

CONFECÇÃO DE PLACAS DE MEMBRANAS DE POLIÉSTER DE ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA: AVALIAÇÃO DE ADESÃO E DE VIABILIDADE CELULAR DE ASTRÓCITOS

PRISCILA CENTENO CRESPO¹; SABRINA PEREIRA SILVA²; CARLUS AUGUSTO TAVARES DO COUTO³; IRACI LUCENA DA SILVA TORRES⁴; PAULO ROBERTO STEFANI SANCHES⁵; IZABEL CRISTINA CUSTÓDIO DE SOUZA⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – priscrespo@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – brina_pereirasilva@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – carlusatc@gmail.com

⁴Universidade Federal do Rio Grande do Sul – iracitorres@gmail.com

⁵Universidade Federal do Rio Grande do Sul – psanches@hcpa.edu.br

⁶Universidade Federal de Pelotas – belcustodio20@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

Os mecanismos complexos inter e intracelulares do sistema nervoso central (SNC) e os efeitos que a estimulação elétrica pode produzir motivam estudos sobre a neuromodulação celular (ZHADIN; DERYUGINA; PISACHENKO, 1999). Os componentes estruturais e funcionais específicos das células nervosas são alvos da estimulação cortical, no entanto, há poucos dados obtidos em padrões de estimulação que aperfeiçoem respostas celulares específicas (LIU et. al., 1997).

Por outro lado, vários mecanismos possíveis de interação do campo elétrico com subestruturas celulares têm sido propostos, dentre eles: alterações de conformação de proteínas, prováveis mudanças na abertura de canais iônicos voltagem-dependentes, e mudanças nas concentrações de cálcio e oscilações através da redistribuição intracelular desse cátion (CHEN, 2004; CHALLIS, 2005; FUJIKI; STEWARD, 1997).

Além disso, a estimulação pode afetar direta ou indiretamente as sinapses, a expressão de receptores, a neurogênese e o processo de diferenciação de neurônios e de células gliais (FUCHS; FLÜGGE, 2014). Sendo assim, é relevante avaliar o efeito da aplicação da estimulação elétrica em cultura de astrócitos de córtex cerebral na resposta celular por meio de análises morfológicas e bioquímicas. Com isso, o objetivo deste estudo foi desenvolver placas de cultura celular (membranas de poliéster) adaptadas com eletrodos para estimulação elétrica e avaliar as respostas de adesão e a viabilidade celular.

2. METODOLOGIA

Astrócitos obtidos por meio de cultura primária foram cultivados sobre membranas de poliéster de espessuras 0,75 µm e 125µm que recobrem o fundo das placas de cultivo celular de 24 poços. Os poços foram divididos em: 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 125µm. Os astrócitos foram cultivados sobre as respectivas membranas em uma densidade de 2×10^4 células/poço por 7 dias. Após, avaliou-se a viabilidade celular por meio de ensaio com brometo 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolico (MTT), e a adesão foi observada por meio de microscópio óptico de luz invertida

durante o tempo de cultivo. 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 μ m= 0,155; membranas de poliéster de 125 μ m =0,152. Tanto na membrana de poliéster de 0,75 μ m como na de 125 μ m não houve diferença quanto a viabilidade celular ($p>0,05$) em relação ao grupo poli-d-lisina e ao grupo controle. As células mostraram uma menor adesão no grupo controle e poli-d-lisina comparadas às membranas de poliéster de 0,75 μ m e 125 μ m. Observou-se que na membrana de poliéster de 125 μ m a adesão foi maior.

4. CONCLUSÕES

Os testes preliminares nas membranas como prováveis placas de cultivo celular apresentaram uma ótima adesão e as células permanecem em cultivo por 7 dias. As células apresentaram uma maior adesão na membrana de poliéster de 125 μ m. Portanto, esses resultados mostram 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 μ m foi a selecionada para compor a placa de cultivo de células com eletrodos para a estimulação elétrica.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ZHADIN, M. N.; DERYUGINA, O.N.; PISACHENKO, T.M. Influence of combined DC and AC magnetic fields on rat behavior. **Bioelectromagnetics**, Chigago, v. 20, n.6, p. 378-386, 1999.
2. LIU, X.Z.; XU, X.M.; HU, R.; DU, C.; ZHANG, S.X.; MCDONALD, J.W.; DONG, H.X.; WU, Y.J.; FAN, G.S.; JACQUIN, M.F.; HSU, C.Y.; CHOI, D.W. Neuronal and glial apoptosis after traumatic spinal cord injury. **The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience**, Washington, v. 17, n. 14, p. 5395-5406, 1997.
3. CHEN, W. Supra-physiological membrane potential induced conformational changes in K⁺ 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. 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.
6. FUCHS, E.; FLÜGGE, G. Adult Neuroplasticity: More Than 40 Years of Research. **Neural Plasticity**, Canadá, v. 2014, ID art. 541870, 10 páginas, 2014.