

ISSN 2175-8395

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

REDE DE NANOTECNOLOGIA APLICADA AO AGRONEGÓCIO

ANAIS DO VI WORKSHOP – 2012

Maria Alice Martins
Morsyleide de Freitas Rosa
Men de Sá Moreira de Souza Filho
Nicodemos Moreira dos Santos Junior
Odílio Benedito Garrido de Assis
Caue Ribeiro
Luiz Henrique Capparelli Mattoso

Editores

Fortaleza, CE
2012

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Instrumentação

Rua XV de Novembro, 1452,
CEP 13560-970 – São Carlos, SP
Fone: (16) 2107-2800
Fax: (16) 2107-2902
<http://www.cnpdia.embrapa.br>
E-mail: sac@cnpdia.embrapa.br

Embrapa Agroindústria Tropical

Rua Dra. Sara Mesquita, 2270,
CEP 60511-110 – Fortaleza, CE
Fone: (85) 3391-7100
Fax: (85) 3391-7109
<http://www.cnpat.embrapa.br>
E-mail: sac@cnpat.embrapa.br

Comitê de Publicações da Embrapa Instrumentação

Presidente: João de Mendonça Naime
Membros: Débora Marcondes Bastos Pereira Milori, Washington Luiz de Barros Melo, Sandra Protter Gouvêa, Valéria de Fátima Cardoso.
Membro suplente: Paulo Sérgio de Paula Herrmann Júnior

Comitê de Publicações da Embrapa Agroindústria Tropical

Presidente: Antonio Teixeira Cavalcanti Júnior
Secretário-Executivo: Marcos Antonio Nakayama
Membros: Diva Correia, Marlon Vagner Valentim Martins, Arthur Cláudio Rodrigues de Souza, Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho, Adriano Lincoln Albuquerque Mattos e Carlos Farley Herbster Moura

Supervisor editorial: Dr. Victor Bertucci Neto

Capa: Mônica Ferreira Laurito, Pedro Hernandes Campaner

Imagens da capa:

Imagem de MEV-FEG de Titanato de potássio – Henrique Aparecido de Jesus Loures Mourão, Viviane Soares

Imagem de MEV de Eletrodeposição de cobre – Luiza Maria da Silva Nunes, Viviane Soares

Imagem de MEV de Colmo do sorgo – Fabrício Heitor Martelli, Bianca Lovezutti Gomes, Viviane Soares

Imagem de MEV-FEG de HPMC com nanopartícula de quitosana – Marcos Vinicius Lorevice, Márcia Regina de Moura Aouada, Viviane Soares

Imagem de MEV-FEG de Vanadato de sódio – Waldir Avansi Junior

Imagem de MEV de Fibra de pupunha – Maria Alice Martins, Viviane Soares

1ª edição

1ª impressão (2012): tiragem 300

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº. 9.610).

CIP-Brasil. Catalogação na publicação.

Embrapa Instrumentação

Anais do VI Workshop da rede de nanotecnologia aplicada ao agronegócio 2012 – São Carlos: Embrapa Instrumentação; Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2012.

Irregular

ISSN: 2175-8395

1. Nanotecnologia – Evento. I. Martins, Maria Alice. II. Rosa. Morsyleide de Freitas. III. Souza Filho, Men de Sá Moreira de. IV. Santos Junior, Nicodemos Moreira dos. V. Assis, Odílio Benedito Garrido de. VI. Ribeiro, Caue. VII. Mattoso, Luiz Henrique Capparelli. VIII. Embrapa Instrumentação. IX. Embrapa Agroindústria Tropical.



CRESCIMENTO DE CÉLULAS-TRONCO BOVINAS EM NANOFIBRAS DE POLI(ÁCIDO LÁTICO)

Juliano E. Oliveira¹, Eliton S. Medeiros², Flávio V. Meirelles³, Odilio B.G. Assis¹, Luiz H.C. Mattoso¹

¹Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA), Embrapa Instrumentação

²Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB

³Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP

julianoufmg@yahoo.com.br; mattoso@cnpdia.embrapa.br

Projeto Componente: PC6

Plano de Ação: 6

Resumo

O estudo e desenvolvimento de novas plataformas para crescimento celular são de extrema importância para o avanço da medicina regenerativa, garantindo e promovendo a saúde e bem estar da população. Diversos estudos indicam que o tipo de material empregado bem como a topografia da matriz de crescimento afeta a adesão das células o que influencia na morfologia, proliferação e viabilidade celular. Neste trabalho será avaliado o crescimento de células-tronco mesenquimais em membranas nanoestruturadas de poli(ácido lático) produzidas por fiação por sopro em solução.

Palavras-chave: células-tronco, nanofibras, poli(ácido lático), medicina regenerativa

Introdução

Lesões em tecidos ou órgãos são um dos problemas mais frequentes enfrentados pela medicina. Atualmente as opções terapêuticas (aloenxerto, xenoenxerto, autoenxerto e implante de dispositivos biomédicos) têm ampliado a qualidade de vida da população [1]. No entanto estas opções estão associadas a claras limitações incluindo viabilidade de doadores, infecção, baixa integração com o hospedeiro e potencial rejeição do implante. Assim, a medicina regenerativa foi desenvolvida com o objetivo de superar tais limitações e de encontrar terapias revolucionárias capazes de sanar as lesões do tecido, através do reparo ou criação de tecidos ou órgãos visando a restauração das funções prejudicadas [2].

O termo engenharia de tecidos tornou-se parte da linguagem acadêmica em 1993, quando Langer & Vacanti [3], a definiu como um campo interdisciplinar que integra os princípios da ciência

e engenharia de materiais com as ciências da vida para o desenvolvimento de substitutos biológicos capazes de restaurar, manter ou melhorar a função de um tecido ou órgão.

Os biopolímeros e polímeros sintéticos a partir de recursos renováveis são considerados a base para o desenvolvimento sustentável e eco-eficiente dos materiais plásticos. Como exemplo de um polímero pioneiro em mercados emergentes de plásticos biodegradáveis temos o poli(ácido lático) (PLA) que é um poliéster alifático, biocompatível e biodegradável [4] que pode ser obtido por fermentação bacteriana de glicose extraída do milho [5].

Por fim, a técnica de *Solution Blow Spinning*, ou fiação por sopro em solução, foi recentemente desenvolvida por Medeiros e colaboradores em 2009 [6], a partir da combinação de elementos das técnicas para produção de não tecidos de eletrofiação e *meltblowing*. Essa técnica usa uma matriz de fiação composta por canais concêntricos

com geometria otimizada que permite a produção de nanofibras de polímeros de modo análogo à eletrospiação. Dentre as suas vantagens estão a não necessidade de uso de campo elétrico, baixo custo e a alta taxa de produtividade, cerca de, pelo menos, 100 vezes mais rápida que na eletrospiação.

Materiais e métodos

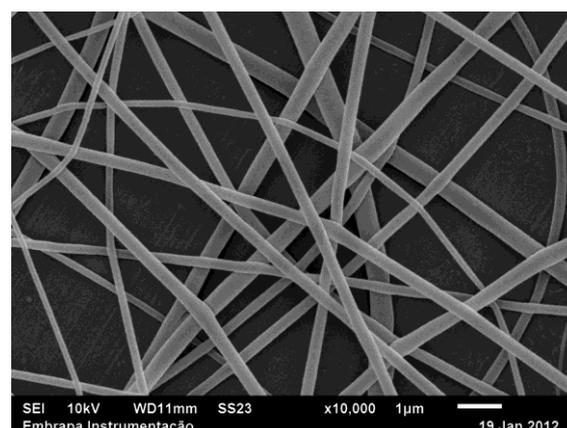
Neste trabalho, foram preparadas membranas nanoestruturadas a partir de uma solução contendo 6% m/v de PLA e 6% m/v da blenda PLA/PEG 90/10 (m/m) em clorofórmio: acetona 3:1 (v/v) pelo método SBS a fim de se investigar a viabilidade de crescimento de células-tronco mesenquimais neste tipo de estruturada. As membranas nanoestruturadas foram cortadas em pedaços circulares, esterilizadas através de radiação ultravioleta por 30 minutos e fixadas em placas tratadas de poliestireno de cultura. Foram adicionados 1,5 mL de meio de cultura nas placas por 30 minutos antes da semeadura das células. Então, as células-tronco mesenquimais foram semeadas nas placas com e sem as diversas membranas nanoestruturadas (controle), em uma mesma densidade por placa.

As membranas obtidas foram caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV). A adesão das células-tronco mesenquimais nas membranas poliméricas nanoestruturadas foi investigada por coloração de hematoxilina e eosina no intervalo de 48 horas seguida da obtenção de imagens por um microscópio ótico.

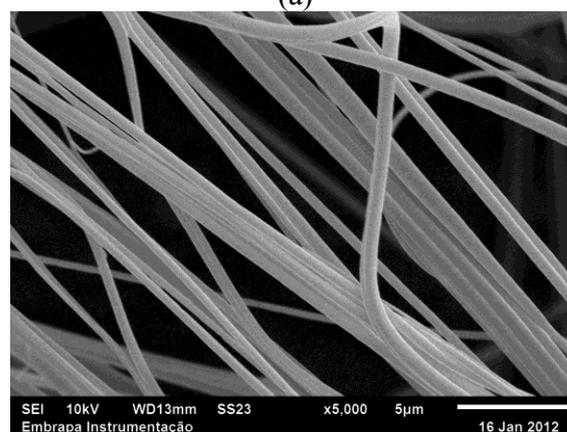
Resultados e discussão

Temos na Fig. 1 as imagens obtidas através de microscopia eletrônica de varredura para nanofibras de PLA puro e da blenda PLA/PEG. Nota-se um aumento no diâmetro das fibras de PLA devido à adição de PEG à solução. Esse fenômeno já foi constatado pelo grupo em trabalhos anteriores envolvendo a fabricação de nanofibras de blends poliméricas [7]. Através da análise estatística de diâmetros tem-se que as fibras de PLA puro e da blenda PLA/PEG apresentaram diâmetro médio de 525 nm e 1000 nm, respectivamente. Essa variação no diâmetro com a adição de um novo polímero à solução de PLA pode ser associada ao aumento da viscosidade das soluções resultante das interações atrativas entre estes polímeros.

Na Fig. 2 está ilustrado o crescimento de células-tronco mesenquimais em diferentes matrizes.



(a)



(b)

Figura 1. Imagens obtidas por MEV de nanofibras de (a) PLA e (b) PLA/PEG

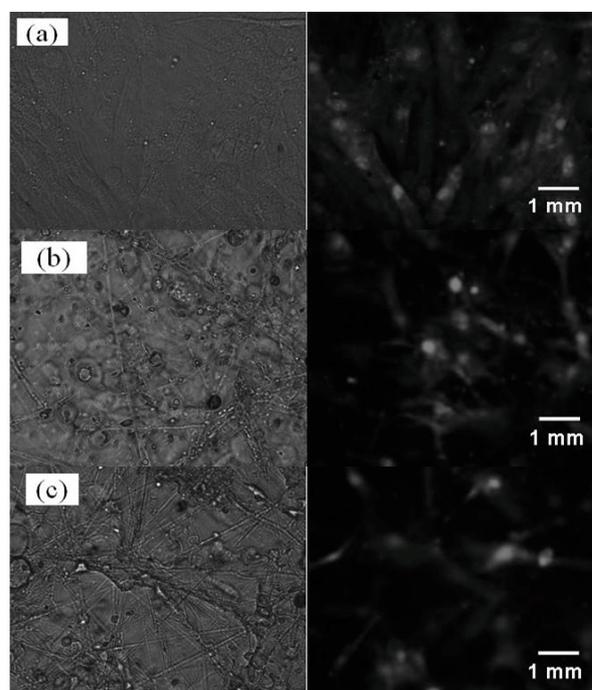


Figura 2. Imagens obtidas por microscopia ótica de células-tronco mesenquimais sob diferentes matrizes de crescimento: (a) controle, (b) PLA e (c) PLA/PEG

Inicialmente experimentos de crescimento de células-tronco mesenquimais bovinas foram realizados em placas de cultura de poliestireno como um controle positivo. Na Fig. 2a nota-se que conforme o esperado, as células cresceram de forma bidimensional ao longo da superfície da placa de cultivo. Em seguida as células foram semeadas na superfície das membranas nanoestruturadas. Pode-se constatar que as células se encontram dispostas tridimensionalmente na aderidas nas membranas nanoestruturadas de PLA e PLA/PEG devido a presença de vários focos nas imagens Fig. 2b e 2c.

Atualmente este projeto busca através de várias técnicas de caracterização tanto de materiais como de células obter correlações entre as propriedades das membranas nanoestruturadas e a resposta celular.

Conclusões

Os resultados apresentados confirmam a adesão de células-tronco mesenquimais na superfície de membranas poliméricas nanoestruturadas de PLA e PLA/PEG obtidas pela técnica de fiação por sopro em solução. O crescimento celular foi indicado através de ensaios microscopia eletrônica de varredura e ótica. Assim, a tecnologia de fiação por sopro em solução pode ser apropriadamente empregada para a fabricação de matrizes tridimensionais porosas para o crescimento de células de interesse médico-veterinário.

Agradecimentos

CNPQ (Processo N° 474121/2011-9), FINEP, EMBRAPA (Rede AgroNano), CAPES e PAPESP (Bolsa Pós-doc proc. 2010/19860-1).

Referências

1. J.R. Fuchs; B.A. Nasser; J.P. Vacanti *The Annals of Thoracic Surger.*, 2001, 72(2), 577-591.
 2. J. Maienschein *Developmental Biology*, v. In Press, Corrected Proof, 2010. ISSN 0012-1606.
 3. R. Langer; J. Vacanti *Science*. 1993, 260(5110), 920-926.
 4. X. A. Pang *Biotechn. J.* 2010, 5(11), 1125-1136.
 5. O. Aviniv; A. Khoddami *Fibre Chem.* 2010, 42(1), 68-78.
 6. E.S. Medeiros et al. *J. Appl. Polym. Sci.* 2009, 113(4), 2322-2330,
 7. J.E. Oliveira et al. *J. Appl. Polym. Sci.* 2012, accepted, n. n/a, 6.
-