



INTRODUÇÃO / OBJETIVO

O trauma raquimedular (TRM) corresponde a um evento definido por lesões na medula espinhal com alterações permanentes na sensibilidade, função motora e sensorial (1,2). Nanomateriais bioativos de grafeno, em conjunto com o potencial regenerativo das células-tronco mesenquimais (CTMs) (3,4), são candidatos promissores para aplicação em neurologia, destacando o potencial excitatório do grafeno *in vivo*, e melhor suporte a angiogênese, neogênese abundante e presença de axônios neuronais regenerados na área da lesão (4,5). Este estudo teve por objetivo verificar o papel terapêutico de nanoplaquetas de grafeno associadas às CTMs no TRM.

MATERIAL E MÉTODOS

Em parceria com o UCSGRAPHENE desenvolveu-se formulações de nanoplaqueta de grafeno funcionalizadas: UGZ1001, UGZ1002, UGZ1003 e UGZ1004. Testes de biocompatibilidade e citotoxicidade *in vitro* foram realizados obedecendo as normas da ISO-10993-5/2020-23. Linhagens celular de BV-2 (microglia), VERO (epitélio renal) e 3T3 (fibroblastos) foram mantidas em condições apropriadas de cultivo.

As nanoplaquetas de grafeno foram expostas a 30 minutos em luz UV para desinfecção, em cabine de fluxo classe II. Para avaliar a viabilidade celular, foi utilizado o ensaio de MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide]. As células cultivadas em placas de 96 poços foram expostas a formulações de grafeno por contato direto ou por eluição, em 24 h, 48 h e 72 h.

O marcador fluorescente DAPI (4',6'-diamino-2-fenil-indol) foi utilizado para analisar a morfologia e morfometria nuclear, considerando parâmetros nucleares que são quantificados em software específico (Image J). Todos os experimentos foram realizados três vezes, em triplicata.

RESULTADOS

As formulações UGZ1001 e UGZ1004 não impactaram a viabilidade quando em contato com cultivo das linhagens celulares, sendo classificadas como biocompatíveis e não citotóxicas (Fig 1).

A coloração por DAPI, comprovou a preservação do caráter proliferativo e morfologia nuclear intactos (Fig 2). As formulações UGZ1002 e UGZ1003 foram descartadas por apresentarem citotoxicidade em 48 h de contato com cultivo celular das linhagens VERO e 3T3 (dados não apresentados).

Observou-se uma interação a nível intracelular com exposição das nanoplaquetas nomeada UGZ1001 e UGZ1004 às células da linhagem BV2 (Fig 3 e Fig 4).

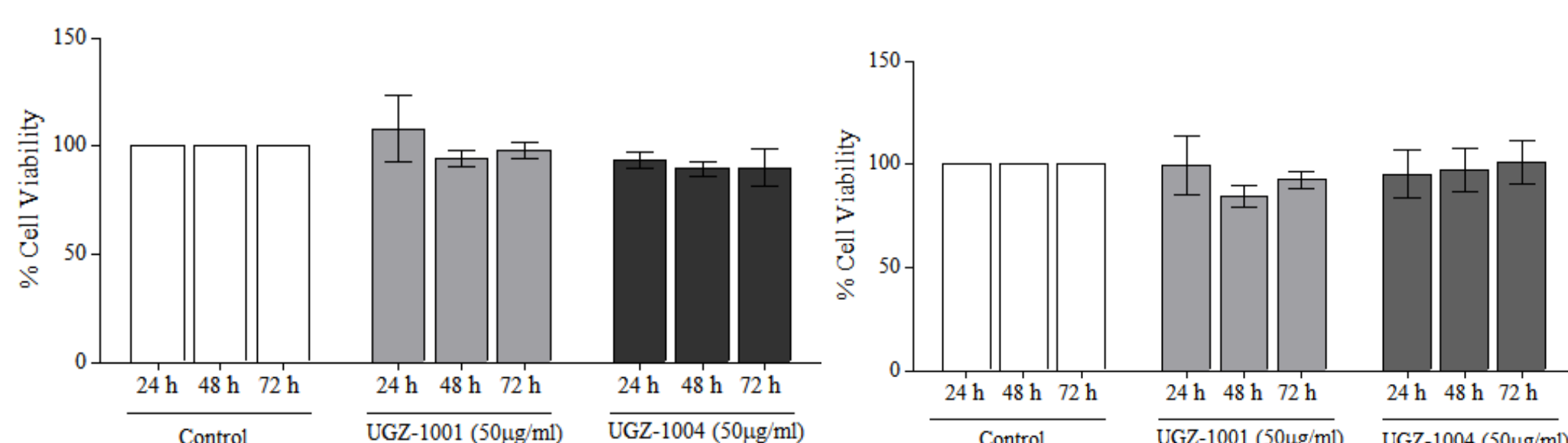


Fig 1. Teste de MTT. Denota ausência de toxicidade e manutenção do perfil proliferativo da colônia celular.

RESULTADOS

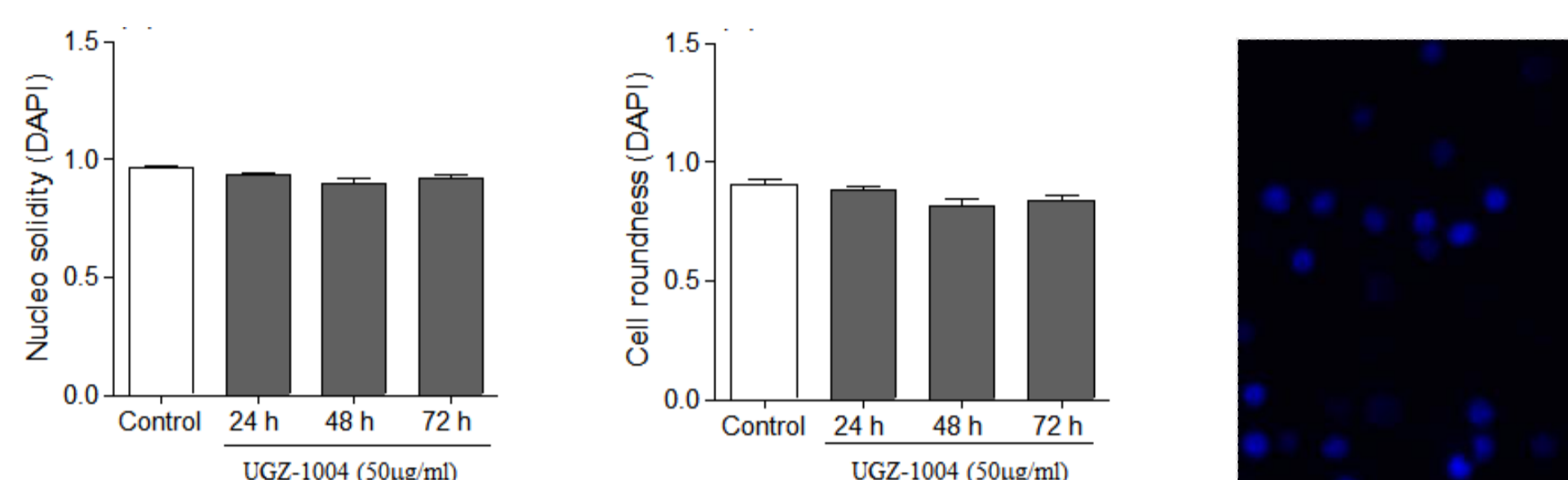


Fig 2. Ensaio DAPI. Aspectos morfológicos nucleares preservados.

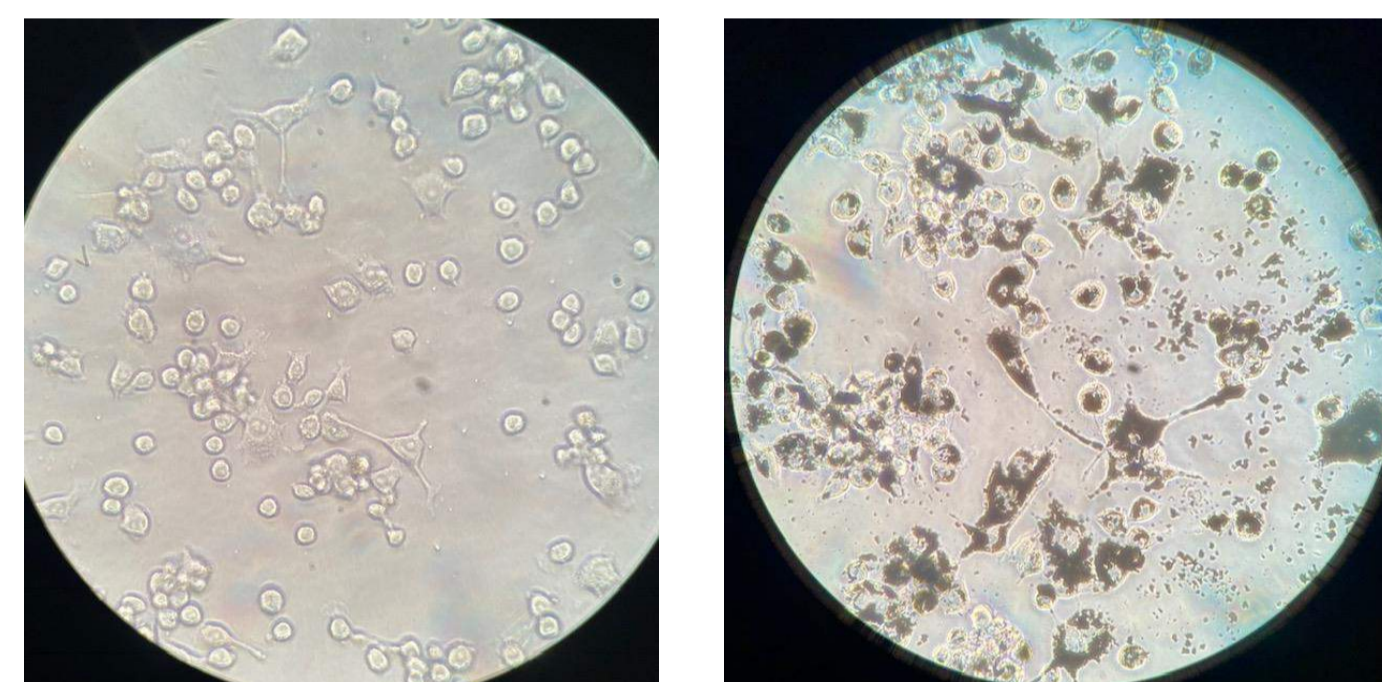


Fig 3. Células da linhagem BV2. Cultivo controle vs Cultivo acrescido da formulação UGZ1004 (objetiva de 10 x)

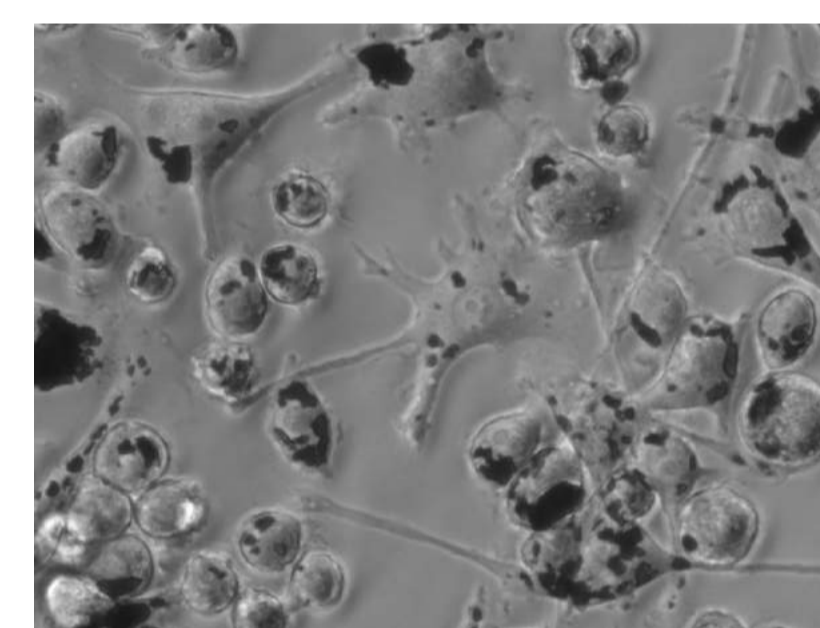


Fig 4. Células da linhagem BV2. Cultivo acrescido da formulação UGZ1004. Nanoplaquetas de grafeno internalizadas e manutenção do aspecto usual da colônia celular (objetiva de 40 x).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A pesquisa destaca a segurança da formulação UGZ1001 e UGZ1004 em cultivo celular conforme padrão ISO-10993-5/2020-23. Ensaio futuros da interação grafeno-CTMs podem indicar uma aplicação promissora na área da neurologia, visto o caráter elétrico inerente ao grafeno somado ao potencial regenerador das CTMs.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Hillen BK, Abbas Jj Fau - Jung R, Jung R. Accelerating locomotor recovery after incomplete spinal injury. 2013; (1749-6632 (Electronic)).
- Zhao CQ, Wang LM, Jiang LS, Dai LY. The cell biology of intervertebral disc aging and degeneration. Ageing Res Rev. 2007;6(3):247-61.
- Rigal J, Leglise A, Barnette T, Cogniet A, Aunoble S, Le Huec JC. Meta-analysis of the effects of genetic polymorphisms on intervertebral disc degeneration. Eur Spine J. 2017;26(8):2045-52
- Serrano MC, Feito MJ, González-Mayorga A, Diez-Orejas R, Matesanz MC, Portolés MT. Response of macrophages and neural cells in contact with reduced graphene oxide microfibers. Biomater Sci. 2018; Nov 1;6(11):2987- 2997.
- Tiwari P, Tiwari S. Detection and modulation of neurodegenerative processes using graphene-based nanomaterials: Nanoarchitectonics and applications. Adv Colloid Interface Sci. 2023; Jan;311:102824.