1%, 5% e 10%). A amálgama foi também testada como um controle positivo, enquanto o controle negativo foi feito somente com o meio de cultura líquido. Os meios de cultura utilizados foram o YPD líquido (extrato de levedura a 1%, peptona a 2% e glicose a 2%) e YPD-ágar (líquida (extrato de levedura a 1%, peptona a 2%, glicose a 2% e ágar a 2%). A cepa de *S. cerevisiae* utilizada foi FF18733. O experimento de citotoxicidade foi realizado a partir da exposição direta, ou seja, as peças do material testado entraram em contato diretamente com as células *S. cerevisiae* em cultivo. No primeiro momento foi realizado um pré-inóculo, onde *S. cerevisiae* foi cultivada em 5 ml de YPD líquido a 30°C até chegar a fase exponencial (~10⁶ células/ml). Este pré-inóculo foi utilizado para a preparação dos inóculos individuais, nos quais peças dos quatro diferentes materiais (CIVs a 1%, 5%, 10% e amálgama) foram adicionadas a tubos com 5 ml de YPD líquido estéril. A cada tubo (contendo uma peça diferente ou controle negativo) foi adicionado 100 µl do pré-inóculo. Todos os tubos inoculados foram mantidos a 30°C por 24 horas, para crescimento até fase exponencial (~ 10⁶ células / ml). Após este crescimento, foram realizadas diluições seriadas, até 10⁻⁵. As diluições 10⁻⁴ e 10⁻⁵ foram semeadas em YPD- ágar, em duplicata, e cultivadas a 30°C durante 48h. Na última etapa do experimento foi feita a contagem das UFCs/ml, para uma análise quantitativa de sobrevivência de *S. cerevisiae*. Foram realizados quatro experimentos completos. Uma média de UFC/ml de cada de tratamento foi calculada e comparada ao controle negativo para verificação de eventuais diferenças significativas em termos de sobrevivência de *S. cerevisiae*.

Resultados

Os resultados indicaram que todos os materiais testados (CIVs a 1%, CIVs a 5%, CIVs a 10%), bem como o controle positivo, parecem induzir uma certa perda de viabilidade em células de *S. cerevisiae* em relação ao controle negativo. Entretanto, a sobrevivência a todos estes tratamentos foi maior do que 10% comparada ao controle, indicando que a diferença não se mostrou significativa. Desta forma, os materiais analisados não parecem induzir toxicidade relevante nesta levedura. Novos testes serão realizados para a verificação de eventual indução de perda de capacidade respiratória (colônias petite) por parte destes materiais.

Conclusão

Foi possível concluir que todos os materiais analisados, mesmo com diferentes concentrações de carbonato de cálcio, apresentaram apenas uma pequena tendência a induzir toxicidade nas células de *S. cerevisiae*. Comparados ao controle negativo, os tratamentos induziram uma sobrevivência superior a 10%, o que demonstra que a diferença não se mostrou significativa e que a toxicidade celular induzida não pode ser considerada relevante.

Referências

- WILSON AD; KENT BE. A new translucent cement for dentistry. The glass ionomer cement. **Br Dent J**. Vol. 132 N° 4 (1972), pp.133-135.
- DE FREITAS, J.; WINT, H.; KIM, J.H.; POYTON, H.; FOX, T.; VULPE C. Yeast, a model organism for iron and copper metabolism studies. **Biometals**. Vol. 16, N° 1 (2003), pp.185-197.
- POLETTI, N.P., Evaluation of Cytotoxic and Cytostatic Effects in *Saccharomyces cerevisiae* by Poissoner Quantitative Drop Test. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**. Vol.104 (2008), pp.71-75.