

### **Subprojeto 3 - Funcionalização de superfícies e suas interações com células eucarióticas e procarióticas**

**Participantes:** Marisa Beppu, Monica A. Cotta, Hernandes F. Carvalho e Roberta Polak

Os projetos que serão vinculados ao INCT são aqueles que exploram a funcionalidade da superfície, explorando-se a sua interação com células.

No caso de células humanas, o interesse é de explorar nano-recobrimentos para aderir células específicas. Em resposta a alguns tipos de câncer, linfócitos migram para o local afetado para exercer funções terapêuticas. Trabalhos anteriores demonstraram que estas células do sistema imune podem ser utilizadas para o transporte de fármacos através da adesão de pequenos patches diâmetro de 7-10  $\mu\text{m}$ . Estas “mochilas celulares” têm a capacidade encapsular e liberar drogas, evitando fagocitose e permanecendo sobre a superfície celular, com uma redução mínima na viabilidade celular. Sua fabricação envolve a deposição alternada de polímeros utilizando-se a técnica de layer-by-layer sobre uma matriz pré-moldada obtida por fotolitografia, a fim de criar um sistema composto por três multicamadas estratificadas: uma região de liberação, para promover o destacamento do substrato, uma região de carga de droga, e uma região adesiva à células. Trabalhos anteriores utilizaram filmes de (quitosana/ácido hialurônico) $n$ , (CHI/HA) $n$  na região adesiva às células, devido à elevada afinidade do hialuronato para os receptores CD44 na superfície celular. Pretendemos estudar a potencial seletividade exibida pelos filmes de (CHI/HA) $n$  através de suas interações com células circulantes do sistema imunológico em condições clinicamente relevantes, tais como soro ou sangue total, uma vez que trabalhos anteriores empregaram linfócitos isolados em solução tampão. Outra abordagem seria o isolamento de células tumorais. Ensaio preliminares demonstraram que três diferentes linhagens de células de câncer de próstata apresentam uma melhor aderência que células saudáveis em filmes contendo HA na última camada ( $p < 0,05$ ) contra lâminas de vidro (controle). A abordagem apresentada neste projeto poderá ser empregada como um mecanismo para a captura e isolamento de células, gerando interfaces aplicáveis para fins terapêuticos e de diagnóstico.

No caso em que as células são bactérias, o interesse se concentra em produzir superfícies antimicrobianas resistentes, atóxicas, biodegradáveis e adequadas para contato com alimentos ou seres humanos. Este projeto combinará o efeito de diferentes tipos de quitosana em filmes nanoestruturados para fabricação de recobrimentos antimicrobianos sobre substratos têxteis e lâminas de vidro. Ênfase será dada ao estudo do comportamento de adesão das bactérias *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* sobre os diferentes tipos de filmes nanoestruturados à base de quitosana sobre lâminas de vidro. Para atingir a atividade antimicrobiana desejada, o processo de adesão celular deve ser melhor compreendido, levando-se inclusive em conta a influência das propriedades dos nano-recobrimentos utilizados, nas escalas de interesse ao problema. Ênfase será dada no desenvolvimento do trabalho a técnicas de microscopia (óptica, confocal, Raman, de varredura por sonda e microscopia eletrônica), sendo, sempre que possível, utilizada a técnica de visualização ao longo do tempo (dinâmica), visto que a utilização desse conjunto de técnicas de microscopia e espectroscopia tem revelado informações importantes acerca do comportamento de formação do biofilme na adesão e proliferação bacteriana, na micro e nanoescala.

Os resultados dessa caracterização serão correlacionados com a atividade antimicrobiana inferida de testes específicos com micro-organismos de grande importância para aplicações na área biomédica. No bojo do desenvolvimento da inovação tecnológica, espera-se incorporar pesquisa de fronteira em que interações no nível molecular e propriedades de superfícies sejam estudadas, gerando contribuições científicas de alto impacto.