



ADESÃO CELULAR SOBRE FILMES DE QUITOSANA E POLI (ÁLCOOL VINÍLICO) OBSERVADA POR MICROSCOPIA DE CONTRASTE DE FASE

F N Ambrosio^{1*}, C S Souza¹, G N Nunes¹, J C Moreira¹, A P Romani¹, C B Lombello¹

¹Universidade Federal do ABC, São Bernardo do Campo, Brasil

*felipe.nogueira@ufabc.edu.br

Contextualização, Motivação e Objetivo. Uma preocupação comum envolvendo o uso de equipamentos biomédicos, como arcabouços para engenharia de tecidos, é a possibilidade de contaminações por micro-organismos (DE CUETO-LOPEZ et al., 2016). A quitosana (QTS) é um polímero que apresenta propriedades antimicrobianas e, portanto, pode ser utilizada no desenvolvimento de biomateriais que sejam naturalmente resistentes à contaminações (BANO et al., 2017). Porém, muitos aspectos da QTS ainda são pouco compreendidos (VERLEE; MINCKE; STEVENS, 2017). O poli (álcool vinílico) (PVOH) é um polímero utilizado na medicina devido à suas propriedades de adesão e biocompatibilidade, apresentando boas propriedades mecânicas e químicas para o uso em engenharia de tecidos (PANDELE et al., 2014; PARK; JUN; MARSH, 2001; ZAMBANINI, 2016). Blendas poliméricas de QTS e PVOH podem ser utilizadas em engenharia de tecidos como uma forma de unir as propriedades biológicas da QTS com as propriedades mecânicas do PVOH. O objetivo deste trabalho foi o de avaliar a interação entre filmes de QTS e blendas de QTS/PVOH com culturas de células *in vitro* quanto à adesão celular e como a reticulação dos filmes poliméricos alteraria tal interação.

Metodologia. Foram utilizadas amostras de filmes poliméricos de QTS pura, de blenda de QTS/PVOH (proporção em massa de 3:1) não reticulada, de blendas reticuladas com glutaraldeído a 1 % e 5 % em relação à massa e blendas reticuladas com glixal a 1 % e 5 % em relação à massa. As amostras foram esterilizadas por meio de irradiação de luz ultravioleta (UV) e sobre cada uma foi inoculada uma suspensão contendo cerca de 10^4 células da linhagem Vero, mantidas com meio de cultura HAM-F10 suplementado com 10% de soro fetal bovino e 1% de penicilina/estreptomicina a 37° C em estufa umidificada e com 5% de CO₂. Utilizando um microscópio invertido de luz com contraste de fase (Axio, Zeiss) foram obtidas micrografias das células sobre as amostras e com o auxílio do software ImageJ foi possível quantificar a área média ocupada pelas células (AO), o que, por sua vez foi usado como uma medida da adesão celular sobre os biomateriais. Foram obtidas micrografias imediatamente após o inóculo e após 110 minutos. Como controle de adesão foi utilizada uma placa de petri de plástico (Global Plast).

Resultados. As AO foram obtidas a partir das micrografias, como exemplificado na Figura 1 e quantificadas de acordo com o gráfico na Figura 2. Foi considerado que as células aderiram sobre os biomateriais nos casos onde, como no Controle, ocorreu um aumento significativo da AO após 110 minutos do inóculo. Devido à opacidade das blendas reticuladas com 5% de glutaraldeído e 1% de glixal não foi possível observá-las no microscópio de luz. Sendo assim, foi observado que ocorreu adesão celular nas amostras de QTS pura e na blenda QTS/PVOH reticulada com 1% de glutaraldeído, mas não na blenda não reticulada, ou na reticulada com 5% de glixal.

Discussão e Conclusões. A adição do PVOH na blenda não reticulada reduziu a capacidade de adesão celular sobre o biomaterial, um possível motivo é a maior solubilidade do PVOH em pH fisiológico (~7,4) do que a QTS (DUMITRIU, 2001; MOURA et al., 2011; PUKHOVA et al., 2017), tornando a superfície da amostra menos estável e dificultando a adesão celular. Já o fato da blenda reticulada

com glutaraldeído ter permitido a adesão, enquanto que com glioxal não permitiu pode ser devido à reticulação tornar a superfície do polímero mais estável, permitindo a adesão, porém o glioxal promove uma maior compactação das cadeias poliméricas ao formar mais ligações cruzadas do que o glutaraldeído, reduzindo os sítios de interação entre a superfície da amostra e as proteínas de adesão presentes no meio de cultura, diminuindo a adsorção dessas proteínas necessárias para dar início à adesão celular (GARNICA-PALAFIX; SÁNCHEZ-ARÉVALO, 2016; GUPTA; JABRAIL, 2006). Conclui-se, portanto, que a reticulação com 1% em massa de glutaraldeído em blendas de QTS/PVOH favorece a adesão celular e que esse é um biomaterial com potencial para uso em engenharia de tecidos.

Figuras.

Figura 1: Micrografia em diferentes momentos com células Vero sobre filme de QTS e controle. A delimitação em branco representa as áreas utilizadas para a determinação da AO.

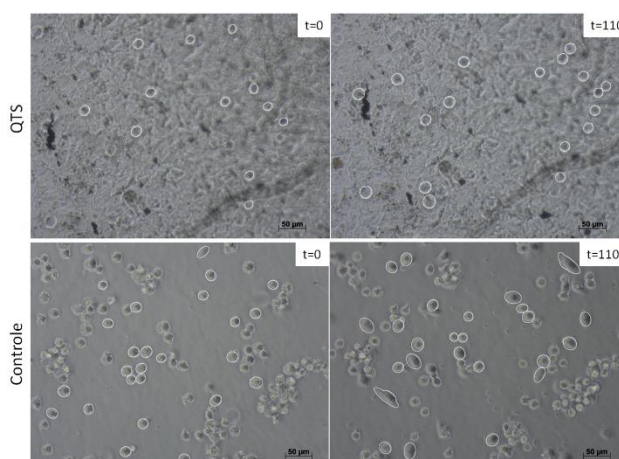
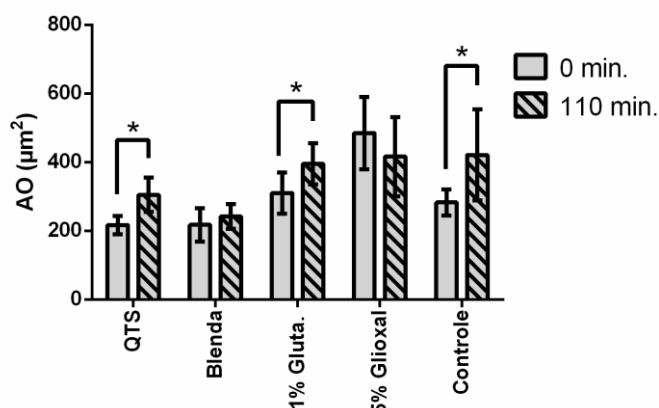


Figura 2: Comparação das AO das células Vero sobre os biomateriais no momento do inóculo (0 min.) e após 110 minutos. * representa as variações estatisticamente significativas com $P < 0,05$.



Agradecimentos. Os autores deste trabalho agradecem à Universidade Federal do ABC pela disponibilidade da infraestrutura para sua realização e também às Centrais Experimentais Multiusuários (UFABC) pelo suporte experimental.

Palavras-Chave. Adesão celular; engenharia de tecidos; poli (álcool vinílico); quitosana; reticulação.