

DANIELA REIS JOAQUIM DE FREITAS
(ORGANIZADORA)

AGENDA
GLOBAL

DE PESQUISA

EM CIÊNCIAS

Biológicas

Atena
Editora
Ano 2021

DANIELA REIS JOAQUIM DE FREITAS
(ORGANIZADORA)

AGENDA
GLOBAL

DE PESQUISA

EM CIÊNCIAS

Biológicas

Atena
Editora
Ano 2021

Editora chefe

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Editora executiva

Natalia Oliveira

Assistente editorial

Flávia Roberta Barão

Bibliotecária

Janaina Ramos

Projeto gráfico

Camila Alves de Cremo

Daphynny Pamplona

Luiza Alves Batista

Maria Alice Pinheiro

Natália Sandrini de Azevedo

Imagens da capa

iStock

Edição de arte

Luiza Alves Batista

2021 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do texto © 2021 Os autores

Copyright da edição © 2021 Atena Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.

Open access publication by Atena Editora



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição-Não-Comercial-NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. Permitido o *download* da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

Conselho Editorial**Ciências Biológicas e da Saúde**

Prof. Dr. André Ribeiro da Silva – Universidade de Brasília

Profª Drª Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás

Profª Drª Daniela Reis Joaquim de Freitas – Universidade Federal do Piauí

Profª Drª Débora Luana Ribeiro Pessoa – Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Douglas Siqueira de Almeida Chaves – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Profª Drª Elizabeth Cordeiro Fernandes – Faculdade Integrada Medicina
Profª Drª Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília
Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Profª Drª Eysler Gonçalves Maia Brasil – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira
Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Fernanda Miguel de Andrade – Universidade Federal de Pernambuco
Prof. Dr. Fernando Mendes – Instituto Politécnico de Coimbra – Escola Superior de Saúde de Coimbra
Profª Drª Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Helio Franklin Rodrigues de Almeida – Universidade Federal de Rondônia
Profª Drª Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco
Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Jefferson Thiago Souza – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Jesus Rodrigues Lemos – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Jônatas de França Barros – Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do Amazonas
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Maria Tatiane Gonçalves Sá – Universidade do Estado do Pará
Profª Drª Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federacão do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá
Prof. Dr. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados
Profª Drª Regiane Luz Carvalho – Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino
Profª Drª Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora
Profª Drª Vanessa da Fontoura Custódio Monteiro – Universidade do Vale do Sapucaí
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Welma Emidio da Silva – Universidade Federal Rural de Pernambuco

Agenda global de pesquisa em ciências biológicas

Diagramação: Maria Alice Pinheiro
Correção: Mariane Aparecida Freitas
Indexação: Gabriel Motomu Teshima
Revisão: Os autores
Organizadora: Daniela Reis Joaquim de Freitas

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

A265 Agenda global de pesquisa em ciências biológicas /
Organizadora Daniela Reis Joaquim de Freitas. – Ponta
Grossa - PR: Atena, 2021.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-65-5983-614-7

DOI: <https://doi.org/10.22533/at.ed.147210311>

1. Ciências biológicas. I. Freitas, Daniela Reis Joaquim
de (Organizadora). II. Título.

CDD 570

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

Atena Editora

Ponta Grossa – Paraná – Brasil

Telefone: +55 (42) 3323-5493

www.atenaeditora.com.br

contato@atenaeditora.com.br

DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa; 6. Autorizam a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Atena Editora.

DECLARAÇÃO DA EDITORA

A Atena Editora declara, para os devidos fins de direito, que: 1. A presente publicação constitui apenas transferência temporária dos direitos autorais, direito sobre a publicação, inclusive não constitui responsabilidade solidária na criação dos manuscritos publicados, nos termos previstos na Lei sobre direitos autorais (Lei 9610/98), no art. 184 do Código Penal e no art. 927 do Código Civil; 2. Autoriza e incentiva os autores a assinarem contratos com repositórios institucionais, com fins exclusivos de divulgação da obra, desde que com o devido reconhecimento de autoria e edição e sem qualquer finalidade comercial; 3. Todos os e-book são *open access*, desta forma não os comercializa em seu site, sites parceiros, plataformas de *e-commerce*, ou qualquer outro meio virtual ou físico, portanto, está isenta de repasses de direitos autorais aos autores; 4. Todos os membros do conselho editorial são doutores e vinculados a instituições de ensino superior públicas, conforme recomendação da CAPES para obtenção do Qualis livro; 5. Não cede, comercializa ou autoriza a utilização dos nomes e e-mails dos autores, bem como nenhum outro dado dos mesmos, para qualquer finalidade que não o escopo da divulgação desta obra.

APRESENTAÇÃO

A pesquisa não pode parar. Isto é um fato. E o livro “Agenda global de Pesquisa em Ciências Biológicas” é a prova de que o Brasil é profícuo quando se trata de pesquisa. Esta obra é composta por trabalhos científicos produzidos em diversas partes do país na forma de artigos originais e de revisão, que abordam desde o cultivo, triagem e citocompatibilidade de células-tronco mesenquimais expostas à nanotubos funcionalizados de carbono multicamadas até o controle de qualidade microbiológica do sururu (*Mytella falcata*) produzido no Rio de Janeiro, ou a análise temporal da disseminação de vegetação exótica em dunas do litoral do Rio Grande do Sul, ou o desenvolvimento do turismo e as mulheres erveiras da Amazônia. Todas estas pesquisas possuem campo dentro das Ciências Biológicas, mas fazem interface com meio Ambiente, Engenharia, Ciências da Saúde, Antropologia, Tecnologia de alimentos, entre outras áreas.

Ao longo de 13 capítulos serão discutidas diferentes temáticas, com embasamento teórico-científico adequado, atualizado e serão revistos conceitos importantes. Este livro é principalmente voltado para os estudantes e profissionais que desejam se aprofundar mais na pesquisa na grande área das Ciências Biológicas, com uma leitura rápida, dinâmica e cheia de possibilidades de aprendizado.

Assim como todas as publicações da Atena Editora, esta obra passou pela revisão de um Comitê de pesquisadores com mestrado e doutorado em programas de pós-graduação renomados no Brasil. Portanto, apresentamos ao leitor um trabalho de qualidade, atualizado e devidamente revisado por pares.

Boa leitura.


Daniela Reis Joaquim de Freitas

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1..... 1

A TRAJETÓRIA DE JOAQUIM MONTEIRO CAMINHOÁ: UM BOTÂNICO NO IMPÉRIO DO BRASIL (1858-1896)

Alex Gonçalves Varela

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.1472103111>

CAPÍTULO 2..... 20

ANÁLISE DE DESGASTE UTILIZANDO NANOLUBRIFICANTE ADITIVADO COM NANOPARTÍCULAS DE CELULOSE

Pollyana Grazielle Luz da Rocha


Matheus Gonçalves Leão de Oliveira

Paulo Vitor França Lemos

Larissa Alves de Sousa Costa

Adelson Ribeiro de Almeida Júnior

Jania Betania Alves da Silva

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.1472103112>


CAPÍTULO 3..... 33

ANÁLISE TEMPORAL DA DISSEMINAÇÃO DE VEGETAÇÃO EXÓTICA EM DUNAS DO LITORAL MÉDIO DO RIO GRANDE DO SUL

Kátia Helena Lipp Nissinen

Jonas Marmitt Dias

Gustavo Machado Cauduro

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.1472103113>

CAPÍTULO 4..... 43

CITOCOMPATIBILIDADE *IN VITRO* DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS EXPOSTAS À NANOTUBOS DE CARBONO MULTICAMADAS FUNCIONALIZADOS

Eduarda Rocha de Oliveira

Rafaella de Souza Salomão Zanette


Leonara Fayer

Elyabe Monteiro de Matos

Luiz Orlando Ladeira

Humberto de Mello Brandão

Michele Munk

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.1472103114>


CAPÍTULO 5..... 51

QUALITY CONTROL OF ANTIVIRAL VACCINES WITH THE LITESIZER

Nathalie Etchart

Eduardo C. Araújo


Talita Cardeal

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.1472103115>

CAPÍTULO 6..... 62

CYTOTOXIC AND GENOTOXIC EFFECTS OF THE GLUTARIMIDE ALKALOID JULOCROTINE


Regianne Maciel dos Santos Correa
Plínio Cerqueira dos Santos Cardoso
Lorena Araújo da Cunha
Tatiane Cristina Mota
Diego Di Felipe Ávila Alcantara
Giselle Maria Skelding Pinheiro Guilhon
Rosana de Nazaré Silva Peixoto
Rommel Rodriguez Burbano
Marcelo de Oliveira Bahia

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.1472103116>

CAPÍTULO 7..... 74

ESTRUTURA E COMPOSIÇÃO FLORÍSTICA DO REMANESCENTE FLORESTAL DO CAMPUS DO CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS (ARARAS, SP)


Steve de Oliveira Costa
Priscila Orlandini
Letícia Ribes de Lima

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.1472103117>

CAPÍTULO 8..... 95

COMPARATIVE STUDY OF DRYING AND POST-FIXATION TECHNIQUES OF NIH 3T3 FIBROBLAST FOR SCANNING ELECTRON MICROSCOPY ANALYSIS


Susane Lopes
Giulia Galani Martha
Ana Paula Lorenzen Voytena
Deise Rebelo Consoni
Marcelo Maraschin

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.1472103118>

CAPÍTULO 9..... 106

MULHERES ERVEIRAS DA AMAZÔNIA E O TURISMO DE BASE COMUNITÁRIA NA PERSPECTIVA DO DESENVOLVIMENTO LOCAL

Márcia Sueli Castelo Branco Bastos
Wagner Luiz Ramos Barbosa




 <https://doi.org/10.22533/at.ed.1472103119>

CAPÍTULO 10..... 123

PRÁCTICA DE RECOLECCIÓN DE LIANA “CIPÓ-TITICA” EN EL ESTADO DE AMAPÁ, BRASIL

Luciano Araujo Pereira
Patrick de Castro Cantuária

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.14721031110>

CAPÍTULO 11	130
PRODUÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PEJU/PPG PARA ENCAPSULAÇÃO DE DICLOFENACO DE SÓDIO	
Cassio Nazareno Silva da Silva	
Karla de Aleluia Batista	
 https://doi.org/10.22533/at.ed.14721031111	
CAPÍTULO 12	141
QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO SURURU (<i>MYTELLA FALCATA</i>) APERTIZADO EM SALMOURA ORIUNDO DA BAÍA DE SEPETIBA, RIO DE JANEIRO, BRASIL	
Karoline Ribeiro Palmeira Schmalz	
Flávia Aline Andrade Calixto	
Ronaldo Hertel	
Luiz Antonio Moura Keller	
Renata Torrezan	
Maria Carmela Kasnowski	
Eliana de Fátima Marques de Mesquita	
 https://doi.org/10.22533/at.ed.14721031112	
CAPÍTULO 13	151
QUESTÕES DE BIOLOGIA NO ENEM (2009-2019) E SUAS ABORDAGENS EM LIVROS DIDÁTICOS	
Vagner Dias Raimundo	
Orcione Aparecida Vieira Pereira	
Filipe Brum Machado	
 https://doi.org/10.22533/at.ed.14721031113	
SOBRE O ORGANIZADORA	163
ÍNDICE REMISSIVO	164

CAPÍTULO 4

CITOCOMPATIBILIDADE *IN VITRO* DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS EXPOSTAS À NANOTUBOS DE CARBONO MULTICAMADAS FUNCIONALIZADOS

Data de aceite: 25/10/2021

Data de submissão: 06/08/2021

Eduarda Rocha de Oliveira

Departamento de Biologia, Universidade Federal de Juiz de Fora
Juiz de Fora - Minas Gerais

Rafaella de Souza Salomão Zanette

Departamento de Biologia, Universidade Federal de Juiz de Fora
Juiz de Fora - Minas Gerais

Leonara Fayer

Departamento de Biologia, Universidade Federal de Juiz de Fora
Juiz de Fora - Minas Gerais

Elyabe Monteiro de Matos

Departamento de Biologia, Universidade Federal de Juiz de Fora
Juiz de Fora - Minas Gerais

Luiz Orlando Ladeira

Departamento de Física, Universidade Federal de Minas Gerais
Belo Horizonte – Minas Gerais

Humberto de Mello Brandão

Laboratório de Nanotecnologia, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA)
Juiz de Fora – Minas Gerais

Michele Munk

Departamento de Biologia, Universidade Federal de Juiz de Fora
Juiz de Fora - Minas Gerais

RESUMO: O nanotubo de carbono multicamadas carboxilado (MWCNT-COOH) possui condução térmica e elétrica, resistência mecânica, capilaridade, grande superfície de contato, peso ultraleve, flexibilidade e atividade antimicrobiana. Sendo assim, é um nanomaterial (NM) com propriedades relevantes para possíveis aplicações biomédicas como a síntese de *scaffolds* para uso na bioengenharia tecidual e medicina regenerativa. Contudo, devido à alta reatividade proveniente da nanoescala e a possibilidade de toxicidade, existe a necessidade de avaliar os efeitos destes NMs quando em contato com sistemas biológicos. Portanto, neste trabalho, o propósito foi avaliar a citocompatibilidade *in vitro* de MWCNT-COOH em células-tronco mesenquimais de polpa dentária humana (CTMs). As células-tronco foram expostas às concentrações 0; 0,1; 1; 10; 50; 100 $\mu\text{g/mL}$ de MWCNT-COOH por 48h. Posteriormente foram avaliados a viabilidade celular por Citometria de Fluxo utilizando a marcação com iodeto de propídeo e, o estresse oxidativo, por teste da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD). Os resultados foram avaliados por ANOVA, post hoc Tukey, e $p < 0,05$. O ensaio de Citometria de Fluxo mostrou que o MWCNT-COOH não alterou a viabilidade celular ($P > 0,05$), assim como os resultados do ensaio da enzima SOD não indicaram estresse oxidativo ($P > 0,05$) em nenhum dos tratamentos testados quando comparado ao controle. Assim, nas atuais condições experimentais, a exposição *in vitro* de MWCNT-COOHs não altera a viabilidade celular ou gera estresse oxidativo em CTMs.

PALAVRAS - CHAVE: Citotoxicidade; Nanosseguurança; Nanotecnologia; Nanotoxicidade.

IN VITRO CYTOCOMPATIBILITY OF MESENCHYMAL STEM CELLS EXPOSED TO FUNCTIONALIZED MULTIWALLED CARBON NANOTUBES

ABSTRACT: Carboxylated Multiwalled Carbon Nanotube (MWCNT-COOH) presents thermal and electrical conductivity, mechanical strength, capillarity, high surface area, light weight, flexibility, and antimicrobial activity. Therefore, it is a nanomaterial (NM) with appealing properties for possible applications in biomedicine, such as the synthesis of scaffolds for tissue bioengineering and regenerative medicine. However, nanoscale confers high reactivity to NMs, and it may cause toxicity. Consequently, it is important to evaluate the effect of these NMs when in contact with biological systems. This work evaluated the in vitro cytocompatibility of the MWCNT-COOH on stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED). The cells were exposed to MWCNT-COOH at 0, 0.1, 1, 10, 50, 100 $\mu\text{g/mL}$ for a period of 48h. Subsequently, cell viability was tested by Flow Cytometry using propidium iodide to stain cells, and oxidative stress was evaluated by testing the enzyme superoxide dismutase (SOD) activity. ANOVA and post hoc Tukey were used to statistically analyze data, and $p < 0.05$. The Flow Cytometry assay showed that MWCNT-COOHs did not alter cell viability ($P > 0.05$), as well as the results of the SOD enzyme assay, did not indicate oxidative stress ($P > 0.05$) in any of the treatments tested compared to the control. Therefore, according to the conditions tested, in vitro exposure to MWCNT-COOH does not alter cell viability or generate oxidative stress in SHED.

KEYWORDS: Cytotoxicity; Nanosecurity; Nanotechnology; Nanotoxicity.

1 | INTRODUÇÃO

A nanotecnologia é uma área que estuda os materiais na nanoescala e seus potenciais de aplicação. Os nanomateriais (NMs) precisam apresentar no mínimo uma de suas dimensões variando entre 1 e 100 nm para ser classificado como tal. São essas dimensões nanométricas que conferem propriedades diferentes das que estes materiais teriam em escalas maiores (MIERNICKI et al., 2019). Neste cenário, temos os nanotubos de carbono (NTC) entre os materiais nanométricos mais utilizados mundialmente. Estes são folhas de grafeno enroladas de forma cilíndrica e podem ser de parede simples (Nanotubo de Carbono de Parede Simples – SWCNT) ou multicamadas (Nanotubo de Carbono Multicamada – MWCNT). No caso das multicamadas, as folhas de grafeno estão enroladas concêntricamente. Devido à sua forma e dimensões, os NTCs apresentam propriedades de interesse biotecnológico: condução térmica e elétrica, resistência mecânica, capilaridade, grande superfície de contato, peso ultraleve, flexibilidade e atividade antimicrobiana. Estas características possibilitam aplicações em diversas áreas, incluindo na bioengenharia tecidual e medicina regenerativa (QIAN et al., 2019).

Embora os NTCs sejam uma grande promessa para várias aplicações da biomedicina, a nanoescala confere uma maior reatividade aos NMs por apresentarem

uma área de superfície aumentada em relação ao volume. Assim, quando em contato com sistemas biológicos, os NTCs podem desencadear toxicidade (SUKHANOVA et al., 2018). Então, a nanotoxicidade é um fator crítico que pode limitar o uso da nanotecnologia e preocupa em casos de exposição humana e animal. Logo, a investigação da toxicologia relacionada à nanotecnologia é essencial para aplicações seguras destas tecnologias e reforça a necessidade de avaliar os possíveis impactos desses NMs, especialmente em células humanas.

Recentemente, pesquisadores têm examinado os efeitos de diferentes NTCs em células humanas e demonstrado sinais de toxicidade dependendo da característica desse NM, concentração e tipo celular (MOONEY et al. 2008; URSINI et al., 2012; LONG et al. 2017; ZHAO et al., 2019; KYRIAKIDOU et al., 2020; SANO et al., 2020; DI IANNI et al., 2021; REAMON-BUETTNER et al., 2021). Contudo, ainda não há relatos dos possíveis efeitos de MWCNTs funcionalizados com grupos carboxílicos em células-tronco de polpa dentária humana (CTMs). Portanto, o propósito deste trabalho foi avaliar a viabilidade celular e o estresse oxidativo de CTMs expostas *in vitro* a diferentes concentrações de MWCNT-COOH.

2 | METODOLOGIA

2.1 Cultivo celular e coincubação com mwcnt-cooh

As CTMs são provenientes do Biobanco de Genética Humana e Terapia Celular (GENETEC) da Universidade Federal de Juiz de Fora. O procedimento foi autorizado pela Comissão Nacional de Pesquisa Ética (protocolo de identificação 022/2015) e as CTMs foram previamente caracterizadas (FERREIRA et al., 2019; ZANETTE, 2016). As células foram postas para crescimento em meio DMEM-F12 acrescido de antibióticos (100 U/mL de penicilina e 100 mg/mL de estreptomicina) e soro fetal bovino (10% v/v). Em seguida, as células foram incubadas em uma incubadora Thermo Scientific Forma Series 3 Water Jacketed CO₂ (Thermo Scientific, EUA), em atmosfera umidificada contendo 5% de CO₂ a 37°C. O meio de cultura foi substituído por um fresco a cada 3 dias. A subcultura ocorreu quando cerca de 80% de confluência foi alcançada, destacando as células por tripsinização. Para os ensaios citotóxicos, as células foram expostas a 0 (controle), 0,1, 1, 10, 50, 100 µg/mL de MWCNT-COOH dispersos (imediatamente antes da exposição) em DMEM-F12 suplementado e incubadas novamente por 48 h. Antes da exposição das células, o NM foi disperso com um sonicador UP200S (Hielscher, Alemanha) ajustado em amplitude 75 e ciclo de 0,5, por aproximadamente 1 min. Os experimentos foram conduzidos em triplicata e repetidos duas vezes.

2.2 Análise de Viabilidade Celular

Para descobrir se os MWCNT-COOHs estavam levando as CTMs à morte, executamos uma análise de viabilidade celular por citometria de fluxo. Para isso, CTMs (3×10^4 células/poço) foram plaqueadas em uma placa de 6 poços e expostas ao MWCNT-COOH por 48 h. Após a exposição, o meio de crescimento foi removido e as células foram lavadas com 1X PBS 3 vezes e tripsinizadas. As células foram coletadas por centrifugação a 1500 rotações por minuto (rpm) durante 5 minutos. Em seguida, as células foram ressuspensas em 1x PBS e coradas com iodeto de propídeo (50 $\mu\text{g}/\text{mL}$). As suspensões celulares foram lidas em citômetro CytoFLEX S (Beckman Coulter, EUA).

2.3 Análise de Estresse Oxidativo

Como os NMs podem aumentar a síntese de espécies reativas de oxigênio nas células, realizamos o ensaio da enzima superóxido dismutase (SOD) para entender se o MWCNT-COOH estava desencadeando estresse oxidativo nas CTMs. O kit de ensaio SOD foi usado de acordo com as instruções do fabricante para análise de SOD intracelular (Sigma-Aldrich, EUA). De forma breve, as células (5×10^3 células/poço) foram semeadas em uma placa de 96 poços e expostas a MWCNT-COOHs por 48 h. O meio de crescimento foi removido, as células foram lavadas três vezes usando 1x PBS para remoção de NM e tripsinizadas. Em seguida, as células foram coletadas por centrifugação a 2.000 g x 10 min a 4°C. Depois elas foram lavadas duas vezes com 1 ml de 1x PBS e centrifugadas nas mesmas condições. Os sobrenadantes foram descartados e as células foram lisadas pelo método de congelamento e descongelamento. Os peletes foram ressuspensos em 100 μl 1x PBS. Posteriormente, 20 μl da suspensão foram usados para prosseguir com o ensaio de acordo com as instruções do kit. A alteração colorimétrica foi detectada usando o espectrofotômetro Varioskan Flash Multimode Reader (Thermo Scientific, EUA) a 450 nm de absorbância.

2.4 Análises Estatísticas

Os dados de viabilidade celular e estresse oxidativo foram submetidos a análise de variância (ANOVA), a comparação das médias foi feita por teste Tukey, e valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A morte celular pode estar presente como consequência da nanotoxicidade. Sendo assim, nós realizamos análise de viabilidade celular por citometria de fluxo marcando as células com iodeto de propídeo. O iodeto de propídeo tem a capacidade de entrar nas células atravessando a membrana e marcar o DNA, por ser um intercalante. Por sua vez, as células que se encontram viáveis têm a capacidade de expelir este marcador (WAVER,

1998). Nas figuras 1 e 2, mostramos os resultados da citometria de fluxo e observamos que nenhum dos tratamentos (0,1, 1, 10, 50, 100 $\mu\text{g/mL}$) de MWCNT-COOH diminuíram a viabilidade celular ($p>0,05$) quando comparados ao grupo controle (0 $\mu\text{g/mL}$). Por outro lado, estudos anteriores demonstraram que a concentração de 100 $\mu\text{g/mL}$ levou fibroblastos de camundongo (VUKOVIC et al., 2009) e hepatócitos fetais humanos (LIU et al., 2013) a morte por apoptose celular.

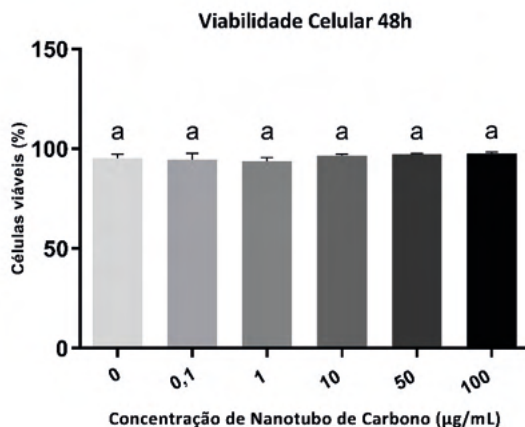


Figura 1. Análise estatística da viabilidade celular por citometria de fluxo com marcação por iodeto de propídio para células-tronco mesenquimais após 48 h de incubação com MWCNT-COOHs a 0, 0,1, 1, 10, 50, 100 $\mu\text{g/mL}$. Médias que não diferem entre si estão representadas pelas mesmas letras.

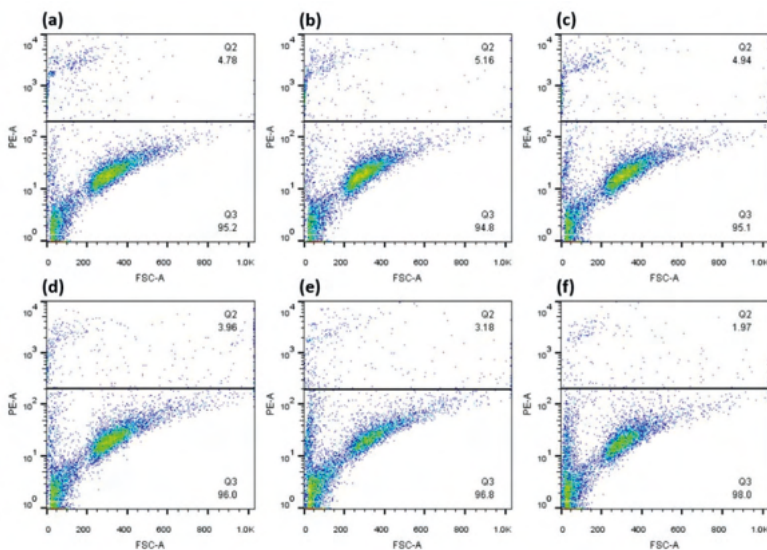


Figura 2. Gráficos PE-A x FSC-A de citometria de fluxo com marcação por iodeto de propídeo das células tronco mesenquimais expostas a a) 0 $\mu\text{g/mL}$, b) 0,1 $\mu\text{g/mL}$, c) 1 $\mu\text{g/mL}$, d) 10 $\mu\text{g/mL}$, e) 50 $\mu\text{g/mL}$, f) 100 $\mu\text{g/mL}$ de MWCNT-COOHs por 48 h.

Alterações indesejadas no metabolismo celular costumam ocorrer mesmo quando há a conservação da viabilidade das células. Então, apesar de não levar as CTMs à morte celular, investigamos se poderia estar ocorrendo síntese de espécies reativas de oxigênio nestas células. A produção destes radicais livres é um dos mecanismos de toxicidade dos NMs (WANG et al., 2014) e causa peroxidação lipídica da membrana celular devido a interação eletrostática dos NMs com as células (HOU t al., 2018). Na figura 3, mostramos a atividade da enzima SOD nas CTMs expostas ao MWCNT-COOH e observamos que não houve variação ($p>0,05$) na atividade da enzima nos diferentes tratamentos (0,1, 1, 10, 50, 100 $\mu\text{g/mL}$) de MWCNT-COOHs em comparação ao grupo controle (0 $\mu\text{g/mL}$). Esses dados sugerem que o MWCNT-COOH não altera o estado redox das CTMs cultivadas *in vitro* nas concentrações testadas. Demir & Marcos (2018) também reportaram ausência de alteração na porcentagem de EROs intracelular. Além disso, não observaram mudanças na expressão gênica de marcadores relacionados ao estresse oxidativo em células de linfoma de camundongo expostas a concentrações de até 250 $\mu\text{g/mL}$ de MWCNT-COOH por 24h. Por outro lado, Liu et al. (2012), relataram diminuição nos níveis da enzima SOD em fibroblastos de pulmão embrionário humano expostos a concentrações de MWCNT-COOH que variaram de 5 a 200 $\mu\text{g/mL}$, por 24h. Estas observações indicam que as respostas aos NMs, relacionadas à atividade da enzima SOD, variam com o tipo celular e as condições testadas.

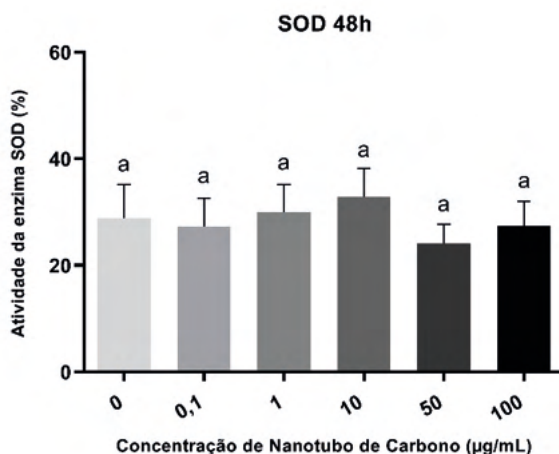


Figura 3. Análise da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) para células-tronco mesenquimais incubadas por 48h com 0, 0,1, 1, 10, 50, 100 $\mu\text{g/mL}$ de MWCNT-COOH. Médias que não diferem entre si estão representadas pelas mesmas letras.

Assim, concluímos que, de acordo com as condições dos atuais experimentos, o MWCNT-COOH não altera a viabilidade celular nem ocasiona estresse oxidativo

(considerando a via da SOD) nas células tronco mesenquimais da polpa dentária humana.

FINANCIAMENTO

FAPEMIG (TEC-RED-00282-16, APQ-02342-17), CNPq (433461 / 20187), Rede Agronano, Rede Mineira de Pesquisa e Inovação para Bioengenharia de Nanossistemas, CAPES, EMBRAPA Gado de Leite e PPGCBIO-UFJF.

REFERÊNCIAS

DEMIR, E.; MARCOS, R. Toxic and genotoxic effects of graphene and multi-walled carbon nanotubes. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, v. 81, n. 14, p. 645–660, 2018.

DI IANNI, J. et al. In vitro-in vivo correlations of pulmonary inflammogenicity and genotoxicity of MWCNT. **Particle and Fibre Toxicology**, v. 18, 2021.

FERREIRA, L. S. et al. Short-term evaluation of photobiomodulation therapy on the proliferation and undifferentiated status of dental pulp stem cells. **Lasers in Medical Science**, v. 34, n. 4, p. 659–666, 2019.

HOU, J. et al. Toxicity and mechanisms of action of titanium dioxide nanoparticles in living organisms. **Journal of Environmental Sciences**, 2018.

KYRIAKIDOU, K. et al. In vitro cytotoxicity assessment of pristine and carboxyl-functionalized MWCNTs. **Food and Chemical Toxicology**, v. 141, 2020.

LIU, S. et al. Cytotoxicity of carboxyl carbon nanotubes on human embryonic lung fibroblast cells and its mechanism. **Journal of Experimental Nanoscience**, v. 9, p. 210–220, 2012.

LIU, Y. et al. Understanding the Toxicity of Carbon Nanotubes. **Accounts of Chemical Research**, v. 46, n. 3, p. 702–713, 2013.

LONG, J. et al. The adverse vascular effects of multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs) to human vein endothelial cells (HUVECs) in vitro: role of length of MWCNTs. **Journal of Nanobiotechnology**, v.15, 2017.

MIERNICKI, M. et al. Legal and practical challenges in classifying nanomaterials according to regulatory definitions. **Nature Nanotechnology**, v.3, p. 2018-2016, 2019.

MOONEY, E. et al. Carbon Nanotubes and Mesenchymal Stem Cells: Biocompatibility, Proliferation and Differentiation, **Nano Letters**, v. 8, 2008.

QIAN, S. et al. Carbon nanotubes as electrophysiological building blocks for a bioactive cell scaffold through biological assembly to induce osteogenesis. **Royal Society of Chemistry Advances**, v. 9, p. 12001-12009, 2019.

REAMON-BUETTNER, S. et al. Cellular senescence as a response to multiwalled carbon nanotube (MWCNT) exposure in human mesothelial cells. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 193, 2021.

SANO, M. et al. Cellular Responses of Human Lymphatic Endothelial Cells to Carbon Nanomaterials. **Nanomaterials**, v. 10, 2020.

SUKHANOVA, A. et al. Dependence of Nanoparticle Toxicity on Their Physical and Chemical Properties. **Nanoscale Research Letters**, v. 13, 2018.

URSINI, C. et al. Study of Cytotoxic and Genotoxic Effects of Hydroxyl-Functionalized Multiwalled Carbon Nanotubes on Human Pulmonary Cells. **Journal of Nanomaterials**, v. 2012, 2012.

VUKOVIĆ, G. et al. Synthesis, characterization and cytotoxicity of surface amino-functionalized water-dispersible multi-walled carbon nanotubes. **Applied Surface Science**, v. 255, p. 8067–8075, 2009.

WANG, J. et al. Effects of chronic exposure to cigarette smoke on canonical transient receptor potential expression in rat pulmonary arterial smooth muscle. **American Journal Physiological Cellular Physiological**, v. 306, p. 364–73, 2014.

WEAVER, J. L. Estimation of Cell Viability by Flow Cytometry. **Flow Cytometry Protocols**, v. 97, p. 77–84, 1998.

ZANETTE, R. S. S. **Produção de matrizes biológicas a partir de valvas cardíacas de suínos e recelularização com células tronco da polpa dentária humana**. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Brasil, 2016.

ZHAO, X. et al. The toxicity of multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs) to human endothelial cells: The influence of diameters of MWCNTs. **Food and Chemical Toxicology**, v. 126, 2019.

ÍNDICE REMISSIVO

A

Agroextractivismo 123
Amazônia Paraense 106, 107, 112
Aprendizagem 151, 153, 160, 162
Araceae 123, 124, 129
Áreas de preservação ambiental 33
Atlantic Forest 75

B

Baía de Sepetiba 6, 141, 144
Botânica 1, 2, 5, 18, 83, 87, 88, 91, 92, 94, 152, 156

C

Cadeia Produtiva Local 106, 107
Citotoxicidade 44, 63

D

Diclofenaco de sódio 6, 130, 131, 132, 134, 136, 137, 138

E

Encapsulação 6, 130, 132, 134, 136, 137, 138
Enlatamento 141, 144, 147
Ensaio do cometa 63
Espécies reativas de oxigênio 46, 48, 63

F

Fibroblastos 47, 48, 96
Forest Inventory 75

H

História das Ciências 1

I

Império do Brasil 4, 1, 2, 18, 19

J

Joaquim Monteiro Caminhoá 4, 1, 3, 18, 19
Julocrotina 63

L

Leishmaniose 63

Lianas 74, 78, 79, 86, 87, 89, 90, 123, 124, 125, 126, 127, 128

M

Microscopia eletrônica de varredura 96

Molusco 141, 142, 144, 149, 157

N

Nanolubrificantes 20, 21, 28, 29, 30

Nanopartículas de celulose 4, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 30

Nanossegurança 44

Nanotoxicidade 44, 45, 46

P

Pinus 33, 34, 35, 40, 41, 42

Plantas invasoras 33, 41

Plantas Medicinais 106, 107, 108, 112, 113, 114, 115, 118, 119, 120

Polipropilenoglicol 130, 131

Polissacarídeo de goma do cajueiro 130

S

Segurança Alimentar 141

Semi deciduous seasonal forest 75

Sensoriamento Remoto 33, 34, 41, 42

Surface charge of particles 51, 59


T

Taxa de desgaste 20, 23, 24, 27, 28, 29, 30


Técnicas de secagem e pós-fixação 96



www.atenaeditora.com.br 

contato@atenaeditora.com.br 

@atenaeditora 

www.facebook.com/atenaeditora.com.br 

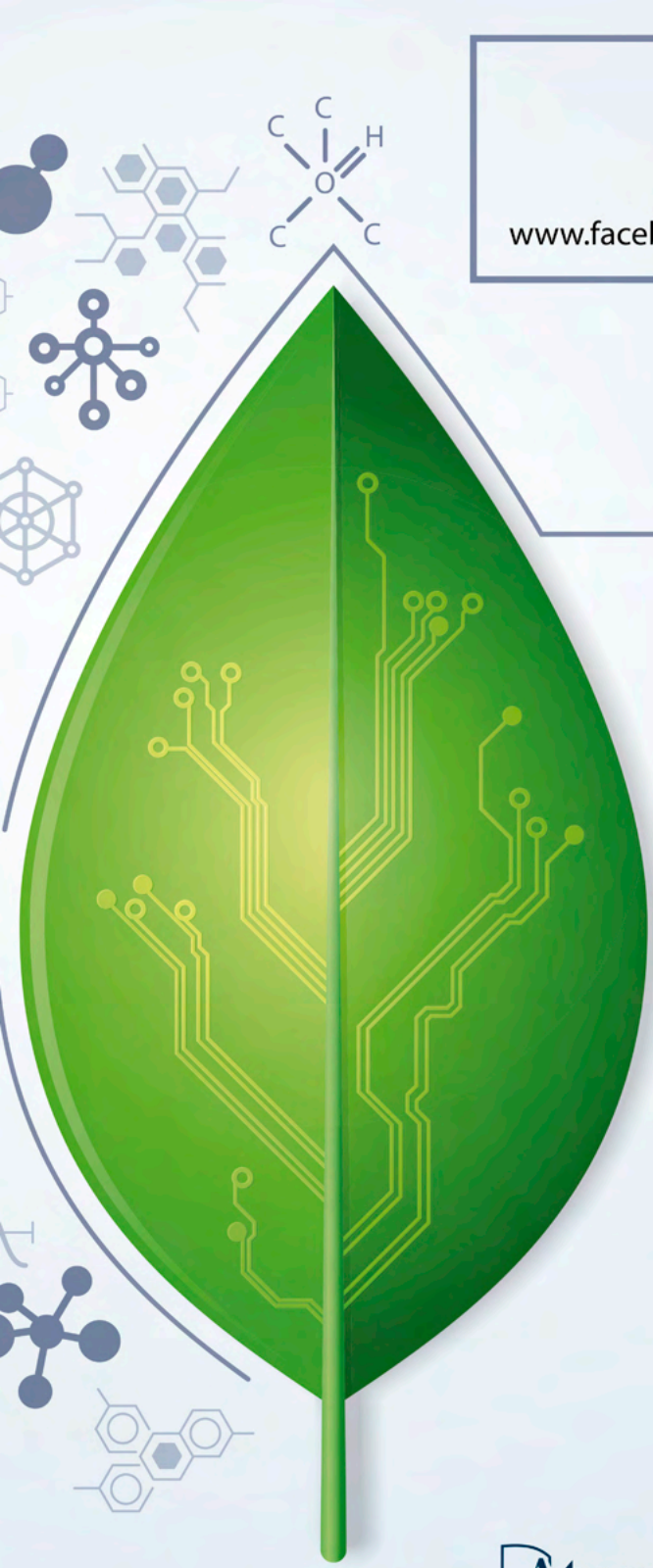
AGENDA GLOBAL

DE PESQUISA

EM CIÊNCIAS

BIOLÓGICAS

 **Atena**
Editora
Ano 2021



www.atenaeditora.com.br 
contato@atenaeditora.com.br 
[@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora) 
www.facebook.com/atenaeditora.com.br 

AGENDA GLOBAL

DE PESQUISA

EM CIÊNCIAS

BIOLÓGICAS