

## USO DE MEMBRANAS DE POLIÉSTER PARA PRODUÇÃO DE PLACAS DE ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA: AVALIAÇÃO DE VIABILIDADE E ADESÃO DE ASTRÓCITOS CULTIVADOS.

**OTÁVIO GARCIA MARTINS<sup>1</sup>; SABRINA PEREIRA SILVA<sup>2</sup>; CARLUS AUGUSTO TAVARES DO COUTO<sup>3</sup>; PAULO ROBERTO STEFANI SANCHES<sup>4</sup>; IRACI LUCENA DA SILVA TORRES<sup>5</sup> LICIANE FERNANDES MEDEIROS<sup>6</sup>; IZABEL CRISTINA CUSTÓDIO DE SOUZA<sup>7</sup>**

<sup>1</sup>*Universidade Federal de Pelotas – otvmartins@gmail.com*

<sup>2</sup>*Universidade Federal de Pelotas – brina\_pereirasilva@hotmail.com*

<sup>3</sup>*Universidade Federal de Pelotas – carlusatc@gmail.com*

<sup>4</sup>*Universidade Federal do Rio Grande do Sul – psanches@hcpa.edu.br*

<sup>5</sup>*Universidade Federal do Rio Grande do Sul – iracitorres@gmail.com*

<sup>6</sup>*Universidade Federal do Rio Grande do Sul – licimedeiros@gmail.com*

<sup>7</sup>*Universidade Federal de Pelotas – belcustodio20@yahoo.com.br*

### 1. INTRODUÇÃO

A complexidade estrutural dos tecidos animais tem dificultado um melhor entendimento dos mecanismos envolvidos sobre as possíveis alterações bioquímicas e funcionais presentes em células submetidas à alternância de campos eletromagnéticos e/ou fármacos (WEYH T. et al., 2005), sendo que vários mecanismos possíveis de interação do campo com subestruturas celulares têm sido propostos, como alterações de conformação de proteínas, mudanças na abertura de canais iônicos voltagem-dependente e nas concentrações de cálcio (STEWARD, 1997; CHEN, 2004; CHALLIS, 2005).

A estimulação magnética e elétrica são métodos que afetam de forma direta ou indiretamente as sinapses, modulando a expressão de receptores, o processo de diferenciação de neurônios e de células gliais, e consequentemente, a neuromodulação (FUCHS; FLÜGGE, 2014). Portanto, a avaliação do efeito da aplicação da estimulação elétrica em cultura de astrócitos de córtex cerebral na resposta celular por meio de análises morfológicas e bioquímicas se torna relevante.

Sendo assim, o objetivo deste estudo foi desenvolver placas de cultura celular (membranas de poliéster) adaptadas com eletrodos para estimulação elétrica avaliando as respostas de adesão e a viabilidade celular.

### 2. METODOLOGIA

Sobre placas de cultivo celular de 24 poços foi inserido membranas de poliéster de espessuras 0,75 µm e 125µm, recobrindo o seu fundo. Sobre essas membranas, foram cultivados astrócitos obtidos por meio de cultura primária. Houve a divisão nos poços: grupo controle - as células foram plaqueadas diretamente no poço sem membranas e sem poli-d-lisina; grupo padrão - as células foram cultivadas em poços preparados com poli-d-lisina; grupo com membrana 0,75 µm e grupo com membrana de 125µm.

Durante 7 dias, em uma densidade de 2x104 células/poço, os astrócitos foram cultivados sobre as respectivas membranas e posteriormente avaliou-se a adesão por meio de microscópio ótico de luz invertido durante o tempo de cultivo, e a viabilidade celular por meio de ensaio com brometo 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-

2,5-difeniltetrazolico (MTT). Os dados quantitativos foram averiguados por ANOVA de uma via seguido por SNK.

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados obtidos foram: controle = 0,152; poli-d-lisina = 0,123; membranas de poliéster de 0,75 $\mu$ m = 0,155; membranas de poliéster de 125 $\mu$ m = 0,152. Não houve diferença quanto a viabilidade celular ( $p>0,05$ ) na membrana de poliéster de 0,75 $\mu$ m e na de 125 $\mu$ m comparadas ao grupo poli-d-lisina e ao grupo controle. Ademais, houve maior adesão nos grupos das membranas de poliéster em relação ao grupo controle e poli-d-lisina, sendo a de 125 $\mu$ m a que apresentou maior adesão em comparação. Nos substratos controle e 100 $\mu$ m por apresentarem perda celular pela baixa adesão, a viabilidade celular foi significantemente menor.

### **4. CONCLUSÕES**

Os testes preliminares mostraram que as membranas de poliéster, utilizadas como prováveis placas de cultivo celular, apresentam uma ótima adesão e as células permanecem em cultivo por 7 dias. As células apresentaram uma maior adesão na membrana de poliéster de 125 $\mu$ m. Portanto, esses resultados indicam que membranas de poliéster apresentam características *in vitro* importantes para a produção de placas de cultivo celular com eletrodos para estimulação elétrica. Pelos resultados apresentados, a membrana de 125 $\mu$ m foi a selecionada para compor a placa de cultivo de células com eletrodos para a estimulação elétrica.

**Apoio:** FIPE-HCPA (CEP 12-0247), FINEP, CNPq, UFPel (CEEA 4538).

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 Weyh T, Wendicke K, Mentschel C, Zantow H, Siebner HR. Marked differences in the thermal characteristics of figure-of-eight shaped coils used for repetitive transcranial magnetic stimulation. **Clinical neurophysiology: official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology**. 2005; 116(6):1477-86. Epub 2005/06/28.
2. FUJIKI, M.; STEWARD, O. High frequency transcranial magnetic stimulation mimics the effects of ECS in upregulating astroglial gene expression in the murine CNS. **Brain research Molecular brain research**, Filadélfia, v. 44, n. 2, p. 301-308, 1997.
3. CHEN, W. Supra-physiological membrane potential induced conformational changes in K<sup>+</sup> channel conducting system of skeletal muscle fibers. **Bioelectrochemistry**, Londres, v. 62, n. 1, p. 47-56, 2004.
4. CHALLIS, L.J. Mechanisms for interaction between RF fields and biological tissue. **Bioelectromagnetics**, Chicago, sup. 7, p. S98-S106, 2005.
5. FUCHS, E.; FLÜGGE, G. Adult Neuroplasticity: More Than 40 Years of Research. **Neural Plasticity**, Canadá, v. 2014, ID art. 541870, 10 páginas, 2014.