

GENERACIÓN DE GRADIENTES TÉRMICOS EN PELÍCULAS DE POLIELECTROLITOS

Pasquale Miguel¹ y Muzzio Nicolás²

¹Instituto de Investigaciones Físicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA), (UNLP, CONICET)
(Departamento de Química, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP, CONICET), Sucursal 4, Casilla de Correo 16, 1900 La Plata, Argentina.

²Department of Biomedical Engineering and Chemical Engineering,
The University of Texas at San Antonio, One UTSA Circle, San Antonio, TX 78249, USA.

Introducción

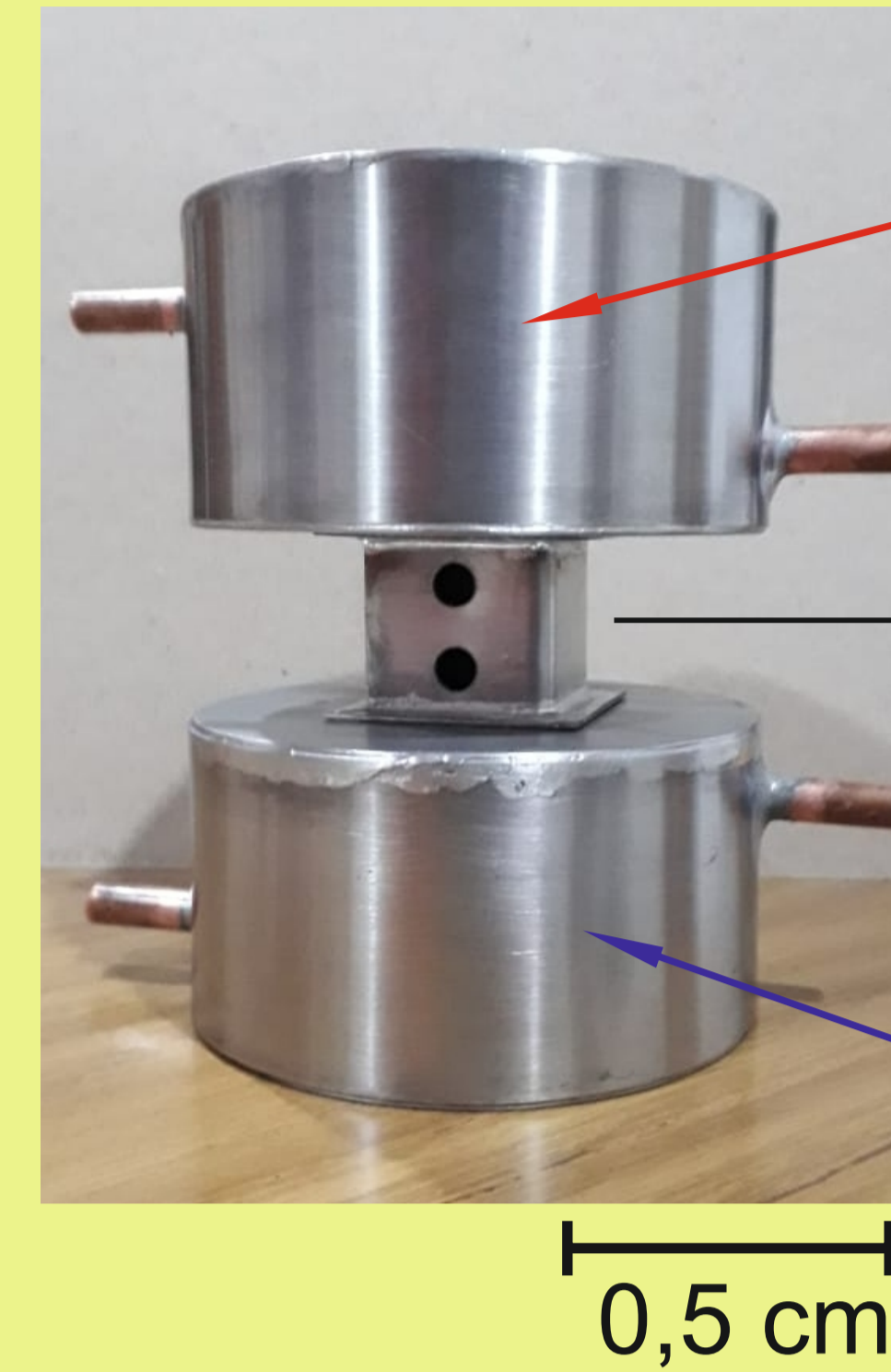
Los polielectrolitos, particularmente de origen natural, constituyen una de las macromoléculas más utilizadas en la fabricación de sustratos que imiten las propiedades de la matriz extracelular. Las superficies pueden modificarse fácilmente mediante el ensamblado "capa a capa" de polielectrolitos de carga opuesta, generando multicapas con propiedades fisicoquímicas controlables en la nano-escala. En trabajos previos mostramos que el recocido de las películas de poli-L-lisina (policación) y ácido algílico (polianión) (PLL/Alg) a 37 °C durante 48 h, producía que las películas aumenten sus características adhesivas para varias líneas celulares. La aplicación del tratamiento en forma local, por medio de un gradiente estable de temperaturas, permitirá cambiar localmente las propiedades fisicoquímicas e inducir el fenotipo celular adhesivo.

Resultados

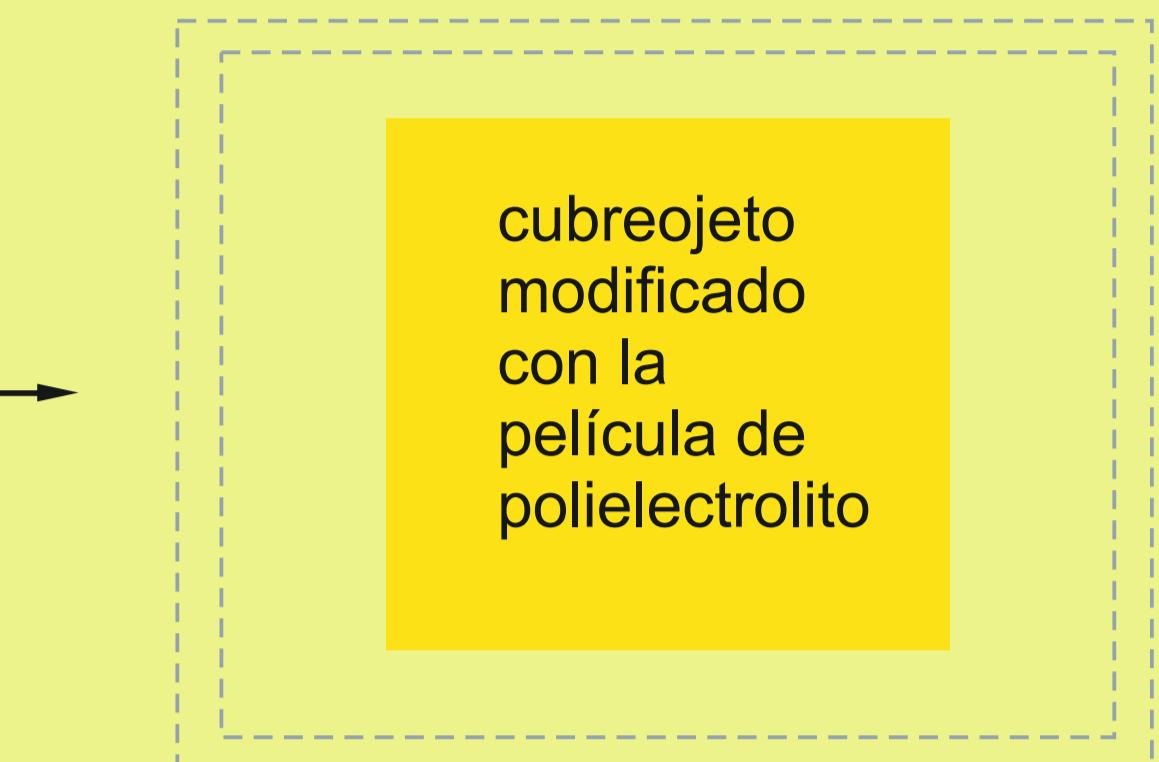
Las células C2C12, mioblastos murinos, son sensibles a los cambios en las propiedades fisicoquímicas de las películas sobre los sustratos de vidrio. En la zona de menor temperatura, las películas tienen menor rigidez, son más hidrofílicas y la carga positiva. La rigidez aumenta, la carga y la hidrofobicidad disminuyen con la temperatura. El área de adhesión de las células aumenta al ir de las zonas que estuvieron sometidas a baja temperatura a aquellas con mayor temperatura.

Adhesión celular

Arreglo experimental



Compartimiento caliente
55 °C



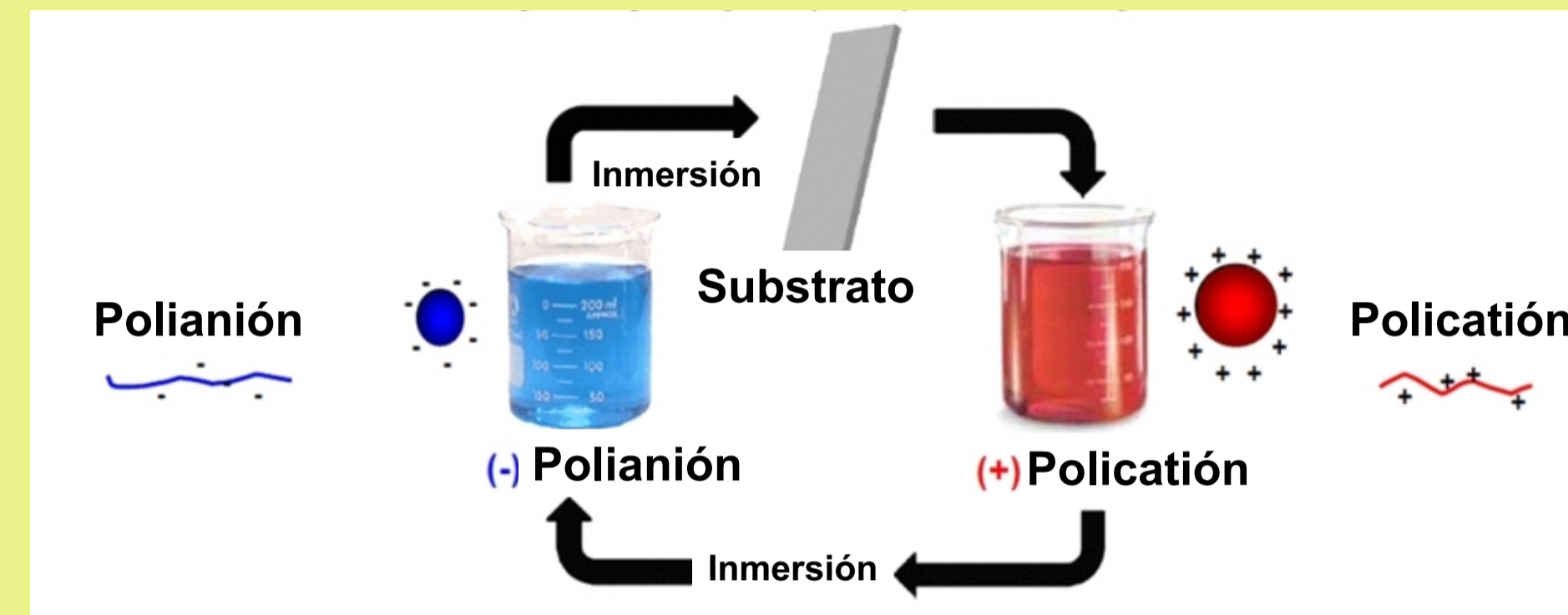
Compartimiento de la muestra con gradiente estratificado. La parte superior con menor densidad y la zona fría con mayor densidad.

Compartimiento frío
-15 °C

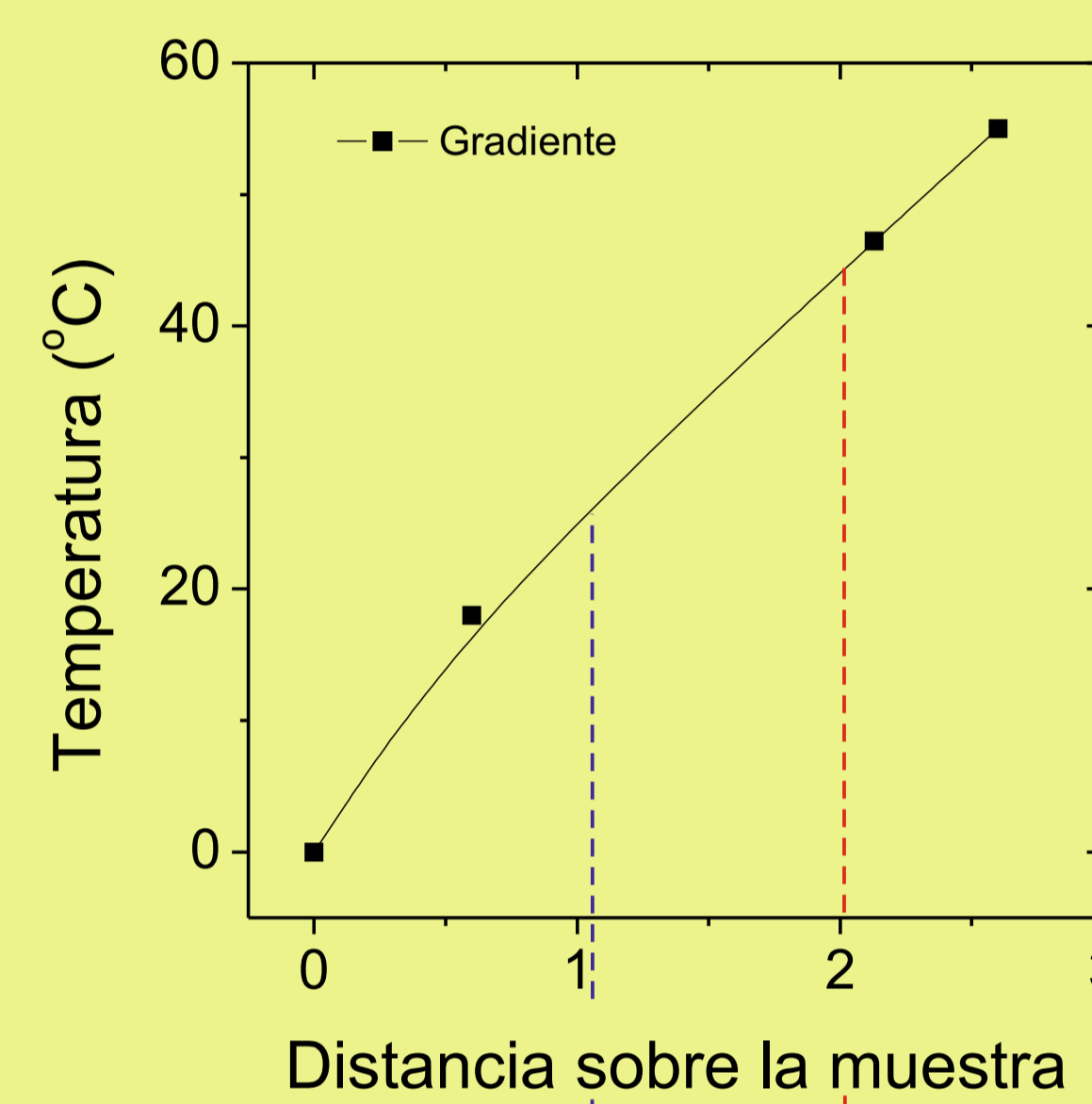
Los compartimientos cilíndricos se envuelven con aislante y se les hace pasar, por el superior agua caliente y por el inferior, refrigerante a -15 °C.

Ensamblado

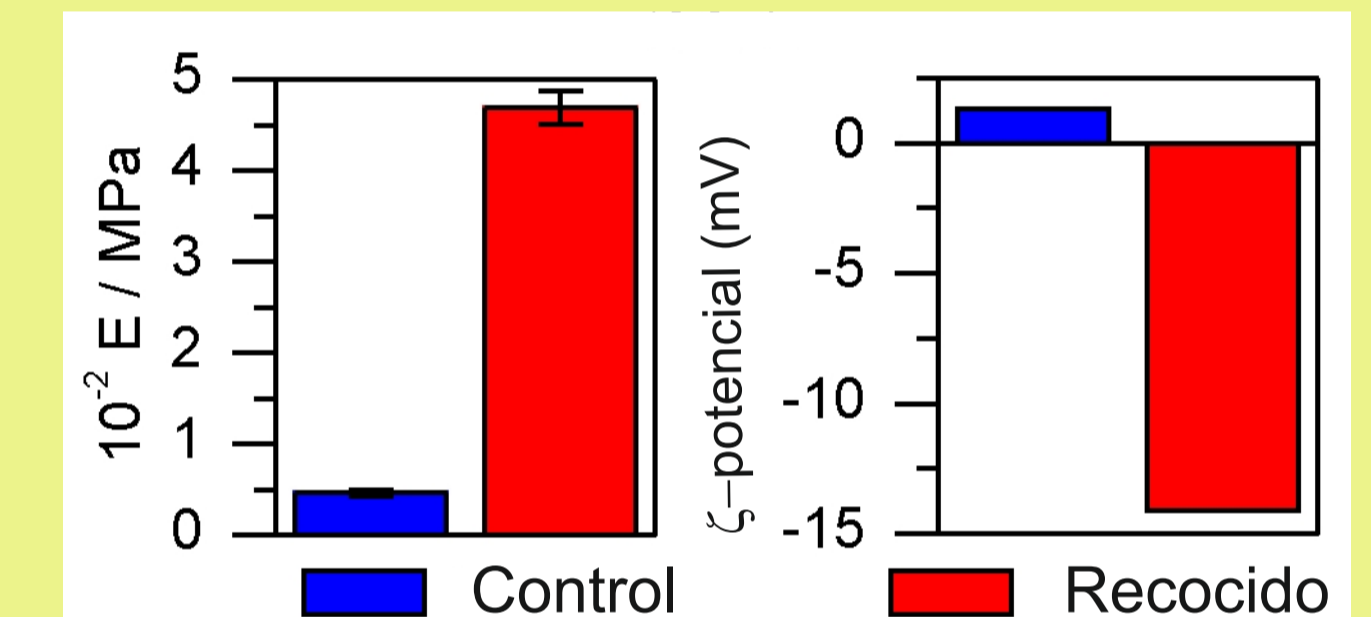
Ensamblado capa a capa. Doce bicapas Poli-L-lisina/ácido algínico (PLL/Alg), con la capa final de PLL.



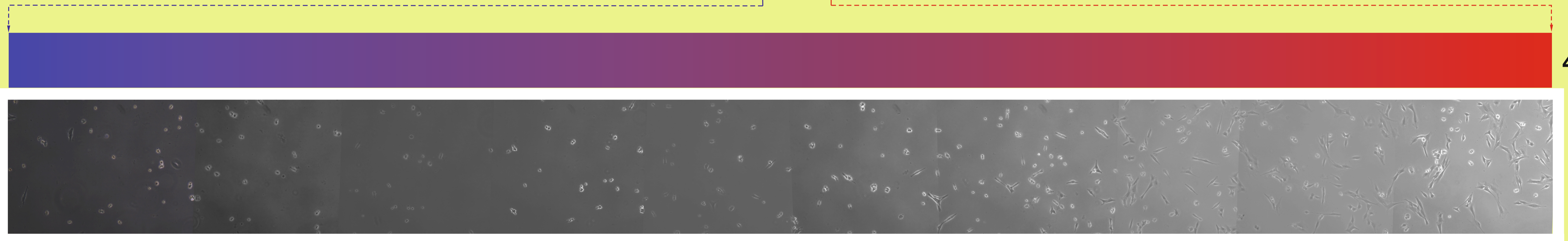
Gradiente de temperatura



Rigidez y carga



23°C

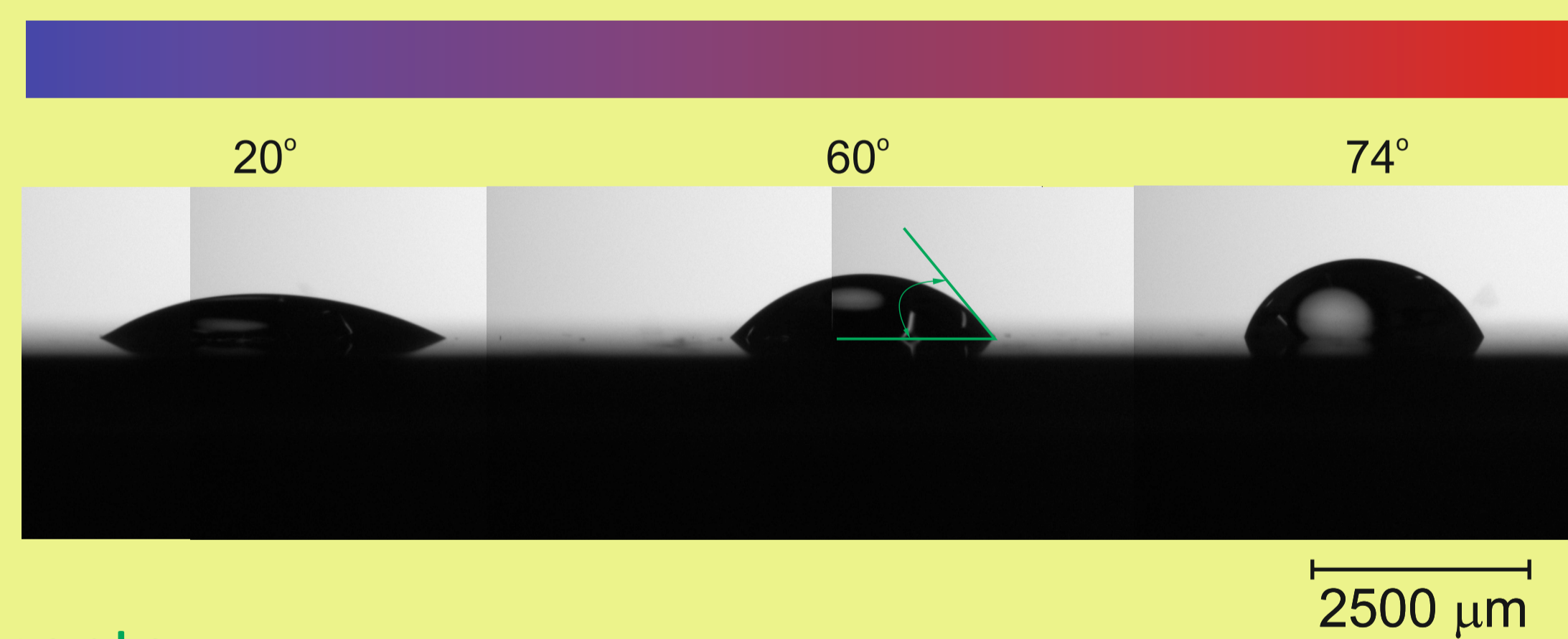


44°C

0,5 cm

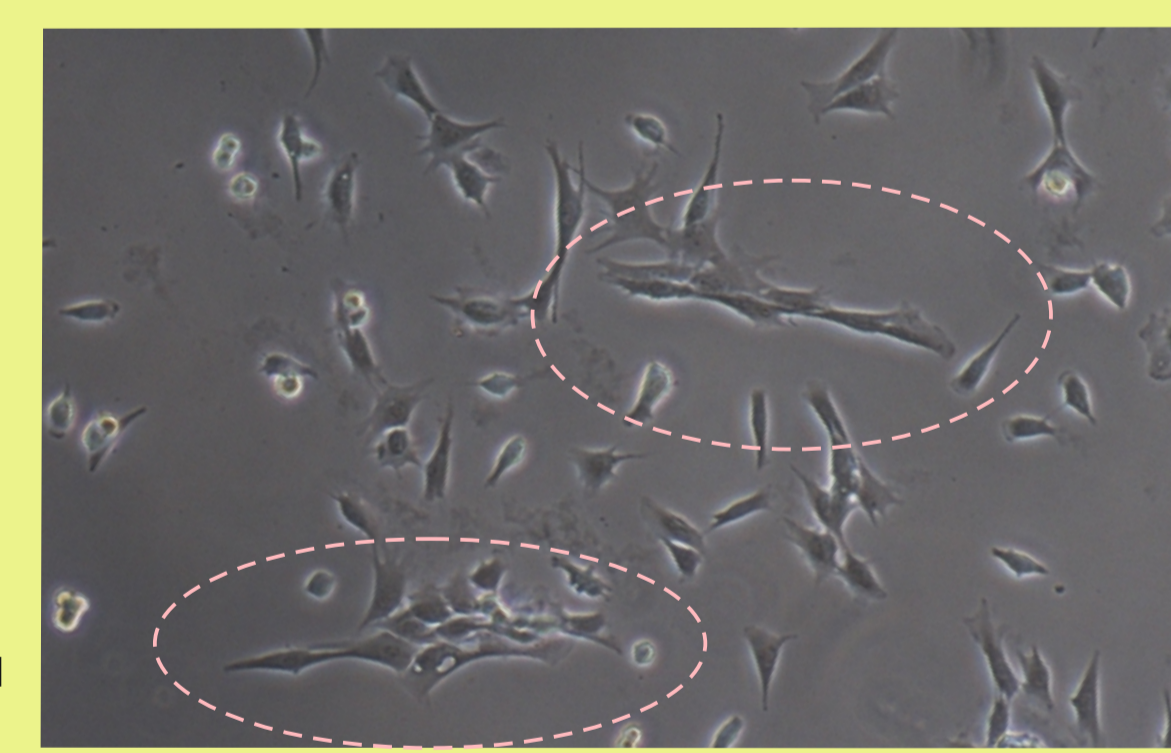
Ángulo de contacto

La magnitud del ángulo de contacto da idea de la hidrofobicidad de la superficie. Aumenta en las zonas de la película sometidas a mayor temperatura, hasta valores que favorecen la adhesión celular.



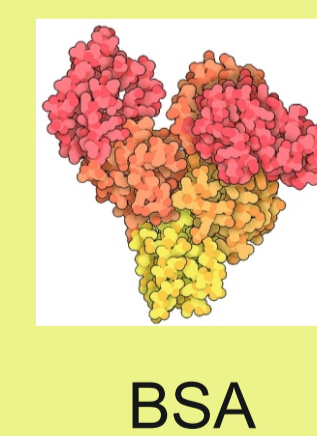
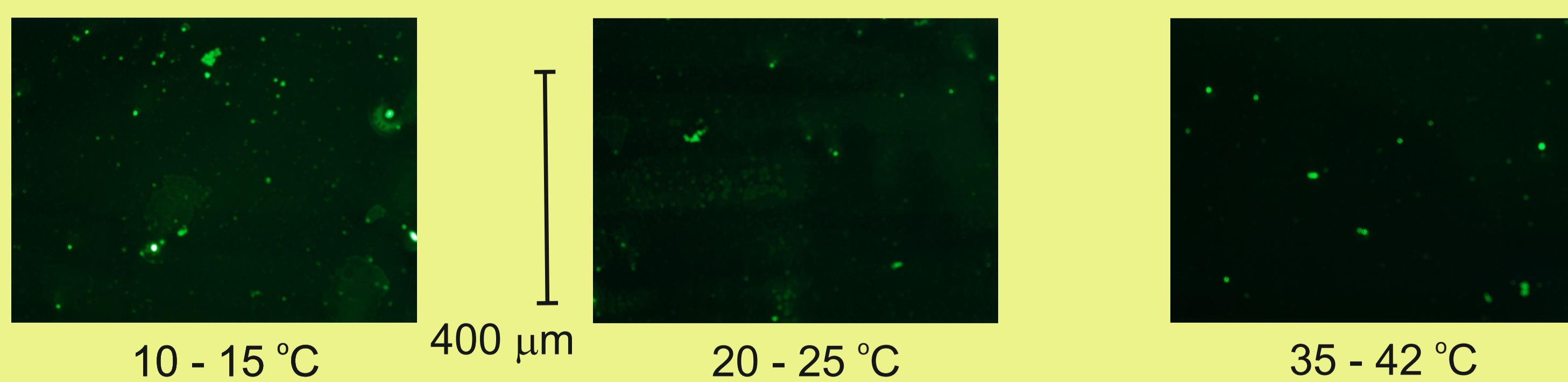
Orientación celular

Se observa cierta orientación celular, particularmente para agregados con un número significativo de células. las células en forma colectiva sensan y responden a los cambios en las características de las películas.



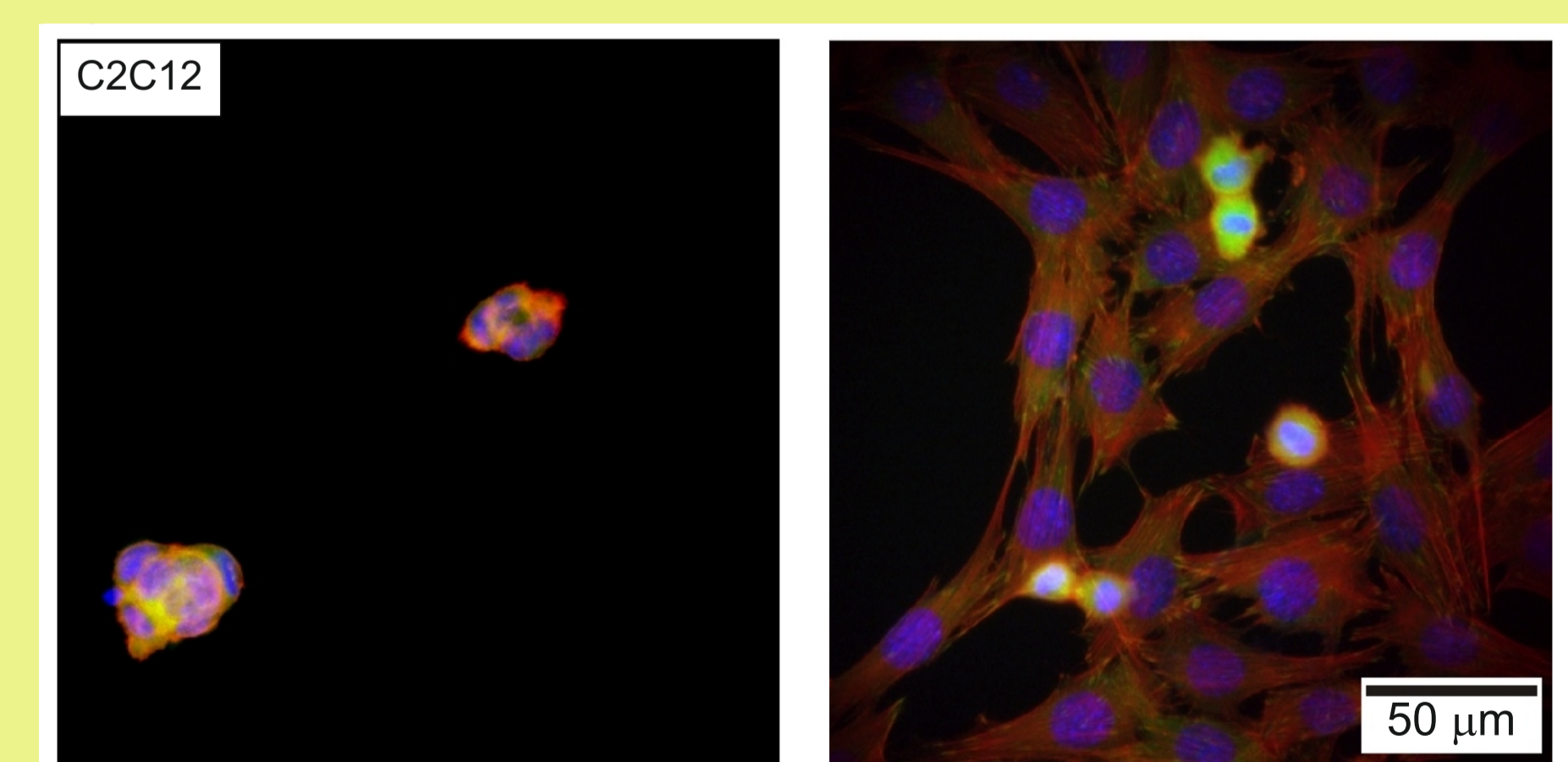
Pegado de proteínas BSA fluorescente

La proteína albúmina de suero bovino, BSA, es una proteína antiadherente. Se observa que la cantidad adsorbida sobre la película disminuye en las zonas sometidas a mayor temperatura.



Inmunofluorescencia

Sobre los sustratos recocidos se observan uniones focales desarrolladas.



Discusión

La aplicación de gradientes de temperatura estables por medio del arreglo experimental propuesto permite generar películas de PLL/Alg con propiedades fisicoquímicas localmente controladas que son sensadas por las células. La posibilidad de generar estos gradientes aumenta el mimetismo de estos materiales con respecto al entorno celular real.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Dr. Pedro Gonzáles y la Sra. S. Bibé de la Cátedra de Patología B de La Facultad de Ciencias Médicas, UNLP.

