



## Colágeno como biomaterial para engenharia tecidual de miocárdio

C Parente\*, S M Malmonge

Universidade Federal do ABC, São Bernardo do Campo, Brasil

\**carolina.parente@ufabc.edu.br*

**Background, Motivation and Objective.** Segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), as maiores causas de morte no mundo são as cardiomiopatias, com destaque para o infarto do miocárdio (DOI: 10.1016/j.addr.2015.06.012). O tratamento atual para infarto do miocárdio é baseado em terapia farmacológica paliativa, que no entanto, não tem a capacidade de reverter a progressão da doença (DOI: 10.12968/hmed.2005.66.8.18513). O emprego de células tronco tem trazido novas perspectivas à medicina regenerativa de miocárdio e, estudos que analisam o efeito de células tronco injetadas diretamente no miocárdio têm mostrado resultados positivos, porém já foi verificado que a maior parte dessas células morre devido à falta de um ambiente favorável e de estímulos mecânicos e elétricos para seu crescimento (DOI: 10.1038/nature07040.). O objetivo desse trabalho é o desenvolvimento de biomateriais à base de colágeno, que possam atuar como uma matriz extracelular (MEC) artificial, isto é, um arcabouço que, associado à células possa promover a regeneração do miocárdio. A primeira etapa do projeto consiste na seleção da matéria prima e método de fabricação adequados para obtenção de hidrogel que atenda aos requisitos para uso em engenharia tecidual de miocárdio.

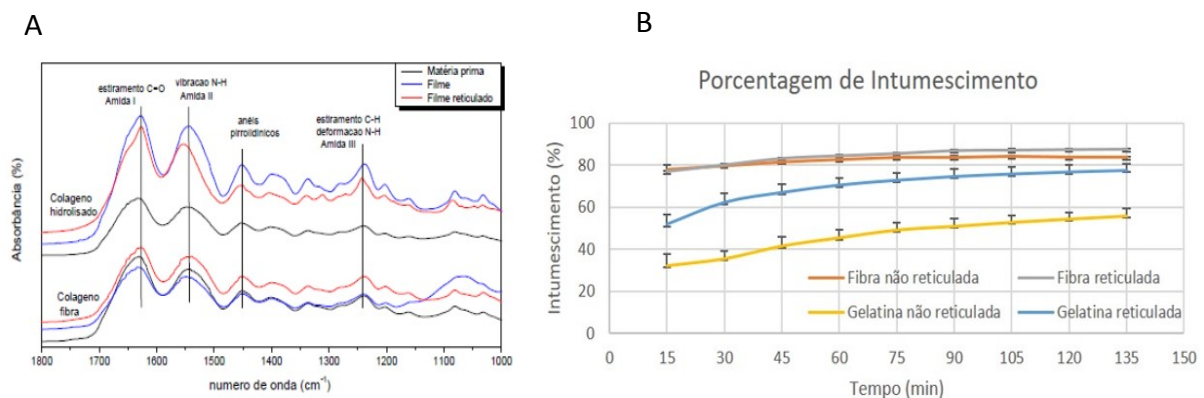
**Methods.** Foram avaliadas três matérias primas à base de colágeno: colágeno tipo I em pó e colágeno tipo I em fibras (NOVAPROM) e colágeno parcialmente hidrolisado (gelatina tipo B - GELITA). Foram testados dois procedimentos diferentes para a obtenção de hidrogel de colágeno. No procedimento 1, partiu-se de solução de colágeno (16% p/v) empregando como solvente solução 1:1 de etanol e tampão fosfato pH 7,4 em temperatura ambiente (DOI: 10.1016/j.biomaterials.2015.11.035). Como agente reticulante, foram adicionados ácido cítrico (5% p/v) e hipofosfito de sódio (SHP) (2,5% p/v) e glicerol foi empregado como agente plastificante (conc. de 3, 6 e 9% p/v). O procedimento foi empregado para as três matérias primas em estudo. O procedimento 2 também empregou solução tampão fosfato de pH 7,4, porém aquecido a 120°C. A concentração do soluto foi mantida em 16% p/v para o colágeno em pó e colágeno parcialmente hidrolisado, mas foi reduzida para 4% no caso do colágeno em fibras. Nos dois procedimentos as soluções colagênicas foram agitadas por 15 minutos e dispostas em placas de petri de vidro de diâmetro 10 cm (25ml) até a completa evaporação do solvente em temperatura ambiente por 48 horas. Para a reticulação dos filmes obtidos pelo procedimento 2, estes foram imersos por 24h em solução de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDC) e n-hidroxisuccinimida (NHS) em etanol (0,2M) (DOI: 10.1002/jbm.a.34422). O excesso da solução reticulante foi removido por lavagem em água destilada. As amostras obtidas foram caracterizadas quanto à solubilidade em meio aquoso, curva de intumescimento em água destilada para determinar a capacidade de absorção de água e espectroscopia de infra-vermelho com transformada de Fourier (FTIR).

**Results.** O procedimento 1 resultou na formação de membranas quebradiças e solúveis em água, que não atendem aos requisitos da aplicação em questão. Já o procedimento 2 resultou na formação de membranas com propriedades variadas. O emprego do colágeno em pó resultou na formação de membranas quebradiças, mesmo após a reticulação. Já, as membranas formados a partir do colágeno em fibras apresentaram considerável maleabilidade e, insolúveis em água

depois de reticuladas. As membranas obtidas a partir do colágeno parcialmente hidrolisado apresentaram maleabilidade e resistência ao manuseio consideráveis, tornando-se insolúveis em água após reticulação. A figura 1 mostra os espectros de FTIR (1-A) e as curvas de intumescimento em água (1-B) das amostras obtidas. Para todas as amostras é possível observar as principais bandas características do colágeno, em  $1.658\text{ cm}^{-1}$ , típica da amida I, devido ao estiramento da carbonila; em  $1.552\text{ cm}^{-1}$ , relacionado à amida II, devido às vibrações no plano da ligação N-H e ao estiramento C-N; em  $1.235\text{ cm}^{-1}$ , correspondem as vibrações no plano da amida III, devido ao estiramento C-N e a deformação N-H; em  $1.450\text{ cm}^{-1}$ , correspondente a estereoquímica dos anéis pirrolidínicos (DOI:10.1016/S0142-9612(03)00595-7). As membranas obtidas apresentaram valores de intumescimento próximos a 80% e, no caso da membrana obtida a partir do colágeno hidrolisado a capacidade de intumescimento sofreu redução após a reticulação.

**Discussion and Conclusions.** Com base nos resultados obtidos até o momento, foi descartado o emprego do procedimento 1, que emprega etanol e tampão fosfato como solvente, além de ácido cítrico e SHP como reticulante e glicerol como plastificante, visto que resultou em membranas quebradiças e solúveis em água. Embora a literatura relate resultados interessantes para o emprego de tais solventes e aditivos, a concentração dos componentes em questão necessita ajustes de acordo com as características do biopolímero empregado. No procedimento 2, que emprega solvente a quente e reticulação das cadeias do biopolímero após a formação do filme, no lugar de adicionar o reticulante à solução, possibilitou a obtenção de membranas de colágeno maleáveis e insolúveis em meio aquoso, características fundamentais para a aplicação em estudo. A reticulação foi comprovada através da análise de intumescimento e espectroscopia FTIR. As próximas etapas do trabalho envolvem a caracterização da morfologia, microestrutura, comportamento mecânico e biológico, para subsidiar a adequação do método de fabricação e composição de partida.

**Figure 1: A.** Espectro FTIR para as matérias primas e membranas de colágeno em estudo. **B.** Curvas de intumescimento em água para as membranas de colágeno obtidas a partir de colágeno em fibras e colágeno parcialmente hidrolisado.



**Keywords.** Hidrogel, regeneração cardíaca, biomaterial, colágeno.