



Estudo da influência de glutaraldeído como agente reticulante em filmes de poli(álcool vinílico) obtidos por *casting* para aplicações biomédicas

Souza, E.R.^{1*}, Romani, A.P.²

¹Universidade Federal do ABC, Santo André, Brasil

²Universidade Federal do ABC, Santo André, Brasil

*edcarlos.souza@ufabc.edu.br

Histórico, Motivação e Objetivos. A medicina conta com uma grande variedade de próteses de uso externo e interno para reparação e substituição das funções dos órgãos. Contudo, leva-se em consideração o risco da rejeição e a falta de integração fisiológica ao corpo do paciente. Esta problemática em questão justifica a importância das pesquisas no campo da engenharia tecidual. A engenharia tecidual é uma excelente alternativa que deve ser considerada para o reparo e substituição de tecidos lesionados e órgãos. Isto se deve ao risco de rejeição tecidual que tende a zero em decorrência das células utilizadas serem do próprio paciente. Um ponto de grande destaque na engenharia tecidual é o uso de biomateriais poliméricos e sua interação com células *in vitro*. Uma classe de polímeros biocompatíveis que tem ganhado bastante destaque em aplicações biomédicas é a de polímeros hidrossolúveis. O poli(álcool vinílico) é um dos principais polímeros desse grupo, visto que esse material apresenta um alto caráter hidrofílico, alta permeabilidade a água e alta resistência a tração. O escopo desse projeto tem por base avaliar a estabilidade de matrizes de suporte extracelular a base de poli(álcool vinílico) (PVOH) reticulado quimicamente com glutaraldeído com o meio aquoso, uma vez que o PVOH apresenta potencial aplicação na área de regeneração tecidual por se tratar de um polímero biocompatível, biodegradável e atóxico.

Métodos. Foram preparadas amostras controle das membranas de PVOH a 10% (m/V) em água diretamente por *casting*. Dessa forma, 1,0 g do polímero foi dissolvido em 10 mL de água destilada. Para a dissolução do polímero, a água foi previamente aquecida até atingir uma faixa de temperatura de 80 – 90°C, e o material foi adicionado lentamente, sob agitação magnética vigorosa. O sistema permaneceu sob agitação por aproximadamente 35 minutos. Alíquotas da solução foram colocadas em moldes de silicone, permanecendo em repouso a temperatura ambiente até que ocorresse a evaporação total do solvente. As amostras foram obtidas utilizando-se concentrações diferentes de glutaraldeído (1%, 3% e 5% m/m), partindo-se de uma solução PA de 50% glutaraldeído. Para tal, os filmes foram igualmente preparados seguindo o protocolo descrito no preparo direto das amostras controle. Uma vez atingida uma faixa de temperatura em torno de 80 – 90°C, os polímeros foram adicionados gradativamente à solução de glutaraldeído sob agitação. Os conteúdos foram dispostos em moldes de silicone até a evaporação total do solvente. As membranas obtidas foram submetidas a aquecimento a 60°C por duas horas seguido de resfriamento a temperatura ambiente por 2,5 horas, sendo que este processo foi repetido três vezes. Para manter a quantidade de glutaraldeído que é perdido durante o aquecimento, as membranas foram submetidas a uma atmosfera contendo vapor de glutaraldeído durante a fase de resfriamento. No último ciclo de aquecimento, as membranas permaneceram em capela de exaustão a fim de evaporar o excesso de glutaraldeído. Alíquotas dos filmes produzidos com 5% glutaraldeído foram submetidas à solução de 8% L-glutamina por 48 horas a fim de melhorar a biocompatibilidade dos materiais por neutralização dos efeitos tóxicos do glutaraldeído. Testes de

citotoxicidade mostraram um comparativo das amostras tratadas e não tratadas por L-glutamina. Foram utilizados o microscópio eletrônico de varredura (MEV) e o difratômetro de raio X (DRX) para a caracterização morfológica e estrutural dos materiais. Para determinar o grau de cristalinidade, foi feita a deconvolução dos picos de difração das regiões cristalinas e amorfas e a determinação de suas áreas por aproximação Gaussiana – *Software FitYK*. A relação da soma das áreas dos picos cristalinos com a soma das áreas dos picos cristalinos e amorfos fornece o grau de cristalinidade do material. Com a finalidade de analisar a solubilidade em água das membranas obtidas, foram realizados ensaios de imersão das membranas obtidas em água destilada.

Resultados. Foram obtidas micrografias por microscopia eletrônica de varredura do polímero submetido ao processo de reticulação química com glutaraldeído nas respectivas concentrações: 1% para magnificações de 1.000x e 5.000x, 3% para magnificações de 1.000x e 5.000x, e 5% para magnificações de 1.000x e 5.000x. Pode-se dizer que a interferência do agente reticulante e o processamento do biomaterial refletem, em grande parte, na morfologia da superfície do polímero. Por consequência, essa alteração nas características morfológicas do biomaterial pode impactar na ancoragem, espalhamento e crescimento celular sobre a superfície do material. Foram obtidos difratogramas dos filmes de PVOH puro, além dos filmes reticulados quimicamente com glutaraldeído à 1%, 3% e 5%. Pela análise dos difratogramas, pode-se observar o pico de difração largo em torno de $2\theta = 19,4^\circ$ para todos os casos, além do pico largo em torno de $2\theta = 40,5^\circ$ para as amostras reticuladas quimicamente. Com base nos resultados experimentais, o grau de cristalinidade calculado para os polímeros reticulados quimicamente a 1%, 3% e 5% foram de 48,2%, 48,4% e 33,2%, respectivamente. Após os testes de solubilidade em água, apenas os filmes preparados com glutaraldeído a 5% apresentaram baixa perda por dissolução.

Discussões e Conclusões. Ao avaliar as micrografias, é possível observar algumas irregularidades na superfície do polímero. Considerando-se que o glutaraldeído possui um comportamento químico complexo em solução aquosa, é possível prever que essas alterações presentes na superfície das membranas estão relacionadas com as alterações químicas da matriz polimérica e com a formação de poli(glutaraldeído) insaturado em pequenas regiões na superfície do biomaterial. Dessa forma, tem-se o desprendimento de moléculas de glutaraldeído da estrutura principal, deixando assim, aglomerados na estrutura do filme polimérico. Isso se torna um problema quando o material é direcionado num sistema com células viáveis, uma vez que o glutaraldeído é um agente citotóxico. Quando o polímero previamente reticulado com glutaraldeído a 5% foi tratado com L-glutamina, a viabilidade celular mostrou-se substancialmente maior, destacando assim, a eficiência do método em minimizar a toxicidade do glutaraldeído. Quimicamente, a ação do agente reticulante sobre o PVOH está na sua capacidade em reagir com o carbono ligado às hidroxilas para formar ligações cruzadas. A considerar a complexidade do glutaraldeído em solução e o fato da reação na cadeia polimérica não ser seletiva, assume-se que o aumento da reticulação na cadeia está diretamente relacionado com o aumento da concentração de agente reticulante no meio reacional. Se as cadeias estão reticuladas, a eficiência de empacotamento das cadeias poliméricas é diminuída, logo a cristalinidade é menor. Os experimentos mostraram que a estabilidade das membranas de PVOH em meio aquoso pode ser alcançada a partir de tratamentos químicos, e dessa forma essas membranas seriam viáveis para atuarem na área de regeneração tecidual.

Palavras chave. Poli(álcool vinílico), casting, reticulação, glutaraldeído, MEV, DRX.