

EVALUACIÓN DE BIOCOMPATIBILIDAD DE HIDROGELES DE QUITOSANO FUNCIONALIZADO PARA NEURO-REPARACIÓN

Doddy Denise Ojeda Hernández^a, Alejandro Arturo Canales Aguirre^b, Ulises Gómez Pinedo^c, Juan Carlos Mateos Díaz^a. ^aUnidad de Biotecnología Industrial, CIATEJ A. C., Zapopan, 45019. ^bUnidad de Biotecnología Médica y Farmacéutica, CIATEJ A. C., Guadalajara, 44270. ^cLaboratorio de Medicina Regenerativa, IdISSC, Madrid, 28040. jcmateos@ciatej.mx

Palabras clave: Hidrogel, quitosano funcionalizado, neuro-reparación

Introducción. El quitosano es un polisacárido que consiste en unidades de N-glucosamina y N-acetil-glucosamina unidas por enlaces β -(1-4) y que cuenta con propiedades biomédicas de interés como biocompatibilidad, biodegradabilidad, actividad antimicrobiana y capacidad para formar hidrogeles. Así mismo, su capacidad de adhesión celular y de mimetizar la función de la matriz extracelular hace que los biomateriales de quitosano tengan gran potencial para la regeneración de tejido (1). En años recientes se ha implementado la funcionalización de este polímero para mejorar sus características mecánicas y modular sus propiedades biológicas (2).

En el presente trabajo se evaluó la biocompatibilidad *in vitro* e *in vivo* de hidrogeles de quitosano funcionalizado con ácido ferúlico (AF) y ácido succínico (ASu), con la finalidad de conocer su potencial como andamiaje para la reparación de lesiones en el sistema nervioso.

Metodología. Se unieron los sustituyentes al grupo amino (-N) e hidroxilo (-O) de la estructura del quitosano mediante esterificación de Steglich, empleando EDC como agente entrecruzante. Los hidrogeles obtenidos se analizaron empleando Ninhidrina y mediante FTIR. La biocompatibilidad *in vitro* se cuantificó mediante el ensayo MTT tras el contacto de los hidrogeles y las células L929 o células madre mesenquimales (MSC). La biocompatibilidad *in vivo* se evaluó en ratas *Wistar* con un modelo de lesión e implante en la corteza cerebral y se analizó por inmunohistoquímica empleando los anticuerpos anti-GFAP, anti-Iba1 y anti-NF/NeuN.

Resultados. Se obtuvieron hidrogeles de quitosano funcionalizado, cuyo grado de unión en el grupo amino de la estructura del quitosano fue variable según el sustituyente empleado, mostrando el mayor grado de unión con AF (Tabla 1).

Tabla 1. Unión de los sustituyentes en el grupo amino del quitosano

	Funcionalización en N (%)	Error (%)
AF -N	92.9	0.0693
AF -N, -O	81.6	0.0120
ASu -N	50.5	0.152
ASu -N, -O	53.7	0.0728
AF -N / ASu -N,-O	41.2	0.111
AF -N,-O / ASu -N	41.2	0.109

Los hidrogeles fueron analizados por FTIR mostrando la aparición de señal a 1730 cm^{-1} correspondiente al enlace C=O de éster, con lo que se corroboró la unión en el grupo hidroxilo del quitosano (datos no mostrados en este resumen).

Se observó una viabilidad celular cercana al 100% para todos los hidrogeles evaluados con MSC, mientras que sobre las células L929 se encontró un aumento de la proliferación (Fig. 1).

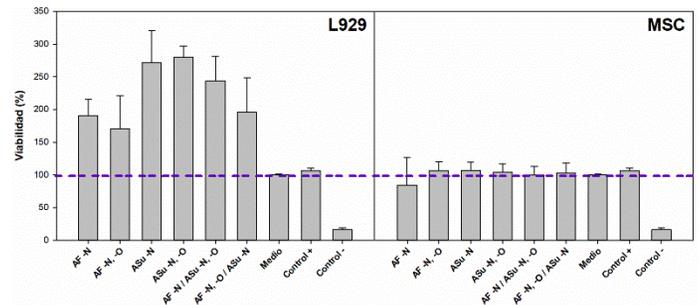


Fig. 1. Porcentaje de viabilidad de las células L929 y células madre mesenquimales (MSC) cultivadas en contacto con los hidrogeles de quitosano funcionalizado. Donde el 100 % es la viabilidad obtenida al cultivar las células en medio DMEM. Como control positivo se utilizó Matrigel (Control +) y como control negativo DMSO 10% (Control -).

El aumento en viabilidad *in vitro* fue mayor tras el contacto con los hidrogeles que contenían más ASu como sustituyente. En éstos mismos, se observó una menor señal de GFAP y microglía, así como mayor señalización correspondiente a neuronas y neurofilamentos tras la implantación *in vivo* (Fig. 2).

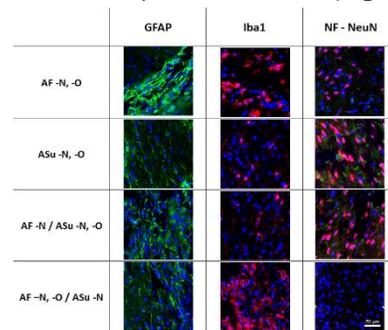


Fig 2. Imágenes representativas de inmunohistoquímica mostrando la proteína fibrilar ácida de la glia (GFAP) en verde, microglía (Iba1) en rojo y neurofilamentos y núcleos neuronales en verde y rojo, respectivamente (NF-NeuN). Escala = 50 micras

Conclusiones. Los hidrogeles de quitosano funcionalizado con ASu favorecieron la proliferación celular *in vitro* y mostraron mayor biocompatibilidad *in vivo*, lo que sugiere su potencial para su futura evaluación en un modelo neuroregenerativo.

Agradecimientos. A CONACYT por las becas otorgadas con No. Registro Becario 634170. Al proyecto de Atención a Problemas Nacionales 2017-01-6267 por el financiamiento.

Bibliografía.

- Nawrotek, K. et al. (2017). *J. Biomed. Mater. Res. A.* 105 (7): 2004-2019.
- Pellá, M.C.G. et al. (2018). *Carbohydr. Polym.* 15 (196):233-245.

