



AVALIAÇÃO DO HIDROGEL DE POLI (CAPROLACTONA) ASSOCIADO A NANOPARTÍCULAS DE GRAFENO PARA REPARAÇÃO DE DEFEITOS ÓSSEOS



Mendes, SCR^{1,3}, Batista, NA¹, Rodrigues, AA¹, Duarte, ASS⁴,
Baranauskas, V², Ceragioli, HH², Peterlevtz, AC², Belangero, WD¹ Labimo@fcm.unicamp.br

¹Faculdade de Ciências Médicas (FCM), Laboratório de Biomateriais em Ortopedia (LABIMO), Unicamp

²Faculdade de Engenharia Elétrica e de Computação FEEC, Departamento de Semicondutores Instrumentos e Fotônica (DSIF), UNICAMP

³Faculdade Integrada Metropolitana de Campinas (METROCAMP)

⁴Centro de Hematologia e Hemoterapia (HEMOCENTRO), Unicamp

Faculdade de Ciências Médicas - Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP - Campinas, SP, Brasil

Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica

Palavras-chave: defeitos ósseos, células-tronco mesenquimais tecido adiposo humano, policaprolactona, grafeno.

INTRODUÇÃO

As lesões que acometem a cartilagem articular (CA) podem ser derivadas de destruição mecânica, traumática ou de degeneração mecânica progressiva devido ao uso e desgaste da articulação. Inúmeras são as pesquisas com células-tronco mesenquimais (MSCs). Estas, por sua vez, associadas aos biomateriais podem ser utilizadas de modo a substituir total ou parcialmente qualquer tecido, órgão ou função como também se diferenciar em células ósseas, cartilaginosas, musculares, entre outras. Já o biomaterial a ser utilizado deverá possuir comportamento biológico satisfatório além de características ideais de biocompatibilidade, biofuncionalidade, bioabsorção, biodegradabilidade, porosidade e permeabilidade na presença das MSCs e do tecido e ou órgão receptor. Dentre os vários biomateriais estudados para reparo da CA, os polímeros biodegradáveis tem merecido destaque por apresentar as características acima além da ausência da cirurgia de reparadora para sua retirada. Utilizou-se no presente estudo, nanocompósitos formado pelo polímero de policaprolactona (PCL) que possui rápida degradação associado nanopartículas de grafeno (G) que possui características como: alta resistência mecânica, alta flexibilidade, bons condutores de corrente elétrica e térmica, entre outras características.

METODOLOGIA

Preparou-se uma solução de Poli (Caprolactona) (PCL) e nanopartículas de Grafeno obtido pelo método de deposição química a partir de uma fase vapor assistida por filamento quente (HFCVD). A partir de então, foram produzidos nanocompósitos de PCL+G nas concentrações de 0,5 mg e 1,0 mg (Fig.1). O Grafeno foi analisado por espectroscopia Raman para caracterizar a composição química e suas estruturas a partir da incidência de luz sobre o mesmo. E o nanocompósito obtido (PCL+G) foi analisado por meio de ensaio de viabilidade celular utilizando-se células Mesenquimais de Tecido Adiposo (MSC/TA) pelo método do MTT (Mossmam). Utilizou-se solução de meio Ham F-12 com 10% de fenol como controle positivo de toxicidade (CPT) e o extrato de poliestireno como controle negativo toxicidade (CNT). Após 24h de cultivo, foi feita leitura de absorbância em comprimento de onda de 595nm (Fig. 4) e microscopia eletrônica de varredura (MEV) para avaliar a morfologia e adesão celular após cultura.

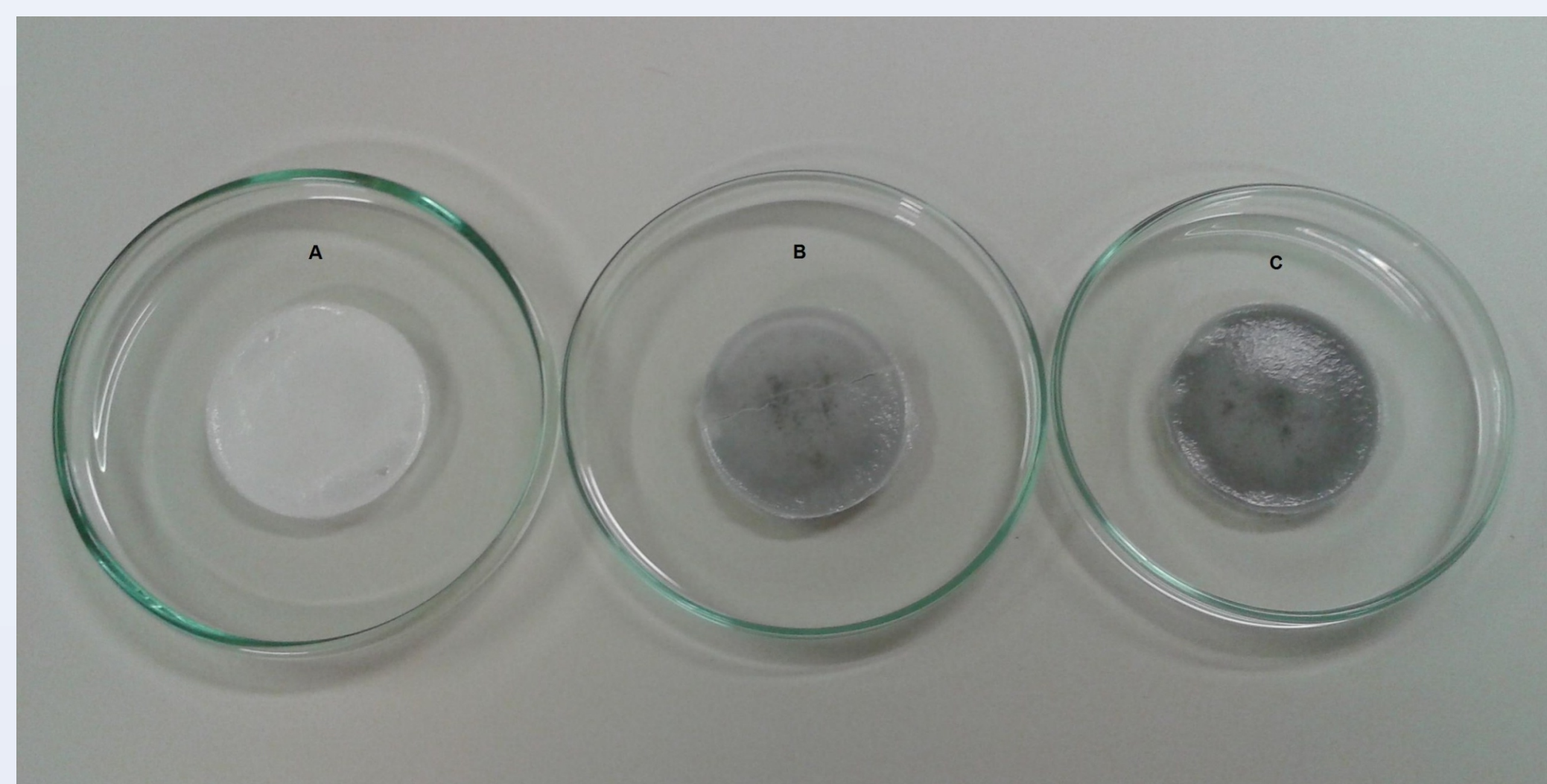


Figura 1 - Membrana de PCL pura (a). Nanocompósito de PCL+Grafeno 0,5mg (b) e Nanocompósito PCL+Grafeno 1,0mg (c).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Espectroscopia Raman

A quantidade de camadas do material é determinada pelo pico 2D, que quanto menos intenso e agudo, indica que o material é composto por mais de uma camada.

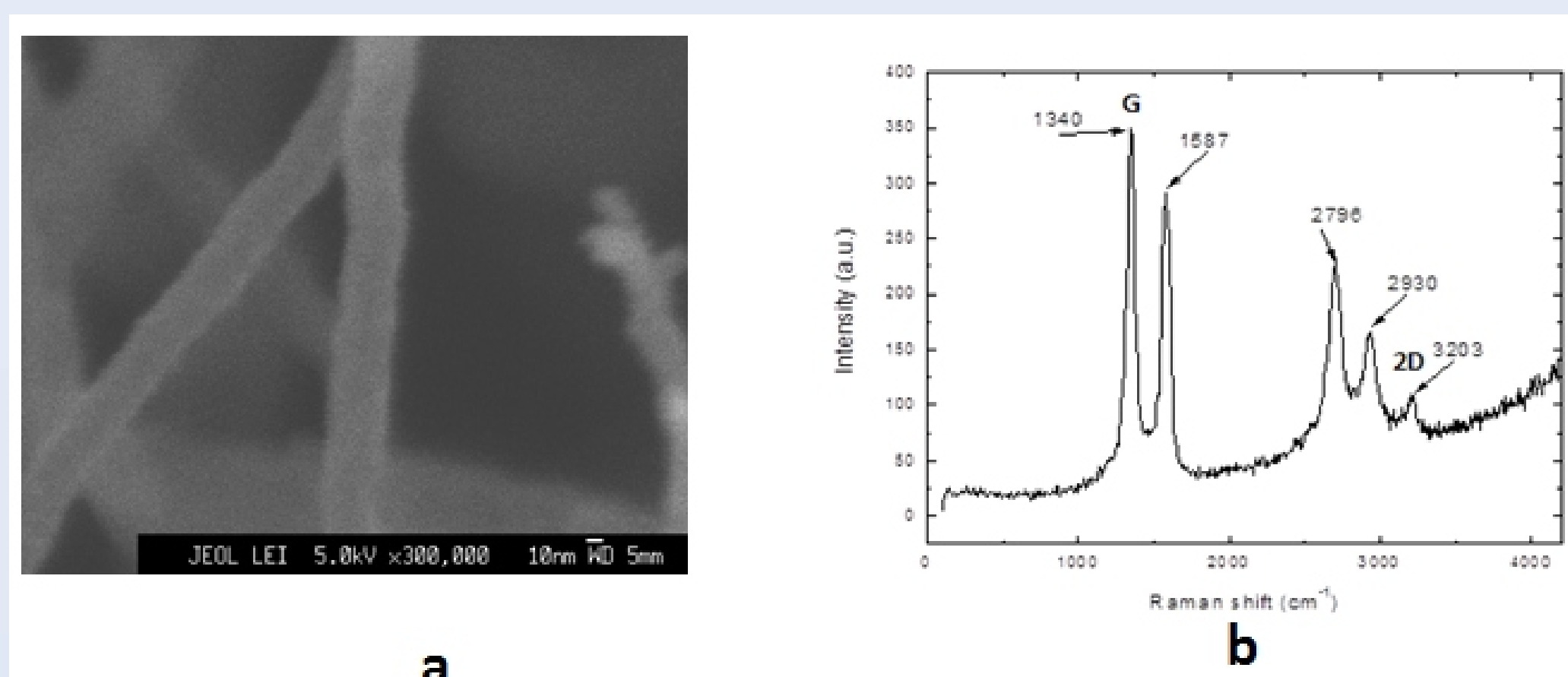


Figura 2 - Análise por Espectroscopia Raman. Nanopartículas de Grafeno (a), Grafeno caracterizado pelo pico que 2D no espectro (b).

Ensaio de Viabilidade Celular Método MTT

Os resultados do ensaio pelo método do MTT para o nanocompósito de PCL+G, indicaram que na concentração de 1mg, houve baixa absorbância. Dentre as causas pode-se considerar o estresse oxidativo devido a alta concentração das nanopartículas, o tempo de exposição das MSC/TA ou até mesmo a interação física entre estas e a membrana celular (Fig.3).

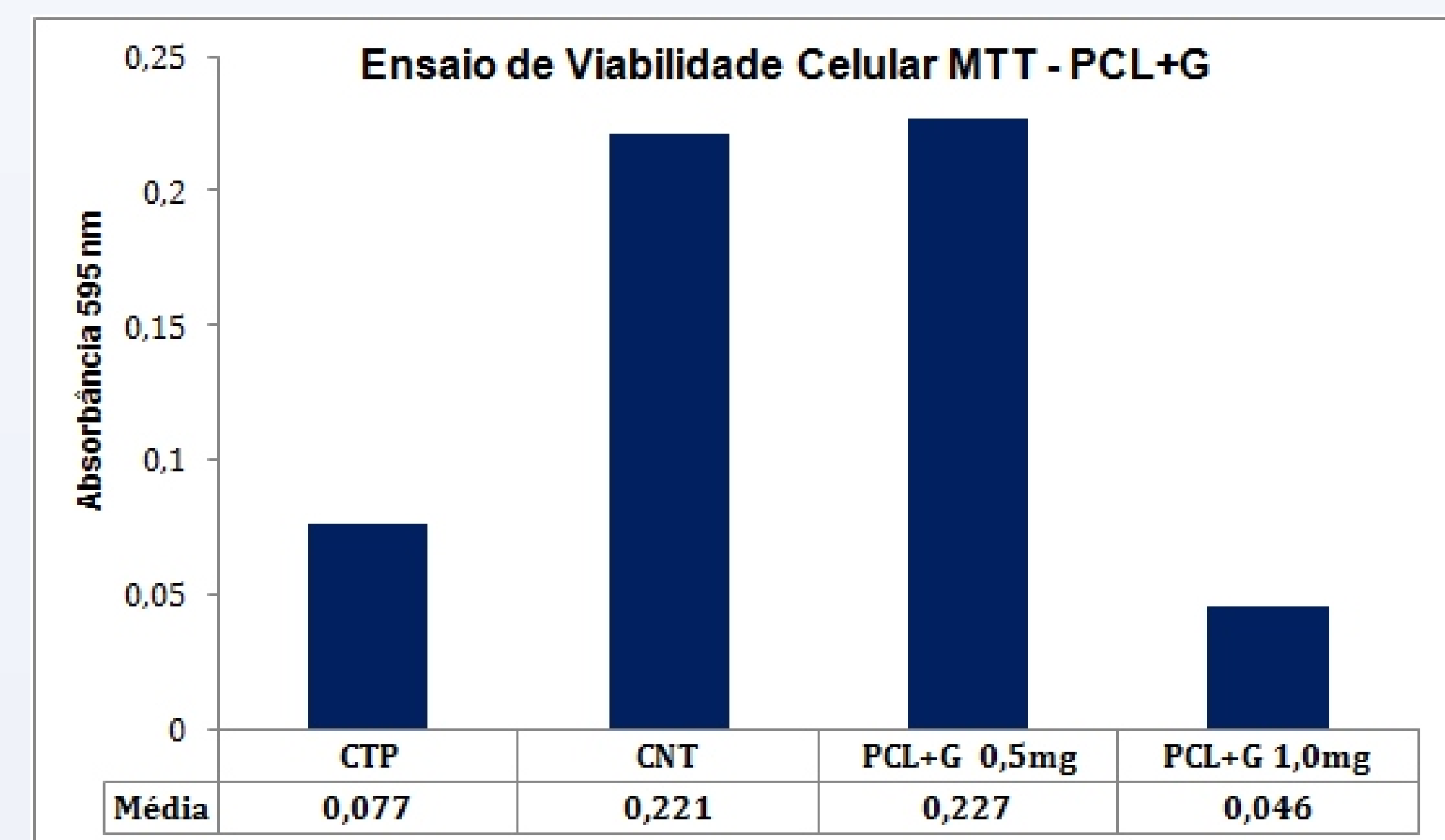


Figura 3 - Ensaio de viabilidade células Mesenquimais de Tecido Adiposo (MSC/TA) pelo método do MTT do nanocompósito PCL + G. Controle positivo de toxicidade fenol (CPT). Controle negativo de toxicidade poliestireno (CNT). Nanocompósito de PCL+G 0,5 e 1,0mg.

Microscopia Eletrônica de Varredura

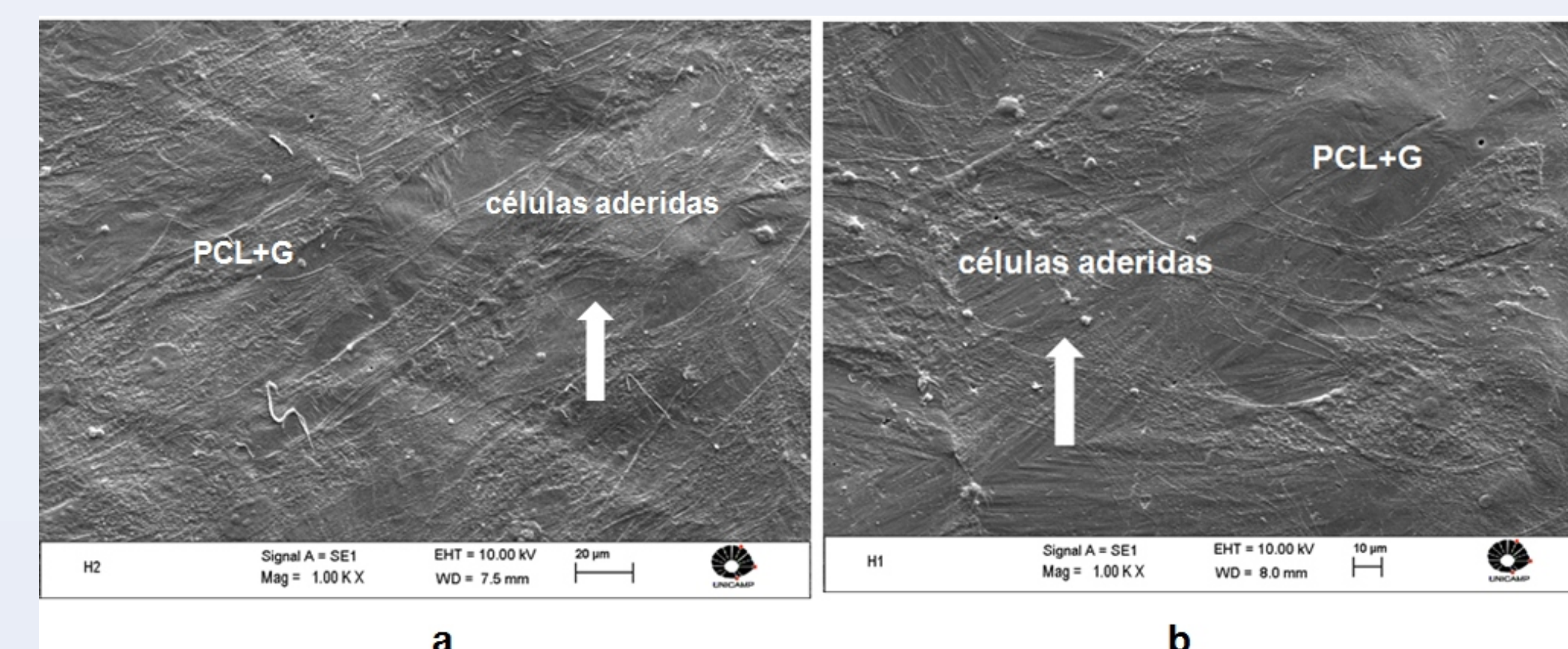


Figura 4 - Microscopia Eletrônica de Varredura. PCL+G 0,5mg. PCL+G 1,0mg após 24h de cultura celular.

Os resultados de MEV obtidos pelo nanocompósito de PCL+G 0,5mg mostrou ausência de toxicidade. Não interferiu na proliferação celular das células MSC/TA e permitiu adesão das mesmas sobre o nanocompósito estudado.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos pelo PCL+G 0.5mg estimulou ou não interferiu com a proliferação celular na presença das e células MSC/TA mostrando-se não citotóxico e permitiu a adesão celular.

Já o PCL+G 1mg, apesar da boa viabilidade celular Fig.4, este, por sua vez, apresentou baixa adesão celular. Novas análises estão sendo realizadas a fim de avaliar se a concentração do Grafeno foi capaz de exercer reação tóxica na presença de MSC/TA, inibindo o crescimento das mesmas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barbanti, SH. Polímeros bioreabsorvíveis na engenharia de tecidos. Polímeros: Ciência e Tecnologia, vol. 15, n° 1, p. 13-21, 2005
- Batista NA. Avaliação do Comportamento do Hidrogel Álcool de Polivinil (PVA) Acetalizado e Irradiado como Substituto da Cartilagem Articular Implantado em Joelhos de Ratos. Tese Unicamp, Campinas, SP: [s.n.], 2011.
- Labet M, Thielemann W. Synthesis of polycaprolactone: a review. Chem. Soc. Rev. 2009, Vol. 38, 3484-3504.
- Mossmam T.J. A rapid colorimetric assay of cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. J Immunol Methods (65): 55-63, 1983.
- Palsson BO, Bhatia SN. Tissue Engineering: Prentice Hall. 2003
- Pittenger MF. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. Science, v.284, p.143-147, 1999. Disponível em: <http://www.sciencemag.org/content/284/5411/143.short>. Acesso em: 03 abr. 2013. doi: 10.1126/science.284.5411.143.