

Efecto de la polilisina y N-acetilcisteína sobre mantas de policaprolactona en cultivo celular

BUSI, Aldana ¹; ARGANARAZ AYBAR, Julio ⁴; KOZUSZKO, Silvia ¹
MONSALVE, Leandro ³; RODRIGUEZ, Andrea ^{1,2}

¹ Universidad Nacional de Tucumán, Facultad de Ciencias Exactas y Tecnología, Departamento de Bioingeniería.

² Instituto Superior de Investigaciones Biológicas (INSIBIO), Universidad Nacional de Tucumán - CONICET.

³ INTI Textiles, Av. General Paz 5445, San Martín, Buenos Aires, Argentina.

⁴ Universidad Nacional de Tucumán, Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia.

Resumen

El objetivo del trabajo fue desarrollar y evaluar la eficacia de scaffolds de policaprolactona (PCL) con sustancia antioxidante en cultivo primario de glóbulos blancos, que promueven la formación de cicatrices gliales. Se utilizaron scaffolds de fibras paralelas de PCL mediante electrospinning, biofuncionalizados con polilisina (P) y N-acetilcisteína (NAC) para controlar la adhesión y proliferación celular. Estos fueron caracterizados mediante microscopía electrónica de barrido, ángulo de contacto y en cultivo celular primario. Los resultados mostraron que los scaffolds funcionalizados con P favorecieron la adhesión y proliferación de células inflamatorias, mientras que aquellos con P y NAC las redujeron.

Palabras clave: Ingeniería de tejidos, Sustancias antiinflamatorias, Tratamientos superficiales.

Effect of polylysine and N-acetylcysteine on polycaprolactone mats in cell culture

Abstract

The objective of this work is to develop and evaluate the efficacy of polycaprolactone (PCL) scaffolds with antioxidant substances in primary white blood cells cultures, which promote the formation of glial scars. Electrospun PCL scaffolds of parallel fibers were used and biofunctionalized with polylysine (P) and N-acetylcysteine (NAC) to control cell adhesion and proliferation. They were characterized by scanning electron microscopy, contact angle measurements and primary cell cultures. Results showed that scaffolds functionalized with P favored the adhesion and proliferation of inflammatory cells, while those with P and NAC reduced them.

Keywords: Tissue engineering, Anti-inflammatory substances, Surface treatments.

Introducción

Este trabajo surge de la intersección de dos campos de estudio: la Bioingeniería y la Ingeniería de Tejidos, con un propósito significativo: mejorar la calidad de vida de las

personas. El objetivo central de esta investigación es aplicar principios de ingeniería y ciencias de la vida para avanzar y contribuir en la búsqueda de soluciones a un problema patológico que hasta ahora ha presentado

opciones de tratamiento muy limitadas: las lesiones medulares.

La lesión de la médula espinal (LM) representa un importante problema de salud que puede conducir a discapacidades temporales o permanentes, así como a múltiples complicaciones secundarias, Talac et al. (2004). Las secuelas de una LM son devastadoras, provocando déficits neurológicos de larga duración que afectan al sistema nervioso motor, sensorial y autónomo por debajo del nivel de la lesión. Además, estas secuelas conllevan enormes cargas psicológicas, sociales y económicas.

La fisiopatología de la LM implica procesos primarios y secundarios que ocurren desde el momento de la lesión hasta dos años después, Ballesteros et al. (2012). En el área afectada se forma una cicatriz glial, que se compone de macrófagos que se originan en la médula ósea y se acumulan en el centro del tejido dañado. Los astrocitos y microglías residentes se localizan en el borde de la lesión, formando una barrera que inhibe la regeneración axonal funcional, Ren et al (2014); Orr y Gensel (2018). La inhibición del crecimiento por parte de la cicatriz glial se considera el mayor obstáculo para la regeneración neuronal. Además, estos procesos indican que la LM no es estática, ya que pueden surgir disfunciones neurológicas secundarias, como la formación de quistes y siringes, que se desarrollan durante la maduración de la lesión, Ren et al (2014).

El tratamiento de la LM, basado en el conocimiento actual de los mecanismos de lesión, ha buscado desarrollar intervenciones terapéuticas tempranas que mitiguen los efectos de estos mecanismos fisiopatológicos secundarios. Sin embargo, hasta la fecha, no se ha identificado ninguna intervención significativa.

Este trabajo tiene como objetivo evaluar la eficacia de scaffolds poliméricos, fabricados mediante electrospinning y funcionalizados con una sustancia antiinflamatoria, en la reducción de células inflamatorias en cultivos celulares primarios de sangre, así como caracterizar físicamente dichos scaffolds. Para el análisis, se cultivaron glóbulos blancos polimorfonucleares (PMN) y mononucleares (MN) de forma aislada y sobre diferentes

scaffolds: policaprolactona (PCL), PCL con polilisina (PCL-P) y PCL con polilisina y N-acetilcisteína (PCL-P-NAC). La evaluación se llevó a cabo mediante tinción con colorante Giemsa, lo que permitió visualizar la distribución y morfología de las células adheridas. Posteriormente, se realizó un recuento manual para obtener datos cuantitativos sobre la cantidad de células adheridas a las superficies. Finalmente, se evaluó la viabilidad y citotoxicidad celular mediante un ensayo con XTT.

Materiales y métodos

Fabricación de scaffolds

Los scaffolds utilizados en este estudio fueron fabricados en el Centro de Textiles del Instituto Nacional de Tecnología Industrial (INTI) utilizando un equipo de electrospinning Y-flow electrospinner 2.2, D-500, según lo descrito por Molinari et al. (2018). Se preparó una solución de policaprolactona (PCL) con un peso molecular de 80,000 (Sigma-Aldrich) al 18% m/v para el proceso de electrospinning. Los parámetros utilizados fueron: distancia aguja-colector de 26 cm; velocidad de flujo de la solución de 1 ml/h; y un colector de tambor rotatorio a 500 rpm para producir fibras alineadas. La configuración incluyó dos fuentes de alto voltaje: una en la aguja, entre +6 y +12 kV, y otra en el colector, entre -15 y -17 kV. Los parámetros ambientales se controlaron durante todo el procedimiento.

Modificación superficial de scaffolds

Los scaffolds fueron modificados según lo descrito en la Figura 1.

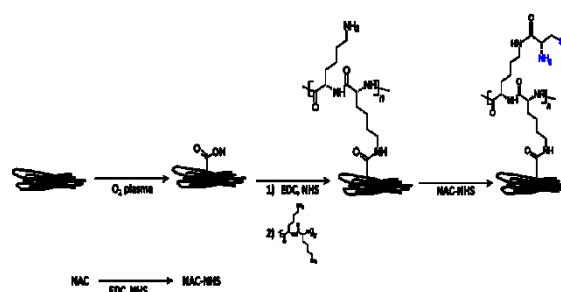


Figura 1: Pasos de funcionalización de los scaffolds de PCL electrohilados.

Tratamiento con plasma de oxígeno: las muestras fueron tratadas con plasma de oxígeno para aumentar su hidrofilicidad y generar grupos funcionales para el anclaje covalente de la P y la NAC. Se utilizó un equipo Diener del INTI bajo las siguientes condiciones: presión de 0,8 mBar, flujo de oxígeno de 10 sccm, tiempo de tratamiento de 1 minuto y temperatura de 20°C.

Inmovilización de P y NAC: se utilizó EDC 0,1 M (N-(3-Dimethylaminopropyl)-N-ethylcarbodiimide), NHS 25 mM (N-Hydroxysuccinimide) y PBS (Solución salina tamponada con fosfato). Por su parte, los scaffolds de PCL con Polilisina y N-Acetilcisteína (PCL-P-NAC) se fabricaron inmovilizando covalentemente la NAC utilizando el método de carbodiimida según Garate et al. (2018). Se empleó un espaciador de polilisina y se realizó la oxidación utilizando EDC y NHS.

Caracterización fisicoquímica

Microscopía electrónica de barrido (SEM)

La morfología de los scaffolds y el diámetro de las fibras en los diferentes grupos se analizaron mediante observaciones con Microscopía Electrónica de Barrido. Se realizaron mediciones de fibras seleccionadas de manera aleatoria utilizando un equipo FEI QUANTA 250, ubicado en el Instituto Nacional de Tecnología Industrial (INTI). Los grupos evaluados fueron: PCL, PCL-P y PCL-P-NAC tratados con tratamiento de plasma.

Humectabilidad: medición del ángulo de contacto

La evaluación del ángulo de contacto se llevó a cabo mediante el análisis del contorno de la gota en condiciones ambientales normales. La forma de la gota fue examinada ópticamente, según se describe en el estudio de Felice (2017). Para capturar las imágenes, se utilizó la cámara de un teléfono Samsung A12 con una resolución de 48 MP, colocada a una distancia focal de 28 mm. Los scaffolds se colocaron sobre una superficie plana iluminada con una bombilla incandescente de 40W y un difusor de luz de papel finlandés, posicionados entre la muestra y la cámara.

Se aplicó una gota de agua destilada (10 µL) sobre la superficie de cada muestra y se

capturaron las imágenes después de un intervalo de 10 segundos. Posteriormente, las imágenes fueron procesadas utilizando el software Image J para medir el ángulo de contacto. Se realizó un análisis estadístico para verificar diferencias significativas entre las muestras, utilizando el software InfoStat mediante el Método de Tukey con un nivel de significación "p" de 0,05. Se evaluaron tres especímenes de cada uno de los grupos tratados con plasma (PCL, PCL-P y PCL-P-NAC) y se incluyó un grupo de PCL sin tratamiento de plasma como grupo control.

Cultivo celular

Para el diseño de los scaffolds para cultivo celular, se incorporó un soporte de polietilentereftalato (PET) de 0,125 mm de espesor sobre el tambor rotatorio del electrospinning, lo cual facilitó la manipulación y redujo el riesgo de daño y el consumo de reactivos. Las fibras de PCL se recolectaron en láminas de PET y se cortaron con un plotter de corte láser de CO₂ a las dimensiones necesarias para las placas de cultivo. Los scaffolds fueron esterilizados sumergiéndolos en etanol al 70% durante 20 minutos, seguidos de exposición a radiación ultravioleta (UV) durante 15 minutos por lado, y finalmente secados a temperatura ambiente en una Cámara de Seguridad Biológica Clase II/A-B3.

Los Leucocitos se obtuvieron a partir de sangre periférica recolectada por punción venosa de un donante sano. Mediante la técnica de Ficoll Hypaque y centrifugación, se formaron capas de eritrocitos con polimorfonucleares, Ficoll, mononucleares y plasma. Se recolectaron las células MN y PMN de las capas correspondientes. Los eritrocitos remanentes se eliminaron por lisis osmótica con agua destilada estéril en frío. Ambos tipos celulares se cultivaron en medio RPMI 1640-HEPES y suero fetal bovino. La densidad celular se determinó utilizando Trypan Blue Stain (0,4%) y una cámara de Neubauer, obteniéndose $4,5 \times 10^6$ células/ml para MN y $1,96 \times 10^7$ células/ml para PMN.

Los glóbulos blancos se cultivaron en placas de 24 pocillos con los diferentes grupos de estudio, agregando la misma cantidad de células por pocillo para cada tipo celular: 0,5 ml para MN y

1 ml para PMN. Las placas se incubaron a 37,5°C durante 1 hora en una incubadora de CO₂ Heal Force, y las células se fijaron con 3 gotas de metanol por pocillo, permitiendo una exposición de 3 minutos antes de retirar el metanol.

Tres muestras de cada grupo fueron utilizadas para el cultivo de PMN y dos para MN. Los grupos experimentales incluyeron: PCL, PCL-P y PCL-P-NAC tratados con plasma de oxígeno. Adicionalmente, se incluyó un grupo control donde las células se cultivaron directamente sobre las placas de cultivo.

Tinción

Para lograr una visualización más clara de las células adheridas en los distintos grupos de estudio, así como de su distribución y morfología, se realizó la tinción de las muestras con el Colorante Giemsa. Se utilizó una dilución de 1 en 10 con agua destilada y se dejaron las muestras en contacto con la solución durante 15 minutos. Las imágenes de los diversos grupos de estudio se capturaron utilizando un microscopio invertido y el software ToupView, con magnificaciones de 10X y 40X.

Evaluación de la adherencia celular

Para evaluar la adherencia de células sobre los diferentes grupos de estudio, se realizó un conteo utilizando microfotografías adquiridas con un microscopio invertido a 10X con tinción Giemsa. El conteo se efectuó manualmente en un área de observación uniforme en todas las imágenes, empleando el software Image J. Las imágenes se dividieron en nueve cuadrantes, y se seleccionaron tres (superior izquierdo, centro, inferior derecho) para el conteo. Se calculó un promedio de los valores obtenidos para comparar la adhesión celular entre los grupos. Las diferencias significativas se verificaron mediante análisis estadístico con el Test de Tukey con un nivel de significación $p > 0.05$, utilizando el software InfoStat.

Ensayo de viabilidad celular

Para evaluar la viabilidad celular, se cultivaron glóbulos blancos sobre los scaffolds en microplacas de 96 pocillos utilizando el colorante XTT (3'-[1-(fenilamino carbonil)-3,4-tetrazolio]-bis(4-metoxi-6-nitro) bencenosulfónico hidrato de sodio). Se extrajo sangre humana y se separaron los glóbulos blancos mediante centrifugación para

prepararlos para el cultivo. Se sembraron 5×10^4 glóbulos blancos por pocillo y se añadieron 50 µl de XTT en cada pocillo. La placa se incubó a 37°C durante 1 hora y se midió la absorbancia del formazán formado a 450 nm usando un lector de microplacas (ELISA).

La viabilidad celular de cada tipo de scaffolds se determinó utilizando la fórmula (1), comparando con el grupo control en el que las células se cultivaron directamente sobre la placa de cultivo.

$$\text{Viabilidad} = (\text{media de la absorbancia del grupo experimental} / \text{media de la absorbancia del grupo control}) * 100\% \quad (1)$$

Se prepararon dos muestras de cada grupo: PCL, PCL-P y PCL-P-NAC tratados con plasma. Adicionalmente, se incluyó un grupo control donde las células se cultivaron directamente sobre la placa de cultivo y un grupo Blank que contenía únicamente medio de cultivo DMEM.

Resultados y discusión

Caracterización fisicoquímica

Microscopía electrónica de barrido (SEM)

La morfología de los scaffolds y el diámetro de las fibras fueron evaluados mediante SEM a bajos y altos aumentos. Las imágenes obtenidas de este proceso se presentan en la Figura 2.

Los resultados del estudio evidenciaron la eficacia de utilizar un tambor rotatorio en el equipo de electrospinning para lograr una orientación alineada de las fibras. Se observó una gran cantidad de fibras, las cuales son homogéneas en diámetro y presentan una forma lineal y paralela, con superficie lisa. Además, los resultados mostraron que el diámetro promedio de las fibras electrohiladas es de aproximadamente 460 nm. Estas mediciones caen dentro de un rango adecuado para aplicaciones en ingeniería de tejido nervioso, ya que los diámetros de las fibras de la matriz extracelular suelen variar entre varios micrones y varios cientos de nanómetros, y los de los axones, entre 300 nm y 20 µm para la médula espinal humana, según lo reportado en la literatura por Li et al. (2022).

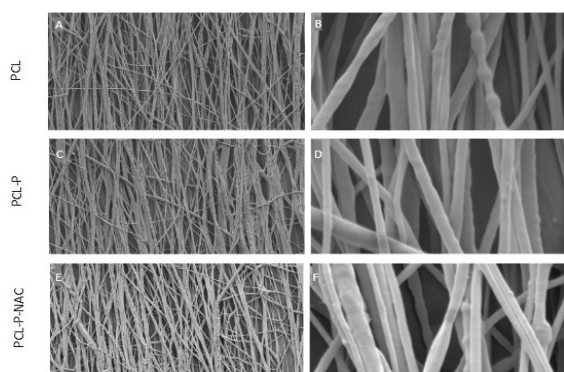


Figura 2: Microfotografías electrónicas de barrido mostrando la morfología de los scaffolds. Obsérvese claramente que las fibras son homogéneas en diámetro y se encuentran orientadas de manera paralela. A, C, E: 5.00 K X; B, D, F: 50.00 K X.

Humectabilidad: medición del ángulo de contacto

La Figura 3 ilustra las medias correspondientes a cada grupo de estudio junto con sus respectivas desviaciones estándar y su análisis estadístico.

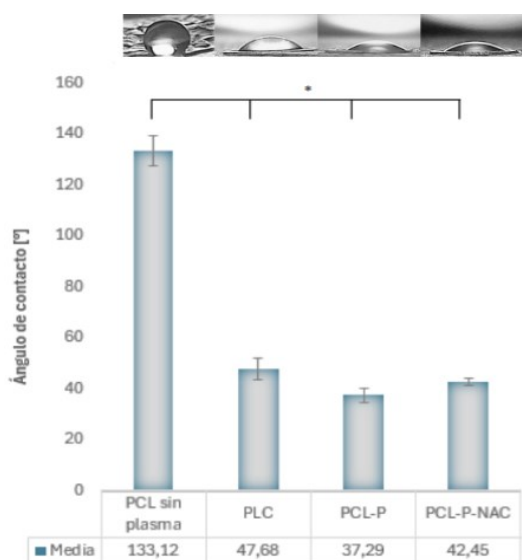


Figura 3: Medias de los ángulos de contactos de los diferentes grupos de estudio y sus desviaciones estándar. Los grupos PCL, PCL-P y PCL-P-NAC fueron tratados con plasma. Nota: La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05. Muestras con el símbolo * son significativamente diferentes entre sí.

En este ensayo, se analizó el impacto del tratamiento con plasma de oxígeno en diferentes grupos, evaluando cómo afecta a la hidrofiliicidad mediante la medición de los ángulos de contacto. La interpretación de estos resultados se basa en una clasificación convencional: un ángulo de 0° indica una completa humectación, ángulos entre 0° y 90° denotan una superficie mojable e hidrófila, ángulos entre 90° y 180° indican una superficie no mojable e hidrofóbica, y cuando el ángulo se acerca a 180° , la superficie se caracteriza como ultra hidrofóbica.

Los resultados muestran una marcada disminución en los ángulos de contacto de los grupos tratados con plasma en comparación con el grupo de control sin tratamiento, lo que evidencia una mejora significativa en la hidrofiliicidad de las superficies tratadas. Los valores del grupo de control se encuentran en el rango hidrofóbico, confirmando la naturaleza repelente a los líquidos de la PCL antes del tratamiento con plasma. La introducción de polilisina (P) y N-acetilcisteína (NAC) en los scaffolds resultó en ángulos de contacto aún menores, indicando un aumento notable en la mojabilidad de la superficie y sugiriendo un potencial interés en estas modificaciones para mejorar la capacidad de mojado en aplicaciones específicas.

El análisis estadístico de los resultados se complementa con la observación de la morfología de la gota. En superficies muy hidrofílicas, como en el caso de PCL-P y PCL-P-NAC, el agua tiende a dispersarse ampliamente. En cambio, en superficies hidrofóbicas, como el PCL sin plasma, la gota mantiene el menor contacto posible con la superficie.

Estos resultados respaldan la efectividad del tratamiento con plasma de oxígeno en la modificación de las propiedades de hidrofiliicidad de las superficies, con hallazgos similares a los reportados por Gibson et al. (2007) y Praveen et al. (2016). La mejora en la hidrofiliicidad influye directamente en la adhesión celular, un factor crucial para la regeneración de tejidos dañados.

Cultivo celular

Tinción

En las Figuras 4 y 5 se presentan las imágenes obtenidas mediante microscopio invertido, capturadas tanto a bajos como a altos aumentos.

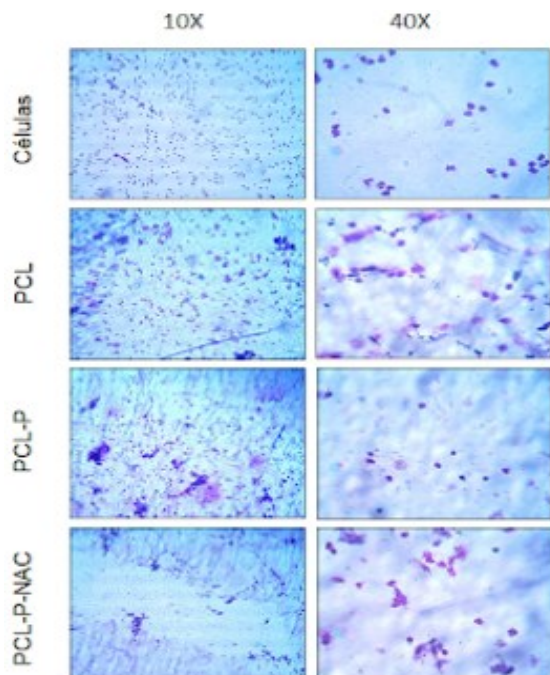


Figura 4: Microfotografías obtenidas del cultivo celular de células polimorfonucleares, capturadas a 10X y 40X, utilizando el colorante Giemsa.

Los resultados obtenidos al analizar la distribución celular en las imágenes capturadas a 10X revelaron varios aspectos importantes. En los cultivos con polimorfonucleares, principalmente neutrófilos, se observó cualitativamente un incremento en la cantidad de células en los grupos que contenían polilisina en comparación con aquellos que no la contenían. Esto sugiere que la polilisina mejora la adherencia y proliferación celular. Por otro lado, en los grupos con N-acetilcisteína, se evidenció una disminución en el número de células, posiblemente debido a las propiedades antiinflamatorias de la N-acetilcisteína sobre células proinflamatorias como los neutrófilos presentes en este grupo celular.

En el caso del cultivo con células MN, que incluyen monocitos y linfocitos, se observó un incremento en el número de células en los grupos con polilisina, similar a los resultados obtenidos con PMN. Sin embargo, los grupos

con N-acetilcisteína no mostraron una disminución considerable en el número de células, lo que podría indicar que los monocitos tienen características antiinflamatorias o proinflamatorias según el medio y las condiciones de cultivo.

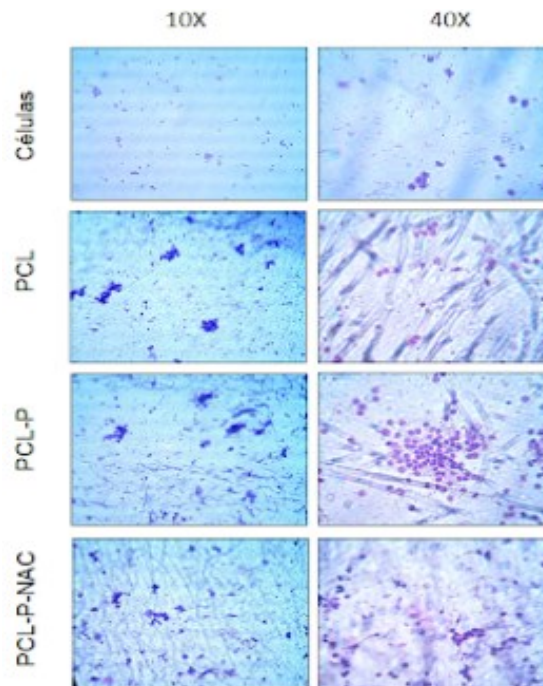


Figura 5: Microfotografías obtenidas del cultivo celular de células mononucleares, capturadas a 10X y 40X, utilizando el colorante Giemsa.

La evaluación de la morfología celular a un aumento de 40X mostró que las células sembradas en las diferentes superficies de scaffolds no presentaron cambios significativos en comparación con aquellas sembradas solo con el medio de cultivo. Este hallazgo sugiere que las sustancias presentes en los scaffolds no interfieren negativamente con la adhesión y crecimiento celular. Además, esto respalda la citocompatibilidad de las sustancias en las membranas, sugiriendo que podrían ser una opción viable para aplicaciones biológicas.

Evaluación de la adherencia celular

Los resultados de la evaluación cuantitativa de la adherencia de las células sanguíneas cultivadas en la superficie, junto con su análisis mediante el Método de Tukey, se presentan de manera visual en las Figuras 6 y 7.

Los resultados de este estudio revelan interacciones significativamente distintas entre

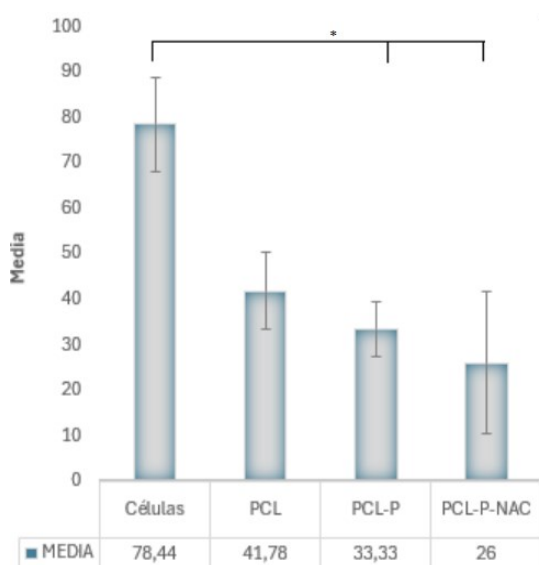


Figura 6: Media del conteo celular en los diferentes grupos de estudio, utilizando células PMN de la sangre y sus desviaciones estándares. Nota: Muestras con * son significativamente diferentes entre sí con $p > 0.05$.

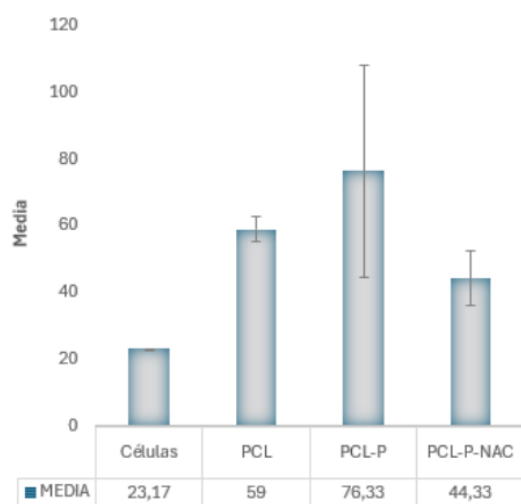


Figura 7: Media del conteo celular en los diferentes grupos de estudio, utilizando células mononucleares de la sangre y sus desviaciones estándares. Nota: No hay muestras que difieran significativamente entre sí con $p > 0.05$.

los diferentes grupos y las células polimorfonucleares, predominantemente

compuestas por neutrófilos con características inflamatorias. Notablemente, se observó una reducción en la adhesión celular de células inflamatorias sanguíneas en PCL-P-NAC, lo cual era esperado considerando las propiedades antiinflamatorias documentadas de la NAC. Estudios previos respaldan la capacidad de la NAC para reducir de manera significativa la respuesta inflamatoria local y desempeñar un papel crucial en retrasar su desarrollo, como se menciona en el trabajo de Sevillano (2014).

Por otro lado, los resultados derivados del análisis de los grupos cultivados con células mononucleares revelaron un aumento en la adhesión celular en PCL-P, lo que demuestra la influencia positiva de la polilisina en la adherencia celular. Sin embargo, a diferencia de los resultados observados con los polimorfonucleares, no se encontraron diferencias significativas entre los distintos grupos. Esta falta de significancia podría atribuirse al tamaño muestral insuficiente, lo que limita la capacidad de establecer conclusiones concluyentes sobre el efecto modulador de la NAC en estas células.

La disparidad en los resultados entre células PMN y MN podría asociarse al papel dual de los monocitos, que pueden actuar como macrófagos M1 o M2, es decir, como células proinflamatorias y antiinflamatorias, respectivamente, según el microambiente circundante y las condiciones específicas. Esta complejidad sugiere que el efecto antiinflamatorio de la NAC sobre los monocitos podría no manifestarse de manera evidente en esta configuración experimental.

Ensayo de viabilidad celular por XTT

Los porcentajes de viabilidad celular obtenidos en cada grupo de estudio se presentan en la Tabla 1.

Los resultados demostraron que el grupo PCL, tratado con plasma, por sí solo presenta un menor porcentaje de viabilidad celular que el resto de los grupos, lo que sugiere un ligero efecto negativo de la misma. En cambio, la introducción de polilisina mostró un impacto positivo, aumentando el porcentaje de viabilidad y sugiriendo una contribución beneficiosa en la interacción celular. La presencia de NAC en el grupo PCL-P-NAC

podría desempeñar un papel en la mejora de la viabilidad celular, aunque ligeramente inferior al grupo PCL-P. Comparaciones con estudios previos respaldan la favorable proliferación celular en membranas con NAC, posiblemente atribuible a la tasa de liberación lenta de NAC, como se reporta en el estudio de Mahumane et al. (2020).

Tabla 1: Viabilidad celular con cultivo de glóbulos blancos (media \pm desviación estándar, $n=2$). Nota: Dado el tamaño muestral reducido, los resultados deben considerarse preliminares y no permiten establecer conclusiones estadísticas concluyentes.

Grupo	Media	Viabilidad (%)	Desviación Estándar
Células	0,422	100	0,085
PCL	0,275	65,284	0,016
PCL-P	0,313	74,171	0,015
PCL-P-NAC	0,307	72,749	0,013

El porcentaje de viabilidad celular se reportó en relación al grupo control. De acuerdo con la norma ISO 10993-5, las membranas se clasifican como débilmente citotóxicas con valores de viabilidad por debajo del 80%. Sin embargo, el tamaño muestral limitado impide hacer afirmaciones concluyentes.

Conclusiones

La fabricación de scaffold mediante la técnica de electrospinning usando un colector rotatorio, permite la obtención de fibras orientadas en forma paralela y con un diámetro adecuado para ingeniería tisular de tejido nervioso. En la funcionalización de los mismos mediante tratamiento con plasma de oxígeno, se observó

una mayor hidrofiliidad, lo que podría facilitar una mayor degradabilidad, aunque esta hipótesis no fue evaluada en el presente trabajo.

Los scaffolds se evaluaron en relación con la adhesión de células inflamatorias presentes en la sangre. Los ensayos preliminares para la adhesión celular indicaron que las especies funcionalizadas con la adición de polilisina promovieron la adherencia y proliferación celular. En contraste, la N-acetilcisteína mostró propiedades antiinflamatorias que afectan la proliferación de neutrófilos. También se observaron diferencias en la adherencia de células mononucleares, aunque estas no fueron estadísticamente significativas, lo que resalta la dualidad de los monocitos en su respuesta inflamatoria y la limitación del tamaño muestral para confirmar estos hallazgos. La morfología celular no presentó cambios significativos, lo que respalda la compatibilidad de las sustancias en los scaffolds.

En cuanto a la citotoxicidad celular, los scaffolds se evaluaron mediante el ensayo colorimétrico con XTT. Los resultados sugieren una buena citocompatibilidad de los componentes empleados y no evidenciaron liberación evidente de sustancias tóxicas. Sin embargo, debido al tamaño muestral limitado ($n=2$), estos resultados deben considerarse preliminares y no permiten establecer conclusiones definitivas.

En conjunto, estos resultados sugieren un potencial prometedor de los scaffolds funcionalizados con sustancias antiinflamatorias para reducir la inflamación y la formación de cicatrices gliales en pacientes con lesión medular. Estas características podrían aumentar el potencial de aplicación de estos scaffolds en el desarrollo de dispositivos biomédicos para la regeneración del tejido nervioso, destacando su viabilidad para futuros tratamientos en la ingeniería de tejidos.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por PIP 2022 (CONICET), PIUNT E741 de la Secretaría de Ciencia, Arte e Innovación Tecnológica (SCAIT, UNT) y el INTI. Además, se agradece el aporte científico realizado en este trabajo al Dr. Juan Carlos Valdez.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ballesteros Plaza, V., Marré Pacheco, B., Martínez Aguilar, C., Fleiderman Valenzuela, J., Zamorano Pérez, J.J., Plaza, V.B., Pacheco, B.M., Aguilar, C.M., Valenzuela, J.F. & Pérez, J.J.Z. (2012). "Lesión de la médula espinal: actualización bibliográfica: fisiopatología y tratamiento inicial", *Coluna/Columna*, Vol. 11, pp. 73-76. <https://doi.org/10.1590/S1808-18512012000100014>

Felice, B. (2017). Estudio comparativo de nanoestructuras de ZnO para la preparación de scaffolds para ingeniería de tejido óseo. Tesis doctoral, universidad Nacional de Tucumán.

Garate, O., Veiga, L., Medrano, A.V., Longinotti, G., Ybarra, G., & Monsalve, L.N. (2018). "Waterborne carbon nanotube ink for the preparation of electrodes with applications in electrocatalysis and enzymatic biosensing", *Materials Research Bulletin*, Vol. 106, pp. 137-143. <https://doi.org/10.1016/j.materresbull.2018.05.015>

Gibson, J., Lasorsa, C., & Hermida, É.B. (2007)., "Modificación de la hidrofiliidad del biopolímero PHBV mediante tratamiento superficial con plasma".

International Organization for Standardization (ISO) (2009). ISO 10993-5:2009 - Biological evaluation of medical devices—Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity. [online] Available at: <https://www.iso.org/standard/36406.html>.

Li, Y., Dong, T., Li, Z., Ni, S., Zhou, F., Alimi, O.A., Chen, S., Duan, B., Kuss, M. & Wu, S. (2022). Review of advances in electrospinning-based strategies for spinal cord regeneration. *Materials Today Chemistry*, 25, 100972.

Mahumane, G.D., Kumar, P., Pillay, V. & Choonara, Y.E. (2020). "Reposicionamiento de N-acetilcisteína (NAC): andamiaje de administración de fármacos electrohilado cargado con NAC para una posible aplicación en ingeniería de tejidos neuronales", *Pharmaceutics*, Vol. 12, No. 10, pp. 934. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12100934>

Molinari, F., Medrano, A.V., Bacigalupe, A., Escobar, M.M., & Monsalve, L.N. (2018). "Different dispersion states of MWCNT in aligned conductive electrospun PCL/MWCNT composites", *Fullerenes, Nanotubes and Carbon Nanostructures*, Vol. 26(10), pp. 667-674.

Orr, M.B., & Gensel, J.C. (2018). "Spinal Cord Injury Scarring and Inflammation: Therapies Targeting Glial and Inflammatory Responses Introduction: Glial Effectors of Spinal Cord Injury Scarring and Inflammation", *Neurotherapeutics*, pp. 1-13. <https://doi.org/10.1007/s13311-018-0631-6>

Praveen, K.M., Thomas, S., Grohens, Y., Mozetic, M., Junkar, I., Primc, G., & Gorjanc, M. (2016). "Investigations of plasma-induced effects on the surface properties of lignocellulosic natural coir fibers", *Applied Surface Science*, Vol. 368, pp. 146-156.

Ren, Y., Zhou, X. & He, X. (2014). Function of microglia and macrophages in secondary damage after spinal cord injury. *Neural Regeneration Research*, 9, pp.1787–1795. doi:10.4103/1673-5374.143423

Sevillano Marcos, S.M. (2004). "Contribución de la generalidad de radicales libres de oxígeno en la pancreatitis aguda inducida por obstrucción bilio-pancreática: Estudio del efecto de la N-acetilcisteína", Universidad de Salamanca (España).


Talac, R., Friedman, J.A., Moore, M.J., Lu, L., Jabbari, E., Windebank, A.J., Currier, B.L., & Yaszemski, M.J. (2004). "Animal models of spinal cord injury for evaluation of tissue engineering treatment strategies", *Biomaterials*, Vol. 25, pp. 1505-1510. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(03\)00497-6](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(03)00497-6)

Este trabajo se realizó en el periodo 2023-2024, en la Facultad de Ciencias Exactas y Tecnología- Universidad Nacional de Tucumán, en el marco de la tesina de grado para obtener el título de Ingeniera Biomédica de Aldana Busi, cuya dirección estuvo a cargo de la Dra. Andrea Rodriguez y la codirección del Dr. Leandro Monsalve y Lic. Julio Argañaraz Aybar.

AUTORES

BUSI, Aldana

Ingeniera Biomédica egresada de la Facultad de Ciencias Exactas y Tecnología de la Universidad Nacional de Tucumán. Auxiliar Docente Graduado de la carrera de Ingeniería Biomédica de la FACET-UNT.

ORCID  0009-0000-6060-6993

ARGANARAZ AYBAR, Julio


Licenciado en Biotecnología egresado de la Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia de la Universidad Nacional de Tucumán FBQF-UNT. Jefe de Trabajos Prácticos de la cátedra de Inmunología FBQF-UNT.

KOZUSZKO, Silvia

Odontóloga egresada de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Tucumán. Magíster en investigación en ciencias de la Salud otorgado facultad de Medicina UNT. JTP en la cátedra de Anatomía y fisiología Patológicas FOUNT

MONSALVE, Leandro

Licenciado en Ciencias Químicas de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires. Doctor de la Universidad de Buenos Aires, área Química Orgánica (FCEN-UBA). Profesor Adjunto del Instituto de la Calidad Industrial de la Universidad Nacional de San Martín. Profesional Tramo A en INTI Textiles. Investigador Independiente de CONICET.

ORCID  0000-0001-9306-8618

RODRIGUEZ, Andrea

Odontóloga egresada de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Tucumán. Doctora en Ingeniería de Tejidos egresada de la Universidad de Okayama, Japón. Profesor Adjunto de la carrera de Ingeniería Biomédica de la FACET-UNT. Investigador Adjunto del INSIBIO-CONICET.

aprodriguez@herrera.unt.edu.ar ORCID  0000-0002-4904-6187