

# BIOPOLÍMEROS DE ÓLEO DE MAMONA, GLICEROL E ÁCIDO CÍTRICO NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS

Hellen Kaiane George  
Jairo de Freitas Sousa  
Dione Silva Corrêa  
Ivana Grivicich

PPG EM BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR APLICADA À SAÚDE ULBRA - CANOAS

## INTRODUÇÃO

O interesse atual no desenvolvimento de novos materiais de base biológica tem motivado estudos visando a descoberta de produtos para as mais variadas aplicações clínicas. Dentro deste contexto os biopolímeros biodegradáveis, com aplicações como produtos bioativos, têm recebido uma grande atenção. Biopolímeros de diferentes origens podem ser empregados por exemplo no tratamento de feridas, devido as suas excelentes propriedades de biocompatibilidade, potencial regenerativo e durabilidade. A utilização de biopolímeros para a produção de materiais biodegradáveis tem sido uma alternativa em substituição a materiais sintéticos que vão além da sua capacidade de degradação. Um dos grupos de biopolímeros intensamente estudado e amplamente utilizado são os poliésteres derivados de produtos naturais. Entre os compostos mais promissores no desenvolvimento de biopolímeros estão o ácido cítrico, glicerol e óleo de mamona.

## OBJETIVOS

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos citotóxicos e de cicatrização *in vitro* de 04 biopolímeros.

## MATERIAL E MÉTODOS

A síntese e caracterização dos biopolímeros foi realizada em estudo anterior coordenado pela prof. Dione Corrêa.

Para os testes biológicos foi utilizada a linhagem celular de fibroblasto de camundongo L929, mantida em condições padrão de cultura com meio DMEM e 10 % de soro fetal bovino.

A citotoxicidade foi avaliada utilizando o ensaio colorimétrico de MTT ((3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide), onde as células foram semeadas em uma densidade de  $5 \times 10^4$  por poço, em placas de 96 poços e tratadas com os biopolímeros (BIOPOI01, BIOPOI02, BIOPOI03, BIOPOI04) nas concentrações de 100, 50 e 5  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ . O DMSO (10%) foi utilizado como controle positivo. Após os tratamentos, as células foram coradas com MTT em meio de cultura sem soro e sem fenol, a  $37^\circ\text{C}$  por 3 h. Após a incubação, o sobrenadante foi removido e os cristais de formazan violeta foram solubilizados em 100  $\mu\text{L}$  de DMSO. A leitura do ensaio foi realizada em um leitor de microplacas, em densidade ótica de 540 nm. Para fins de interpretação do efeito citotóxico utilizamos a 10993-5 (2009), que normatiza testes de citotoxicidade *in vitro* para avaliação de compostos para uso na saúde. Um composto é considerado com potencial citotóxico quando causar redução de 70% ou mais na viabilidade celular, ou seja, quando apresentar 30% ou mais citotoxicidade.

Para avaliação da migração celular *in vitro*, foi utilizado o ensaio *Scratch wound* onde as células foram semeadas em uma densidade de  $3 \times 10^5$  por poço em uma placa de 24 poços e incubadas por 24 h para permitir a adesão e formação de uma monocamada confluenta. As monocamadas foram marcadas com uma ponta de ponteira de 200 $\mu\text{L}$  estéril, formando uma lesão de comprimento próximo ao diâmetro do poço. As células foram tratadas nas mesmas concentrações do ensaio citotóxico. A migração celular foi analisada por fotografia após 0 h, 24 h, 48h e 72 h, subsequentes à criação da lesão. As imagens foram obtidas com câmera digital (AxioCamMRc, Carl Zeiss) em lente objetiva de 5 X, acoplada ao microscópio óptico invertido com contraste de fase (Axiovert 25, Carl Zeiss, Alemanha), utilizando o programa MRGrab 1.0.0.4 (Carl Zeiss). As imagens foram analisadas com utilização de software ImageJ (versão 1.50i) e o resultado da migração foi expresso em porcentagens. Considerando-se o tempo 0 h como sendo equivalente a 100% da medida da largura do risco.

## REFERÊNCIAS

- LARANJEIRA, V.N., BRUM, L.F.S., et al. Carboxyethyl aminobutyric acid (CEGABA) lacks cytotoxicity and genotoxicity and stimulates cell proliferation and migration *in vitro*. Archives of dermatological research, v. 311, n. 6, p. 491-497, 2019.
- LAURENTINO, L.S. Síntese de monômeros derivados do óleo de mamona e copolimerização em meio heterogêneo via radicais livres. 2015. 59 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina-Florianópolis-SC.
- SCUDIERO, D.A., SHOEMAKER, R.H., et al. Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines. Cancer Research, v. 48, p. 4827 - 4833, 1988

## RESULTADOS

Nossos resultados demonstraram que na concentração de 100  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  os biopolímeros BIOPOI03 e BIOPOI04 demonstraram citotoxicidade, enquanto que na concentração de 50  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ , somente o BIOPOI04 foi citotóxico. Além disso, na concentração mais baixa (5  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ) não foi observada citotoxicidade com nenhum dos biopolímeros testados (Figura 1).

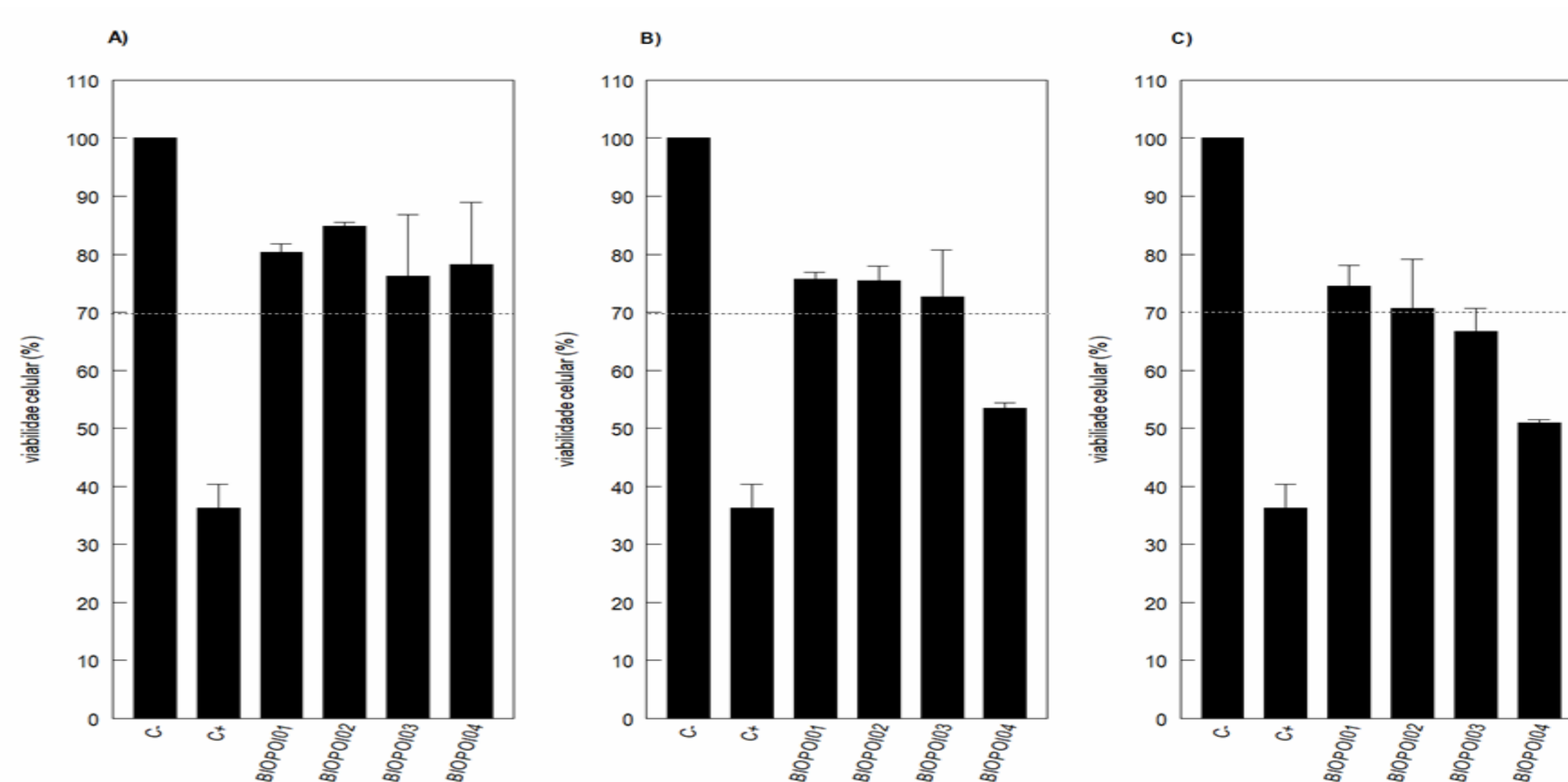


Figura 1: Viabilidade da linhagem celular de fibroblastos L929 após exposição a 5 (A) 50 (B) e 100 (C)  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  dos Biopolímeros (BIOPOI01, BIOPOI02, BIOPOI03, BIOPOI04) por 24 h.

Os resultados dos testes de cicatrização demonstraram que os 4 biopolímeros reduziram o tamanho da lesão nas concentrações de 50 e 5  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ . Mais ainda, o BIOPOI01 e BIOPOI02 mostram um efeito superior já após 24 h na recuperação da lesão (Figura 2).

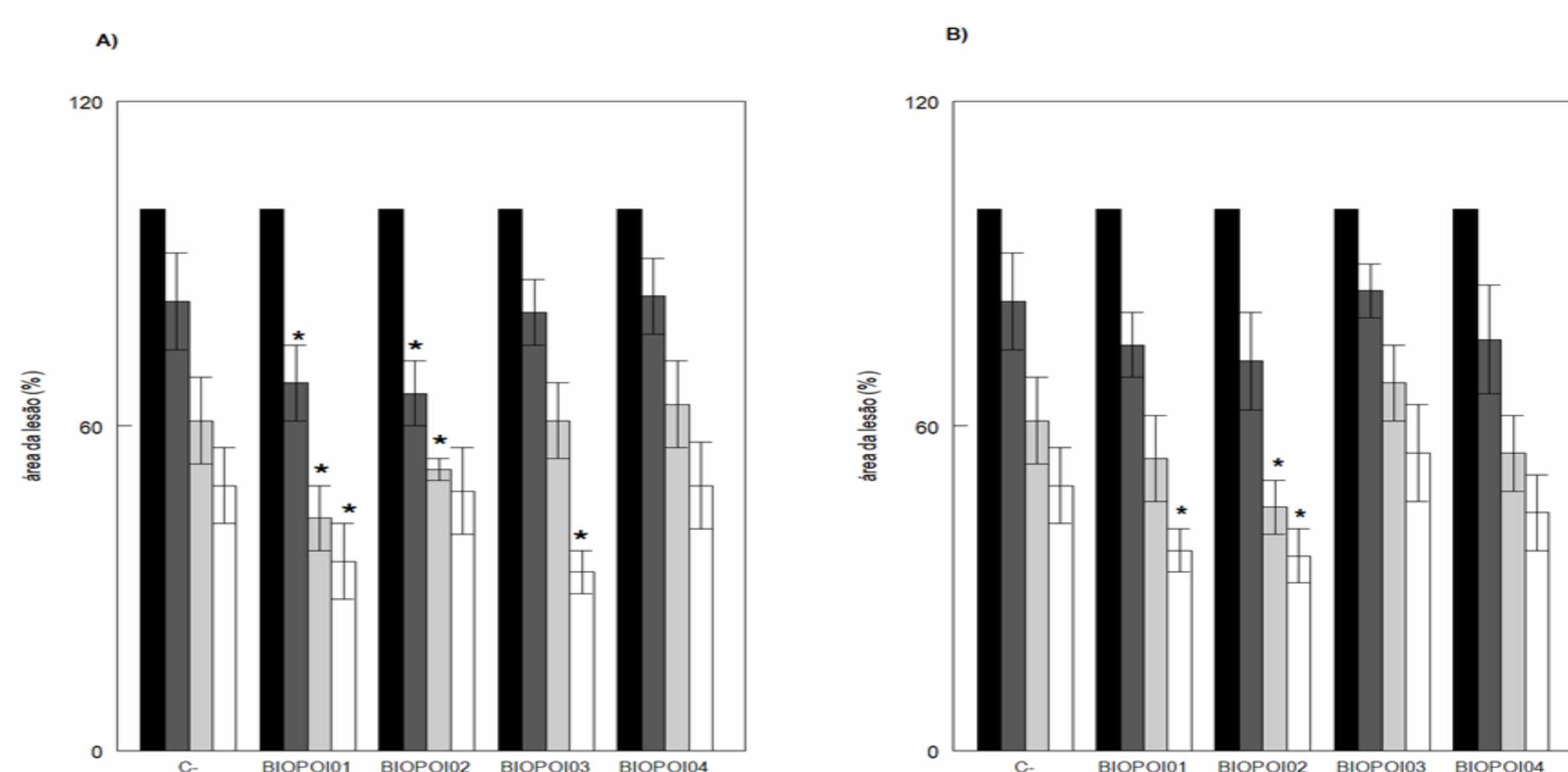


Figura 2: Redução da superfície da lesão *in vitro* na linhagem celular L929 após exposição a 5, 50 e 100  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  dos Biopolímeros (BIOPOI01, BIOPOI02, BIOPOI03, BIOPOI04) e controle negativo (C-). Nos tempos de 0 h (■), 24 h (▒), 48 h (▓) e 72 h (□). \*Diferente do controle não tratado (C-) (Anova,  $p < 0,05$ ).

## CONCLUSÃO

Esses achados mostram que os 04 biopolímeros são seguros para uso em concentrações baixas e que podem auxiliar na recuperação tecidual. Este efeito é mais percebido nos biopolímeros BIOPOI01 e BIOPOI02.