



Citotoxicidade de testes com biomateriais in vitro e in vivo aplicado a DAVs

GIROTTO LAM*

**Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo – Campus São Paulo*

Resumo. Este artigo aplica à Engenharia Mecânica – Biomateriais em conjunto com análises de testes in vitro e in vivo, realizadas em outros estudos, com o objetivo de abordar tipos de testes que podem ser feitos, relacionados a citotoxicidade, fazendo assim, uma correlação com a escolha dos biomateriais utilizados em dispositivos biomédicos. Os métodos in vitro mostram vantagens se comparado ao in vivo tais como poder limitar o número de variáveis experimentais, adquirir dados significativos mais facilmente além do período de teste ser, em muitos casos, mais curto. Estudos com estes métodos demonstraram que os testes com culturas celulares podem ser utilizados com sucesso, pois são reprodutíveis, rápidos, sensíveis e financeiramente acessíveis para a execução do estudo de biocompatibilidade.

Palavras-chaves: citotoxicidade, in vitro, in vivo, biomateriais, DAVs.

Introdução. A citotoxicidade é a capacidade intrínseca, de possibilitar a alteração metabólica das células podendo resultar ou não em morte celular. No contexto de biomateriais utilizados em dispositivos médicos como os DAVs, a citotoxicidade é uma preocupação crucial, pois um material tóxico pode desencadear uma resposta inflamatória, rejeição do implante e, conseqüentemente, comprometer a saúde do paciente.

De acordo com International Standard Organization, ISO 10993, o ensaio de citotoxicidade in vitro é o primeiro teste para avaliar a biocompatibilidade de qualquer material para uso em dispositivos biomédicos e depois de comprovada a sua não toxicidade, o estudo da biocompatibilidade do produto pode ter continuidade realizando-se os ensaios necessários em animais de laboratório.

Esta avaliação, aplicada a biomateriais no sistema cardiovascular, permite caminhar para uma análise do histórico de rejeição pós-transplantes e, também, para uma escolha mais assertiva quanto ao biomaterial adotado no procedimento.



A Importância dos Testes de Citotoxicidade em DAVs. Os DAVs são dispositivos médicos implantados que interagem diretamente com o tecido cardíaco e o sangue. A escolha dos biomateriais para a fabricação desses dispositivos é fundamental para garantir sua biocompatibilidade, ou seja, a capacidade de coexistir com o tecido hospedeiro sem causar reações adversas. Os testes de citotoxicidade são essenciais neste contexto, devido a:

- **Prevenção de complicações:** Identificam materiais que podem causar danos às células, evitando complicações como trombose, infecção e rejeição do implante.
- **Garantia da segurança do paciente:** Asseguram que o dispositivo não irá liberar substâncias tóxicas que possam prejudicar a saúde do paciente.
- **Otimização do design do dispositivo:** Permitem a seleção de materiais com as melhores propriedades biocompatíveis, contribuindo para o desenvolvimento de dispositivos mais seguros e eficazes.

Testes de citotoxicidade. Existem diversas metodologias para avaliar a citotoxicidade de biomateriais, tanto *in vitro* quanto *in vivo*. As mais comuns incluem:

TESTE	ENSAIO	OBJETIVO
Testes <i>in vitro</i>	Ensaio de viabilidade celular	Avaliam a capacidade das células de sobreviver em contato com o material.
Testes <i>in vitro</i>	Ensaio de proliferação celular	Medem a capacidade das células de se multiplicar na presença do material.
Testes <i>in vitro</i>	Ensaio de citotoxicidade direta	Avaliam o efeito direto do material sobre as células
Testes <i>in vitro</i>	Ensaio de lixiviação	Avaliam a liberação de substâncias tóxicas do material para o meio de cultura
Testes <i>in vivo</i>	Implante em animais	Avaliam a resposta do tecido hospedeiro ao material em um modelo animal.
Testes <i>in vivo</i>	Análise histopatológica	Avaliam as alterações histológicas nos tecidos em contato com o material

Estudos de Viabilidade celular. A biocompatibilidade de um material para implante é considerada ótima quando ele promove epitelização (crescimento de tecido biológico sob uma superfície) e estabelece com o meio biológico uma interface capaz de suportar as cargas normais do local implantado; e a biofuncionalidade de um implante caracteriza-se pela sua capacidade em atuar com uma resposta apropriada em uma aplicação específica (Boshi, 1993).

O cultivo de células é uma ferramenta imprescindível para identificar os mecanismos pelos quais biomateriais podem produzir reações variadas em nível celular. Testes *in vitro* também fornecem informações importantes a respeito da morfologia, proliferação e adesão celular, comportamento das células simulando o microambiente celular e molecular da reparação, quando se faz o uso de biomateriais.

Para um DAV ser biofuncional, reações imunológicas locais ou sistêmicas são inadmissíveis; portanto, quanto menos partículas o biomaterial liberar, em função do tempo de implante, melhor será sua aceitação pelo tecido biológico local e demais sistemas (Oréfice, 2005).

Esta característica, não somente de DAVs, mas como de qualquer implante permanente, pode ser melhorada através de processos de modificação superficial por meio de revestimento; onde um novo aspecto de superfície, mais próximo às condições naturais, pode proporcionar melhor interação com o local implantado e todo o organismo; assim como aumentar sua durabilidade e confiabilidade (Kaneko et al., 2001).

Atribuindo uma comparação com os testes *in vivo*, os estudos *in vitro* são mais facilmente controlados, financeiramente acessíveis e apresentam melhor reprodutibilidade. A realização de ensaios *in vitro* ainda permite redução no número de animais utilizados na avaliação da biocompatibilidade de um material (Freshney, 2005).

Vale ressaltar que a experimentação *in vitro* não substitui o subsequente estudo *in vivo*. Ambos são necessários para um adequado esquema de testes de potenciais biomateriais (Kirkpatrick, 1990).

Conclusão. Assim conclui-se que os processos aplicados para modificações de superfícies e seus respectivos testes sejam *in vitro* ou *in vivo*, visam contribuir para elevar as taxas de sucesso dos procedimentos realizados, por exemplo, contribuir com a melhoria da durabilidade e biocompatibilidade de DAVs.

Apesar da importância dos testes de citotoxicidade, ainda existem desafios a serem superados, como: Padronização dos métodos (a falta de uma padronização universal dificulta a comparação



de resultados entre diferentes estudos), complexidade dos sistemas biológicos(a interação entre o biomaterial e o tecido hospedeiro é um processo complexo e multifatorial, o que torna difícil a previsão exata da resposta in vivo a partir de testes in vitro) e os novos materiais (o desenvolvimento de novos biomateriais com propriedades aprimoradas exige a constante adaptação dos métodos de avaliação).

Referencias.

Boshi, A. O. O que é necessário para que um material possa ser considerado um biomaterial? Encontro Nacional de Biomateriais: Resumos. IPEN-CNEN/SP. São Paulo, 1993, vol. 2.

Oréfice, R.L. Biomateriais e Biocompatibilidade. F. ORÉFICE(org.), Uveíte: Clínica e Cirúrgica: Texto & Atlas. Rio de Janeiro, vol. 2 (2ª ed.), 2005, p. 1317-1351.

Bock, Eduardo et al. Laser-Treated Surfaces for VADs: From Inert Titanium to Potential Biofunctional Materials. BME Frontiers, 2022.

Kaneko S. et al., A. In vivo evaluation of bonebonding of titanium metal chemically treated with a hydrogen peroxide solution containing tantalum chloride. Biomaterials, vol. 22 (9), 2001, p. 875-881.

Legendre, D. F. (2003). Estudos de Técnicas de Texturização e Biolização, e Desempenho Biológico In Vitro e In Vivo em Membrana para um Dispositivo de Assistência Ventricular e Coração Artificial Totalmente Implantáveis. São Carlos, 2003.103p. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.

Rogero, S.O et al. Teste in vitro de citotoxicidade: estudo comparativo entre duas metodologias. Materials Research, v. 6, n. 3, p. 317-320, 2003.

International standard: Biological Evaluation of Medical Devices – Part 5: Tests for Cytotoxicity: in vitro methods. ISO 10993-5, 1992.

Sousa WJB de, Barbosa RC, Fook MVL, Filgueira PTD, Tomaz AF. Membranas de polihidroxibutirato com hidroxiapatita para utilização como biomaterial. Matéria (Rio J) [Internet]. 2017;22(4):e-11902. Available from: <https://doi.org/10.1590/S1517-707620170004.0236>

doi.org/10.32640/tasj.2024.1.36



Bock, E. et al. Introductory tests to In Vivo evaluation: Magnetic Coupling Influence in motor controller. *ASAIO Journal*, v.56, n.2, p.128, 2010.

Fonseca, J.; et al.; In vivo Tests with the Auxiliary Total Artificial Heart as a left 109 ventricular assist device in calves. In: MENEGALDO, Luciano; ORTIZ, Jayme Pinto;

Pamplona, Djenane C. (Ed.). *ABCM Symposium Series in Bioengineering*. Rio de Janeiro: ABCM, 2007. v.1, p.108.

Andrade, A. J. P. Desenvolvimento de Testes “In Vitro” e “In Vivo” de Dispositivos de Assistência Circulatória Sanguínea Uni e Biventricular e um Coração Artificial Auxiliar (CAA) Eletromecânico, Totalmente Implantável. Tese de Livre Docência. São Paulo: Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, 2012.

OrimeY. et al. In Vitro and In Vivo validation tests for total artificial heart. *Intern. Soc. for Artif. Organs* , v. 18, p. 54-72, 1994.

Wada, E. et al.; Review of the Spiral Pump performance test during cardiopulmonary bypass in 43 patients. In vivo Tests with the Auxiliary Total Artificial Heart as a left ventricular assist device in calves. In: MENEGALDO, Luciano; ORTIZ, Jayme Pinto; PAMPLONA, Djenane C. (Ed.). *ABCM Symposium Series in Bioengineering*. Rio de Janeiro: ABCM, 2007. v.1, p.107.

International standard: Biological Evaluation of Medical Devices – Part 5: Tests for Cytotoxicity: in vitro methods. ISO 10993-5:2009

Mansur, A. de P., & Favarato, D.. (2021). Taxas de Mortalidade por Doenças Cardiovasculares e Câncer na População Brasileira com Idade entre 35 e 74 Anos, 1996-2017. *Arquivos Brasileiros De Cardiologia*, 117(2), 329–340. <https://doi.org/10.36660/abc.20200233>

Andrade, A. J. P. Projeto, Protótipo e Testes “In Vitro” e “In Vivo” de um Novo Modelo de Coração Artificial Total (TAH) por Princípio Eletro-Mecânico de Funcionamento, 1998. 230p, Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

Freshney, R. I. *Culture of animal cells: a manual of basic technique*. 4 ed. Wiley-Liss, 2000. 577p.

doi.org/10.32640/tasj.2024.1.36



Marques, A.P. et al. The biocompatibility of novel starch- based polymers and composites: in vitro studies. *Biomaterials*.

v. 23. p. 1471-1478. Mar, 2002.

Kirkpatrick, C.J.; Mittermayer, C. Theoretical and practical aspects of testing potential biomaterials in vitro.