

AVALIAÇÃO DO CULTIVO DE CÉLULAS-TRONCO EM BIOMATERIAS NANOESTRUTURADOS PRODUZIDOS COM UM NOVO POLÍMERO BIOCAMPATÍVEL

Daniela Pavulack Pereira^{1,2}, Patricia Pranke^{1,3,4}.

¹ Laboratório de Hematologia e Células-tronco, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

² Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA).

³ Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia, UFRGS.

⁴ Instituto de Pesquisa com Células-tronco.

INTRODUÇÃO



A eletrospiação (*electrospinning*) é uma técnica utilizada para produzir fibras na escala nano e/ou micrométrica, as quais podem ser aplicadas como arcabouço celular (*scaffolds*) na medicina regenerativa. Esses arcabouços podem ser produzidos a partir de polímeros sintéticos ou naturais.

Neste sentido, a síntese de novos polímeros que objetivam proporcionar melhores propriedades biológicas e físico-químicas é um alvo constante. Assim, nesse trabalho, um novo polímero foi sintetizado e a análise das propriedades de citocompatibilidade foram avaliadas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Poli(succinato de octileno) (POS) com peso molecular de 67.000 g/mol, um polímero biodegradável foi sintetizado no Departamento de Química Orgânica da UFRGS e sua validação biológica está sendo realizada no Laboratório de Hematologia e Células-tronco da Faculdade de Farmácia da mesma instituição.

A fabricação dos *scaffolds* foi otimizada a partir dos seguintes parâmetros: diferença de voltagem de 20 kV e vazão de fluxo de 1,74 mL/h.

A morfologia e o diâmetro das fibras foram avaliados por microscopia eletrônica de varredura (MEV).

A biocompatibilidade, utilizando células-tronco mesenquimais (CTM), obtidas de dentes decíduos, foi avaliada por meio dos seguintes ensaios:

- 1) ensaio de adesão, após 1 dia de semeadura;
- 2) ensaio de viabilidade, nos dias 1, 4 e 7 de cultivo;
- 3) ensaio de citotoxicidade, pelo kit de fluorescência Live/Dead Cell nos dias 1 e 7 de cultivo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de MEV mostraram que a melhor morfologia, com fibras bem formadas e sem *beads* foi obtida utilizando-se 15% de POS em uma mistura de solventes, 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol:clorofórmio na proporção de (7:3) (p/V). O diâmetro das fibras foi de 687 ± 259 nm (Figura 1). Nos resultados preliminares, a adesão de CTM foi semelhante nos *scaffolds* de POS, onde observou-se uma média de $12,23 \pm 2,51$ células/região de interesse (ROI - region of interest) e o controle, onde as células são semeadas diretamente nas placas de cultivo celular, cujo número de células foi de $11,4 \pm 1,8$ células/ROI (Figura 2). Em relação à viabilidade celular, a atividade metabólica foi maior no grupo controle, em todos os dias de análise. As absorvâncias para os grupos POS, nos dias 1, 4 e 7 de cultivo, foram $0,149 \pm 0,059$, $0,502 \pm 0,290$ e $0,623 \pm 0,170$, respectivamente. Para os grupos controle, as absorvâncias foram $0,502 \pm 0,126$, $2,775 \pm 0,269$ e $1,859 \pm 0,026$, para os dias 1, 4 e 7, respectivamente (Figura 3). O kit de fluorescência Live/Dead Cell mostrou um maior número de células vivas no grupo controle (Figura 4).

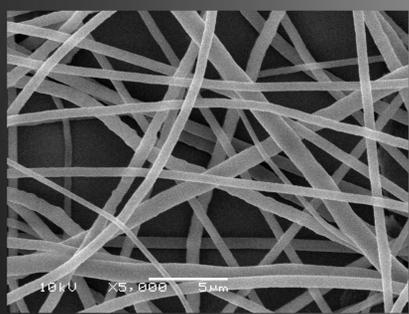


Figura 1. Morfologia das fibras de POS.

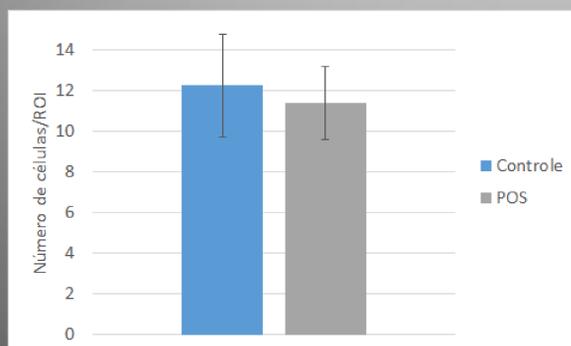


Figura 2. Contagem de células aderidas por região de interesse, no grupo controle (poços de cultivo) e *scaffolds* de POS.

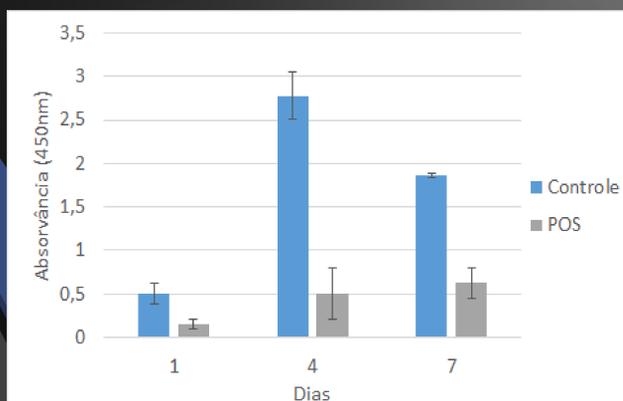


Figura 3. Viabilidade celular em 1, 4 e 7 dias após semeadura das células.

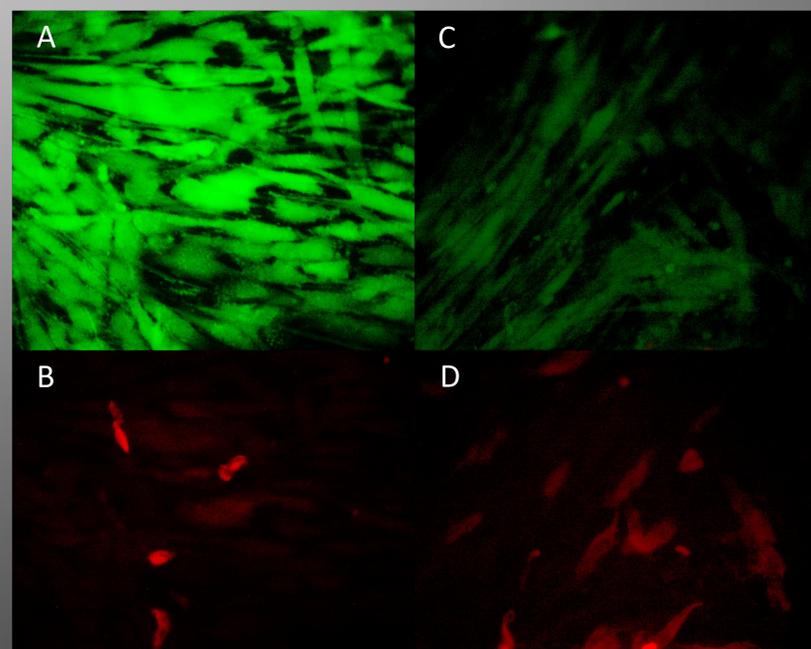


Figura 4. Ensaio com o kit Live/Dead Cell. As células vivas foram marcadas em verde pela calceína. Células mortas foram marcadas em vermelho pelo homodímero de etídio. A e B – grupo controle. C e D – *scaffolds* de POS.

CONCLUSÃO

Outros experimentos e análises biológicas ainda estão em andamento, no entanto, pode-se afirmar que o cultivo de células-tronco foi possível nesse novo biomaterial desenvolvido na UFRGS.