

PREPARAÇÃO DE MEMBRANAS DE PCL/HA PRODUZIDAS POR ELETROFIAÇÃO

Maria Júlia de Jesus Oliveira¹; Williams Teles Barbosa²; Ana Paula Bispo Gonçalves²; Jaqueline Leite Vieira³; Milena Botelho Pereira Soares³, Josiane Dantas Viana Barbosa²

¹ Graduanda em Engenharia Química; Iniciação Científica – FAPESB; maria.o@aln.senaicimatec.edu.br

² Centro Universitário SENAI CIMATEC; Salvador – BA; josianedantas@fieb.org.br

³ Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz. FIOCRUZ, Salvador - BA;

RESUMO

A eletrofiação tem atraído atenção em aplicações na engenharia de tecidos, com o desenvolvimento de estruturas versáteis micro/nanofibras utilizadas como suporte para regeneração de tecidos, liberação de fármacos e etc. Uma das principais vantagens oferecidas por esta técnica é a possibilidade de utilizar uma ampla gama de materiais biocompatíveis e/ou biodegradáveis que podem ser facilmente processados, como o biopolímero PCL (poli-caprolactona). Há também a possibilidade de incorporar biocerâmicas na matriz biopolimérica, como a hidroxiapatita (HA) (fosfato de cálcio hidratado, razão Ca/P = 1,67), conhecida por sua biocompatibilidade e osteocondução, fornecendo suporte para a regeneração óssea. Recentemente, a possibilidade de incorporar biocerâmica na matriz biopolimérica e avaliar suas propriedades biológica *in vitro* tornou-se muito atraente, principalmente no campo de engenharia de tecidos ósseos. Portanto, esse projeto tem como objetivo caracterizar biologicamente *in vitro* membranas de PCL/HA obtidas por eletrofiação. Serão avaliadas sua bioatividade, degradação, proliferação celular, adesão celular e viabilidade celular.

PALAVRAS-CHAVE: Membranas eletrofiadas; PCL/HA; eletrofiação; engenharia de tecidos.

1. INTRODUÇÃO

Entre os problemas musculoesqueléticos mais comuns, encontram-se os distúrbios e lesões de tendões, estes, ainda constituem uma necessidade clínica que até então não foi satisfatoriamente respondida.¹ Considerando os atuais métodos tradicionais para tratamento de substituição ou reparo de tendões danificados, recorrentemente são notadas algumas deficiências, como, por exemplo, uma nova ruptura do local lesionado ou a formação de cicatrizes. Dessa forma, como o reparo desse tecido envolve uma coordenação complexa entre o tecido central interno do tendão e o tecido sinovial externo circundante, concluiu-se a necessidade de encontrar novos métodos de tratamento mais eficazes para a cura de lesões no tendão.³

Em consequência disto, a Engenharia de Tecidos tem despendido uma maior atenção para esta área de pesquisa, explorando o uso de células-tronco e biomateriais para o desenvolvimento de terapias alternativas. Ademais, visto que, os tendões têm uma estrutura complexada e organizada, os avanços na Engenharia de Tecidos têm focado na criação de suportes que possuam a habilidade de imitar essa estrutura — sendo os *scaffolds* grande exemplificação destes —, a fim de promover a regeneração do tendão, de forma que seja possível manter as suas propriedades mecânicas essenciais.² Os *scaffolds*, por sua vez, são estruturas tridimensionais e temporárias idealizadas como maneira de proporcionar a expansão das células, utilizando-os para formar o novo órgão ou tecido, a partir das próprias células do paciente.⁴

Em paralelo a isso, com o aprofundamento do estudo da técnica de eletrofiação, constatou-se que esta técnica é qualificada com alto grau de viabilidade, visto que possui uma variedade de materiais fiáveis, dispositivos simples, baixo custo de preparação, além de um processo controlável e alta eficiência de produção. Proporcionando, assim, a produção de *scaffolds* a partir de nanofibras com uma grande área de superfície específica, alta porosidade e diâmetro ajustável, sendo capaz de imitar a matriz extracelular natural na morfologia, destacando-se por demonstrar enorme potencial no reparo de tendões.³

2. METODOLOGIA

Visando a devida aplicação da produção do *scaffold* nesse projeto de pesquisa, é necessário, no primeiro momento, o preparo da solução. Para isso, foram depositados em um frasco, dentro de um exaustor devido às suas altas volatilidades, os reagentes dimetilformamida (DMF) e diclorometano, em uma proporção de, respectivamente, 20 e 80%, assim como 1 grama do polímero PCL — a determinação de todas as proporções de solventes, assim como o teor de HA, utilizados nessa metodologia foi definida a partir de estudos prévios desenvolvidos e testados em trabalhos anteriores do grupo de pesquisa.

E, após realizadas essas etapas, uma barra magnética foi adicionada dentro do frasco e este, por sua vez, foi tampado e permaneceu em um agitador magnético por 24 horas (Figura 1A).

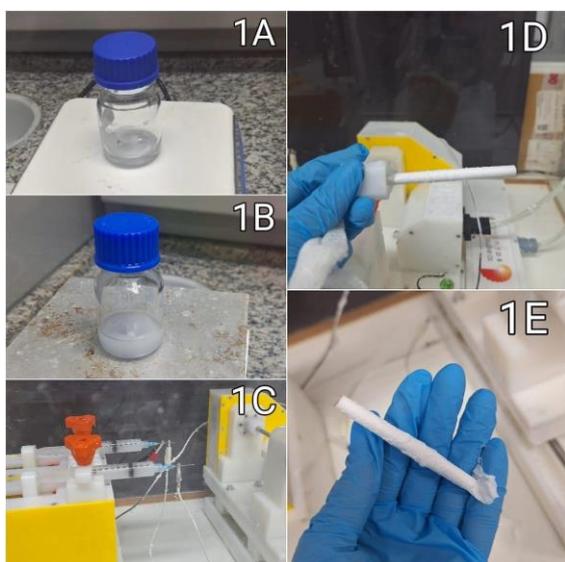
Em um segundo momento, passadas as horas no agitador, o frasco foi aberto e foi adicionado a porção de 0,1 grama de hidroxiapatita (HA) — já que a HA deve representar 10% da quantidade de PCL utilizada — e permaneceu no agitador durante 5 minutos (Figura 1B). Em seguida, a solução foi levada para o banho ultrassônico sem aquecimento por cerca de 40 minutos e posteriormente foi depositada em quantidades iguais, de aproximadamente 4 mL de solvente em cada uma das duas seringas utilizadas, para que pudesse ser, enfim, iniciada a técnica de eletrofiação na máquina de *electrospinning* (Figura 1C).

Sabe-se que, para o processo de eletrofiação, diversos fatores podem influenciar os resultados obtidos, desta forma, os parâmetros adotados foram: vazão de 2 mL/h, distância de 15 centímetros de distância da ponta da agulha da seringa até o coletor, a tensão da fonte de aproximadamente 15 kW, rotação de 1800 rpm e a temperatura da sala em 18°C.

Após ser obtida a membrana compósita como resultado final do processo realizado (Figura 1D), posteriormente será encaminhada para os ensaios mecânicos de tração e de caracterizações, para que possam ser avaliadas sua bioatividade, degradação, proliferação celular, adesão celular e viabilidade celular, assim como também será realizado ensaios comparativos, a fim de verificar a alteração dos resultados de ensaios mecânicos de tração e de caracterizações para as membranas obtidas a partir de PCL com a incorporação da HA e de PCL puro, isto é, sem a inserção da HA (Figura 1E).

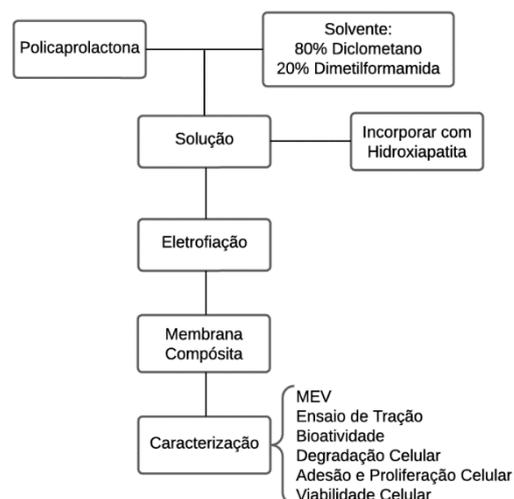
Para melhores visualizações do processo descrito neste tópico, segue abaixo um fluxograma resumido (Figura 2) da metodologia aplicada para a obtenção dos *scaffolds* que serão caracterizados:

Figura 1: Imagens relacionadas a etapas da metodologia referenciadas no texto.



Fonte: Elaborada pelos autores.

Figura 2: Fluxograma resumido do processo.

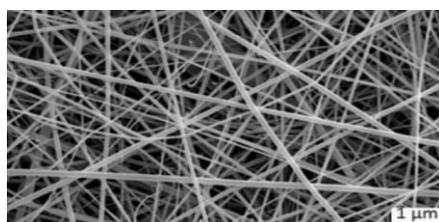


Fonte: Elaborada pelos autores.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A eletrofiação é uma técnica versátil que depende da repulsão eletrostática entre cargas superficiais para extrair continuamente nanofibras de um fluido viscoelástico, tendo sido aplicada para produzir nanofibras com diâmetros menores de uma variedade de materiais, incluindo polímeros.⁵ Para uma melhor compreensão, a Figura 3 mostra a imagem de MEV de nanofibras obtidas por eletrofiação.

Figura 3: Imagens de MEV para nanofibras poliméricas produzidas através da técnica de eletrofiação.



Fonte: XUE, Jiajia et al, 2017.

No entanto, o solvente utilizado para preparar a solução polimérica que será eletrofiada tem significativa influência na morfologia da fibra e, conseqüentemente, sobre o comportamento celular. Dessa forma, o PCL é recorrentemente eletrofiado usando diferentes solventes, como, clorofórmio, diclorometano, dimetilformamida e metanol ou uma combinação destes.⁶ Entretanto, este estudo, foram utilizados diclorometano e dimetilformamida como solventes, devido diversos motivos, entre eles são passíveis de citação a facilidade de manipulação destes, assim como a compatibilidade com a eletrofição, já que possuem baixa viscosidade e alta condutividade térmica,⁷ aspectos relevantes para garantir a formação de um jato estável durante o processo.

Devido ao seu tamanho de poro pequeno, peso leve e excelente filtração,⁸ as membranas nanofibras adquiriram notável relevância, já que, quando produzidas a partir de polímeros de alto desempenho, como, por exemplo, o PCL, essas membranas são beneficiadas com excelentes propriedades mecânicas — como resistências à tração e módulo de elasticidade — e resistências térmica e química.⁸

Na Engenharia de Tecidos, polímeros biodegradáveis naturais são usados para preparar estruturas teciduais, que podem ser combinadas com fatores de crescimento e células-tronco ou usadas como transportadores de medicamentos para reconstruir o microambiente natural dos tendões, ajudando na adesão, crescimento e diferenciação celular.⁸ Assim, o *scaffold* produzido a partir dessas espécies de polímeros desempenha uma breve atuação fornecendo suporte ao tendão danificado do corpo humano e degradando-se em um ritmo desacelerado logo em seguida. Além disso, devido às suas propriedades biodegradáveis e boa biocompatibilidade, torna-se possível a liberação prolongada de medicamentos, mantendo a concentração necessária de medicamentos na área do tendão danificado para promover a cura, além de ajudar na formação do colágeno tipo I — que é um componente essencial da estrutura do tendão — e reduzir a inflamação, que é uma resposta natural do corpo ao dano tecidual.⁸

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como o projeto até o momento se encontra na etapa da produção dos *scaffolds*, a realização das caracterizações, ainda não foi possível para avaliar os aspectos de bioatividade, degradação, proliferação celular, adesão celular e viabilidade celular das membranas feitas a partir de PCL/HA, visando a sua aplicabilidade no processo de suporte à restauração de tendões.

5. REFERÊNCIAS

- ¹ LOMAS, A.J. et al. **The past, present and future in scaffold-based tendon treatments.** *Advanced Drug Delivery Reviews.* 2015, v. 84, p. 257 – 277.
- ² DOMINGUES, Rui. M. A. et al. **Enhancing the Biomechanical Performance of Anisotropic Nanofibrous Scaffolds in Tendon Tissue Engineering:** Reinforcement with Cellulose Nanocrystals. *Adv. Healthcare Mater.* 2016, n. 5, 1364 – 1375.
- ³ ZHANG, Yiming; XUE, Yueguang; REN, Yan; LI, Xin; LIU, Ying. **Biodegradable Polymer Electrospinning for Tendon Repairment.** *Polymers,* 2023, v. 15, n. 6, p. 1566.
- ⁴ CHEN, Guoping et al. **Scaffold Design for Tissue Engineering.** *Macromolecular Bioscience,* 2002, n. 2, 67 – 77.
- ⁵ XUE, Jiajia et al. **Electrospun Nanofibers:** New Concepts, Materials, and Applications. *Accounts of Chemical Research,* 2017, 50, p. 1976 – 1987.
- ⁶ MOCHANE, Mokgotsa J. et al. **Morphology and Properties of Electrospun PCL and Its Composites for Medical Applications:** A Mini Review. *Applied Sciences.* 2019, 9(11), p. 2205.
- ⁷ D'ALLOIA, Alessandro G. et al. **Electrical, Mechanical and Electromechanical Properties of Graphene-Thermoset Polymer Composites Produced Using Acetone-DMF Solvents.** *Polymers.* 2018.
- ⁸ FORGIE, Jemma R. P. et al. **Electrospinning of High-Performance Nanofibres:** State of the Art and Insights into the Path Forward. *Applied Sciences.* 2023, 13, p. 12476.