

## EVALUACION DE LA CITOTOXICIDAD DE MATRICES NANOFIBROSAS PARA REGENERACIÓN DE SEGMENTOS DE URETRA

Carlos Busatto<sup>2</sup>, Florencia Montini Ballarin<sup>1</sup>, Natalia Ceaglio<sup>3</sup> Marianela Masin<sup>3</sup>, Diana Estenoz<sup>2</sup>, Gustavo A. Abraham<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Instituto de Investigaciones en Ciencia y Tecnología de Materiales, INTEMA (UNMDP-CONICET), Mar del Plata, Argentina.

<sup>2</sup> Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química, INTEC (UNL-CONICET), Santa Fe, Argentina.

<sup>3</sup> UNL, CONICET, FBCB (Fac de Bioqca y Cs. Biológicas), CBL (Centro Biotecnológico del Litoral), Santa Fe, Argentina

\* E-mail: [gabraham@fi.mdp.edu.ar](mailto:gabraham@fi.mdp.edu.ar)

### INTRODUCCIÓN

El reemplazo de segmentos dañados de uretra constituye un problema aún no resuelto a nivel mundial. En el caso de disfunción, daño o traumatismo del tejido genitourinario tradicionalmente se ha recurrido a tejidos nativos no urológicos (segmentos gastrointestinales, piel, peritoneo y otros) y prótesis sintéticas (silicona y teflón). Sin embargo, existe una limitación en la disponibilidad de tejidos autólogos y riesgo de diversas complicaciones<sup>1</sup>. Además, las prótesis sintéticas no degradables usualmente presentan complicaciones asociadas con problemas biomecánicos (calcificación, fístulas) o biocompatibilidad. En este sentido, la combinación de polímeros naturales y sintéticos permite combinar las características biológicas altamente favorables de los polímeros naturales (hidrofilicidad, biodegradabilidad y biocompatibilidad) y el comportamiento mecánico de los polímeros sintéticos. En este trabajo se propone desarrollar matrices tubulares biocompatibles basadas en la combinación de polímeros sintéticos y naturales co-electrohilados para su aplicación en la ingeniería de tejidos de la uretra.

### MATERIALES Y MÉTODOS

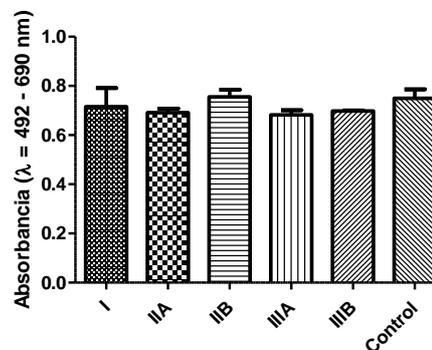
**Preparación de las estructuras tubulares nanofibrosas:** Los materiales se obtuvieron mediante electrohilado de soluciones de poli( $\epsilon$ -caprolactona) (PCL) en ácido acético; co-electrohilado de PCL y poli(óxido de etileno) (PEO)/ácido hialurónico (AH) en agua; y co-electrohilado de PCL y PEO en agua/etanol sobre un colector rotatorio de 5 mm de diámetro. El sistema PCL/PEO se lavó en agua durante 24 hs y se infiltró con solución de AH al 1% p/v. Las muestras se esterilizaron por radiación UV 254 nm.

**Evaluación de la citotoxicidad celular:** Se colocaron discos de 5 mm de diámetro de los diferentes materiales con la cara interior de la estructura tubular hacia arriba en placas de 96 pozos. La línea celular L929 (ATCC®CRL-6364™) fue sembrada sobre los materiales en una concentración de 5000 células/pozo en medio DMEM 10% SFB. Se llevó a cabo un control de crecimiento celular en ausencia de materiales. La viabilidad celular fue evaluada luego de 48 h utilizando el kit CellTiter 96™ Aqueous Non-Radioactive Cell Proliferation Assay (Promega). La intensidad de la señal se informó como el promedio de la absorbancia de 3 pozos. Los resultados se analizaron estadísticamente utilizando ANOVA seguido por test de Tukey.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvieron *scaffolds* tubulares con fibras uniformes y sin defectos. Los diámetros medio de fibra determinados por SEM resultaron 1470, 830 y 910 nm para PCL, PCL-AH y PCL-AH infiltrado. Los materiales preparados a partir de PCL presentaron un mayor diámetro de fibra y polidispersidad en tamaños. La morfología de las estructuras fibrosas no se afectó luego de su exposición a radiación UV en el tiempo ensayado.

En la Figura 1 se muestran los resultados obtenidos de los ensayos de citotoxicidad celular. No se observaron diferencias significativas en la viabilidad de las células sembradas sobre los distintos materiales y procesamientos con respecto a los controles de crecimiento en ausencia de los mismos. Por otra parte, no se observaron cambios morfológicos en las células en contacto con los materiales, lo cual, en su conjunto, indicaría la existencia de citocompatibilidad en las condiciones evaluadas.



**Figura 1.** Viabilidad celular *in vitro* de fibroblastos L929 sembrados sobre diferentes materiales y procesamientos. I: PCL; IIA: PCL-AH, lote A; IIB: PCL-AH, lote B; IIIA: PCL-AH infiltrado, lote A; IIIB: PCL-AH infiltrado, lote B; Control: control de crecimiento celular.

### CONCLUSIONES

Las matrices nanofibrosas obtenidas presentaron una estructura tubular con excelente citocompatibilidad *in vitro* y resultan de interés para aplicación en la ingeniería de tejidos de uretra. La evaluación del comportamiento mecánico en condiciones fisiológicas de las matrices se encuentra en curso.

### REFERENCIAS

1- Mangir, N., Wilson, K. J., Osman, N. I., Chapple, C. R. *Current Opinion in Urology*, 2019, 29, 385-393.