

# Interação de culturas celulares com suportes biopoliméricos para aplicações biomédicas

Renata Aparecida Nedel Pértile

Mestranda – Universidade Federal de Santa Catarina.  
Florianópolis – SC [Brasil]  
renata@intelab.ufsc.br

Jarbas Mota Siqueira Jr.

Pós-doutorado – Universidade Federal de Santa Catarina.  
Florianópolis – SC [Brasil]  
jarbasms@farmaco.ufsc.br

Carlos Renato Rambo

Pós-doutorado/Professor colaborador – Universidade Federal  
de Santa Catarina.  
Florianópolis – SC [Brasil]  
rambo@enq.ufsc.br

Fernanda Vieira Berti

Mestranda – Universidade Federal de Santa Catarina.  
Florianópolis – SC [Brasil]  
fernanda@intelab.ufsc.br

Rosa Maria Ribeiro do Valle

Professora adjunta – Universidade Federal de Santa Catarina.  
Florianópolis – SC [Brasil]  
ribeiro@farmaco.ufsc.br

Luismar Marques Porto

Professor associado – Universidade Federal de Santa Catarina.  
Florianópolis – SC [Brasil]  
luismar@intelab.ufsc.br

O estudo das interações entre células e seu substrato na engenharia de tecidos é de grande importância para determinação das propriedades biológicas dos implantes. A adesão das células ao substrato influencia na morfologia, na proliferação e na viabilidade celular. Neste trabalho, foram avaliadas adesão, proliferação e viabilidade de fibroblastos de camundongo, linhagem L929, em suporte biopolimérico. Utilizaram-se membranas de celulose bacteriana como substrato para a avaliação *in vitro*. As células foram cultivadas sobre essas membranas em meio Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), suplementado com 10% de Soro Bovino Fetal (SBF), a 37°C, contendo 5% CO<sub>2</sub>. Para monitorar e avaliar o comportamento dessas células em distintos tempos de cultivos nas membranas, escolheram-se diferentes parâmetros celulares. Com base nessa experiência, observaram-se diferenças morfológicas significativas nas células. Os resultados evidenciaram boa adesão, crescimento, proliferação e viabilidade das células nas membranas utilizadas.

**Palavras-chave:** Dinâmica do crescimento celular.  
Engenharia de tecidos. Interação célula-biopolímero.  
Membrana de celulose bacteriana.



## 1 Introdução

A engenharia de tecidos envolve o desenvolvimento de novos materiais ou dispositivos capazes de interações específicas com os tecidos biológicos (CROCE et al., 2004). A expansão das pesquisas na engenharia de tecidos tem acentuado a busca de novas classes de polímeros biodegradáveis com bioatividade específica e controlável (MADIHALLY et al., 1999) que possam ser usados como suporte para culturas celulares – *scaffolds* (NEHRER et al., 1997). Nos últimos anos, grande variedade de biomateriais tem sido desenvolvida com diferentes propriedades físico-químicas e mecânicas, dependendo da aplicação biomédica prevista, o que inclui regeneração tecidual, sistemas de liberação de drogas, novos enxertos vasculares ou arcabouços para engenharia de tecidos *in vitro* e *in vivo* (CZAJA et al., 2007; SERRANO et al., 2004). O sucesso de um suporte utilizado em engenharia de tecidos depende, em parte, da adesão e do crescimento, na sua superfície, das células de interesse. A superfície química do material pode definir a resposta celular a ele e, dessa forma, afetar a adesão celular, a proliferação, a migração e função das células (BOYAN et al., 1996; DEE et al., 1998; LAUFFENBURGER et al., 1996). O material a ser implantado não pode ser rejeitado nem causar resposta inflamatória, devendo, portanto, apresentar biocompatibilidade. Além disso, espera-se que seja biodegradável, isto é, precisa promover a cura e a regeneração tecidual e ser biodegradado depois de servir a seu propósito (CHEN et al., 2005). A biocompatibilidade dos biomateriais está relacionada ao comportamento celular em contato com esses materiais e, particularmente, à adesão celular em sua superfície. O entendimento desse comportamento em biomateriais é essencial para otimizar a interação tecido-biomaterial. Além disso, a diversidade de respostas celulares a diferentes materiais evidencia a capacidade das células de

discriminar, quimicamente, o arcabouço e de se adaptar a ele (ANSELME, 2000). Portanto, a topografia, a química e a energia de superfície dos materiais são determinantes na adesão das células aos biomateriais, e as características de superfície condicionam o comportamento celular. As células em contato com uma superfície, primeiro, aderem a esses materiais, e a qualidade dessa adesão influenciará sua morfologia e sua capacidade de proliferação e diferenciação (ANSELME, 2000).

A celulose bacteriana tem sido desenvolvida e utilizada para diversas aplicações médicas, especialmente como curativo de ferimentos e substituto temporário de pele no tratamento de lesões, queimaduras, úlceras e enxertos, e como auxiliar em abrasões dérmicas (FONTANA et al., 1990; SANCHAVANAKIT et al., 2006). A celulose bacteriana é um polissacarídeo formado por um homopolímero linear de glicose  $(C_6H_{10}O_5)_n$  com  $n$  variando de 500 a 5000, excretado extracelularmente pela bactéria *Acetobacter xylinum* em longas nanofibras não-agregadas (CZAJA et al., 2007; MULLER et al., 2006). Segundo Svensson e colaboradores (2005), a celulose bacteriana tem potencial para ser utilizada como substrato na engenharia de tecidos por suas propriedades únicas que incluem alta capacidade de retenção de água (hidrofilicidade), alta cristalinidade, uma rede de fibras finas e alta resistência à tensão (NARITOMI et al., 1998; ROSS et al., 1991; WATANABE et al., 1998). A celulose bacteriana apresenta estrutura nanofibrilar que pode tornar-se matriz viável para a cura de lesões dérmicas (CZAJA et al., 2007). É também considerado material promissor na produção de arcabouços de tecidos cartilagosos, visto que possui alta resistência no estado úmido e moldabilidade *in situ*, biocompatibilidade e baixo custo de produção (SVENSSON et al., 2005). Entretanto, os mecanismos de ação da celulose bacteriana nos tratamentos de pele ainda não foram completamente elucidados. Dessa for-

ma, estudos *in vitro* são necessários, pois poderão prover o entendimento do seu potencial mecanismo de ação. Por isso, foram analisados, neste estudo, os efeitos da celulose bacteriana na adesão, proliferação e viabilidade celular. Utilizaram-se membranas de celulose bacteriana como substrato para o cultivo da linhagem de fibroblastos L929, citada como referência para testes de citotoxicidade em biopolímeros (SERRANO et al., 2004), com o objetivo de avaliar a resposta celular ao entrar em contato com esse biomaterial e colaborar para melhor entendimento dos mecanismos de interação célula-substrato *in vitro*.

## 2 Material e métodos

As membranas de celulose bacteriana (CB) foram sintetizadas pela bactéria *Acetobacter xylinum*, cultivadas em erlenmeyer de 250 ml, com 50 ml de meio de cultura, a 30°C, por sete dias, sob condições estáticas. As membranas formadas na superfície líquida foram removidas e tratadas com solução de 0,5M NaOH, a 90°C, durante uma hora e, subsequentemente, secas a 50°C, por 24 horas. As membranas foram cortadas em pedaços circulares (1,5 cm de diâmetro), esterilizadas sob radiação ultravioleta (UV), por 30 min, e fixadas em cilindros de vidro para que permanecessem no fundo dos poços da placa de cultura. Foram adicionados 500 µl de meio de cultura nos 24 poços da placa de cultura, por 30 minutos, antes da semeadura das células. As células foram semeadas nos poços com e sem os filmes de celulose, em uma densidade de  $2,5 \times 10^4$  células por poço, em 1 ml de DMEM (Sigma Chemical Company), suplementado com 10% de Soro Bovino Fetal (Gibco, BRL), 2 mM L-glutamina, 4,5 g·l<sup>-1</sup> de glicose, 1,5 g·l<sup>-1</sup> de bicarbonato de sódio, 100 unidades·ml<sup>-1</sup> de penicilina e estreptomicina, em atmosfera de 5% CO<sub>2</sub>, a 37°C.

A adesão de fibroblastos da linhagem L929 nos filmes de celulose bacteriana foi analisada por coloração de hematoxilina e eosina (Sigma Chemical Company), nos intervalos de 0, 4, 8, 16 e 24 horas. As membranas com as células cultivadas foram lavadas com 1 ml de tampão fosfato em solução salina (PBS), fixadas com 100 µl de solução álcool:acetona (1:1) e, após a secagem, adicionaram-se 50 µl de hematoxilina, por 1 min. As membranas foram imersas em 4 ml de água Milli Q®, durante 2,5 min. Aspirou-se a água e foram adicionados 50 µl de eosina, por um minuto. O procedimento de lavagem foi mais uma vez repetido para realizar a contagem. Depois de secas, foram analisadas as membranas no microscópio óptico e contados cinco pontos aleatórios com área de 0,41 mm<sup>2</sup> na membrana.

A proliferação dos fibroblastos L929 nos filmes de celulose bacteriana foi analisada por contagem de células em três pontos predefinidos nas membranas e nos controles de poliestireno, sempre dos mesmos poços, nos intervalos de 24, 48 e 72 horas.

Para o estudo de viabilidade celular, analisaram-se as células tanto nas membranas de celulose bacteriana quanto nos controles de poliestireno, durante diferentes tempos de cultura (24, 48 e 72 h). A cada intervalo, o meio de cultura foi aspirado, e as células, lavadas com 1 ml de PBS. Após lavagem, adicionaram-se a cada amostra 200 µl de azul de trypan, por 5 min, e o excedente foi aspirado para realizar a contagem das células viáveis.

Todas as análises de contagem (adesão, proliferação e viabilidade) das culturas de fibroblasto L929, tanto nos filmes de celulose bacteriana quanto nas superfícies-controle, foram feitas em microscópio óptico (Bioval, XDS-1B). Para o controle, utilizaram-se placas de cultura de poliestireno. Todas as medidas foram realizadas em triplicata, e as células cultivadas, coradas por hematoxilina-eosina. Para isso, foram lavadas com 1 ml de PBS, fixadas



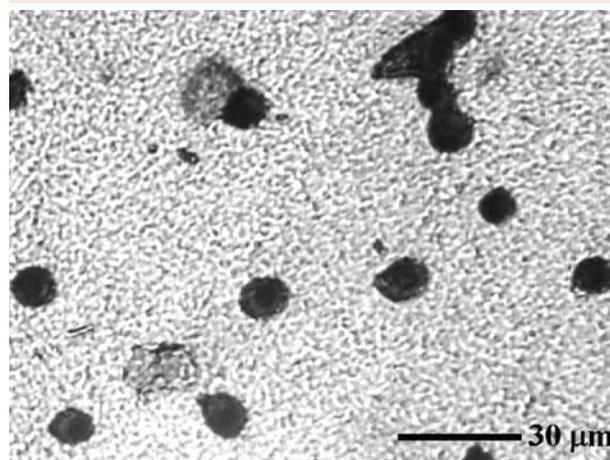
em álcool: acetona (1:1) e examinadas após a coloração de hematoxilina e eosina.

Para a avaliação da morfologia celular e caracterização microestrutural das membranas de celulose bacteriana, utilizou-se microscopia eletrônica de varredura (MEV, Philips, XL-30). Para os estudos de MEV, as células fixas no substrato foram lavadas duas vezes com PBS e fixadas com 100 µl de solução álcool:acetona (1:1), por 5 min. Depois de lavadas com PBS, a desidratação foi feita pela troca lenta de água, usando uma série de soluções de etanol (30%, 50%, 70%, 90%), por 15 min, com desidratação final em etanol absoluto, por 30 min, permitindo que as amostras secassem à temperatura ambiente e sob vácuo. A morfologia das células em cultura foi avaliada quantitativamente, por intermédio da análise de imagem, com o programa UTHSCSA ImageTool for Windows, v.3.0, de imagens binarizadas significativas.

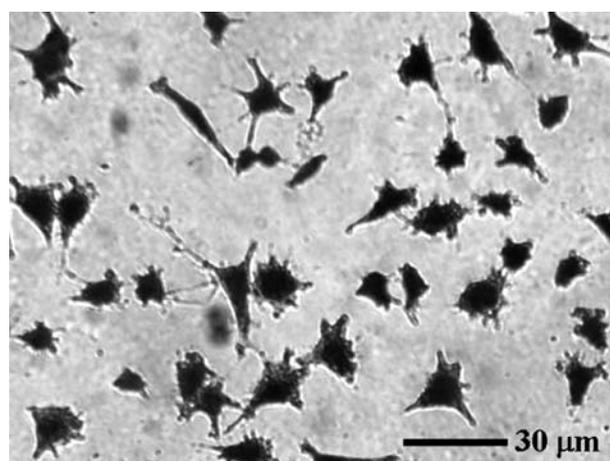
### 3 Resultados e discussão

Após o cultivo, observou-se que os padrões de distribuição celular entre as células nas membranas e no controle foram diferentes, como ilustrado nas imagens de microscopia óptica (Figura 1).

Após 24 h, as células na celulose bacteriana mantiveram forma arredondada e tenderam a agrupar-se (Figura 1a). Já nos controles, apresentaram formas alongadas, típicas de fibroblastos, e atingiram confluência em 48 h (Figura 1b). As células cultivadas na celulose bacteriana, entretanto, não a atingiram. Svensson e colaboradores (2005) demonstraram que condrócitos cultivados em membranas de CB também aderiram, mas mantiveram formato arredondado. A morfologia celular é influenciada pela confluência ou densidade de células (PALSSON; BHATIA, 2004) e, embora seja medida qualitativa e subjetiva, mui-



(a)



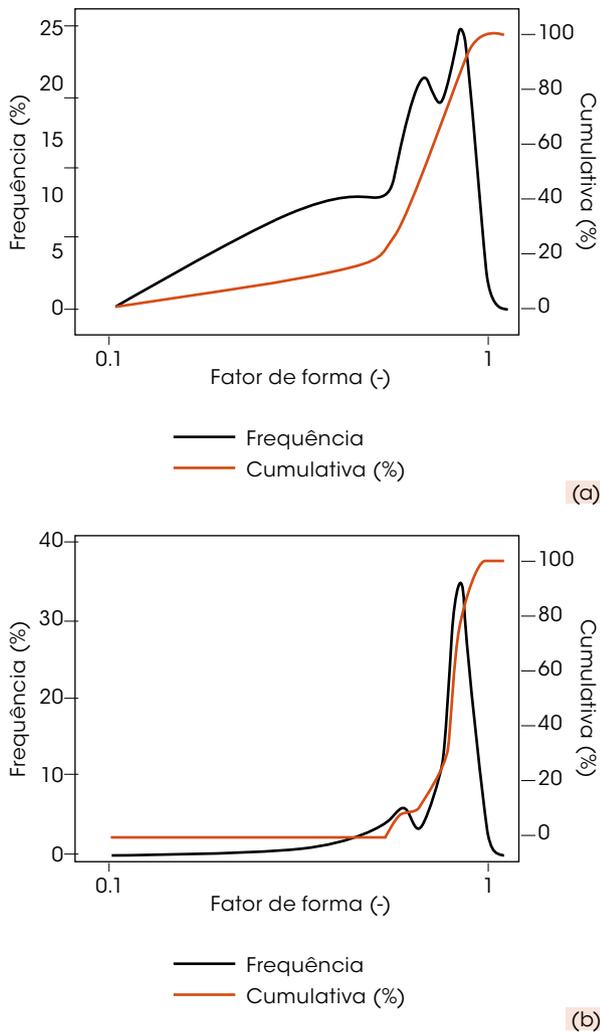
(b)

**Figura 1: Microscopia óptica dos fibroblastos aderidos, após 24 h: a) membrana, b) controle**

Fonte: Os autores.

tas informações quantitativas podem ser extraídas pela análise de imagem.

A distribuição do fator de forma foi obtida pela análise de imagens consideradas representativas, contendo, em média, 100 células. Foram realizadas três imagens para cada caso (controle e membrana), sendo o perfil das curvas de distribuição semelhante entre os casos. O método utilizado no *software* para a estimativa do fator de forma é uma relação entre o perímetro ( $P$ ) do objeto (número de *pixels* pretos na fronteira entre *pixels* pretos e brancos) e a área ( $A$ ) contida nesse perímetro (número total de *pixels* pretos). O cálculo é realizado pela equação:  $F = 4\pi A / P^2$  ( $0 \leq F \leq 1$ ) e



**Figura 2: Distribuição de fator de forma celular, após 24 h de cultura: a) no controle (poliestireno); b) na membrana de celulose bacteriana**

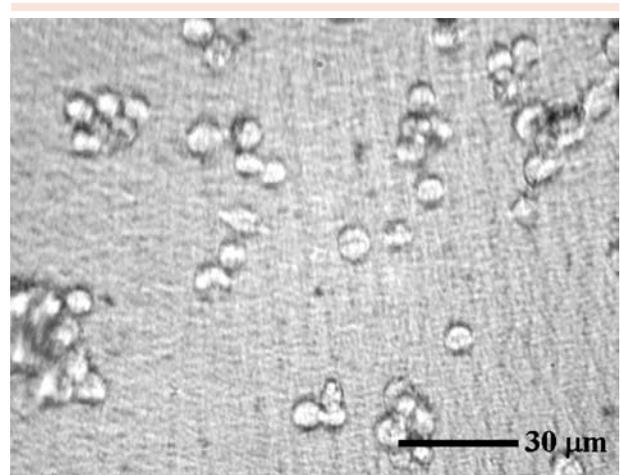
Fonte: Os autores.

fornece informações sobre o espalhamento e adesão celular.

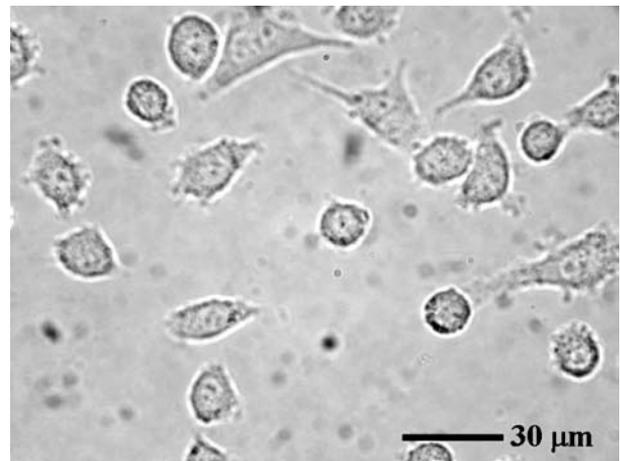
A Figura 2 mostra a distribuição do fator de forma das células, após 24 horas de adesão. Em ambas as culturas, foram detectadas distribuição bimodal para esse fator. As células do controle apresentaram distribuição bimodal e larga para fatores menores que 0,6, e a minoria de células com fatores próximos de 1 (Figura 2a). Nesse caso, a maior parte das células encontra-se alongada (formato que se distancia do circular). As células aderidas na membrana; no entanto, apre-

sentam distribuição mais estreita da maior fração de células em valores próximos de 1, o que indica formatos arredondados (Figura 2b).

A Figura 3 mostra imagens de microscopia óptica de fibroblastos após adesão e proliferação, em 24 h, na membrana celulósica (Figura 3a) e no controle (Figura 3b). Depois da semeadura dos fibroblastos, praticamente todas as células aderiram às membranas de celulose bacteriana, mas não se distribuíram completamente, mostrando-se agrupadas em determinadas regiões, o que evidencia maior densidade celular (Figura 3a).



(a)



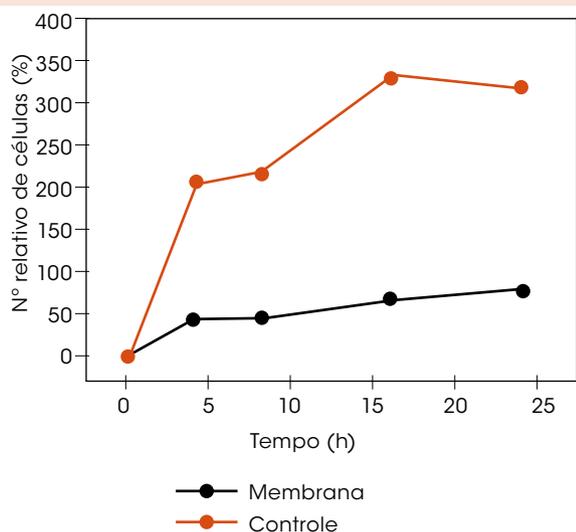
(b)

**Figura 3: Microscopia óptica evidenciando a proliferação dos fibroblastos, após 24 h: a) na membrana de celulose bacteriana; b) no controle (poliestireno)**

Fonte: Os autores.



Esse fenômeno pode ser explicado pela maior adesão aos próprios fibroblastos, em comparação com a adesão entre os fibroblastos e a membrana. Adicionalmente, fibroblastos interconectados apresentam natureza contrátil. Então, se a força de contração entre a rede interconectada das células for mais intensa do que a de adesão entre os fibroblastos e a membrana, grupos de células serão formados (SANCHAVANAKIT et al., 2006). A Figura 4 mostra as curvas de adesão aos fibroblastos em 24 h. Verifica-se que ela foi maior no controle, atingindo um valor de 340% após 16 h, enquanto, na membrana, o valor máximo atingido foi de 60% após 24 h. O número relativo de células foi definido como o número total de células contadas em relação ao inicial.

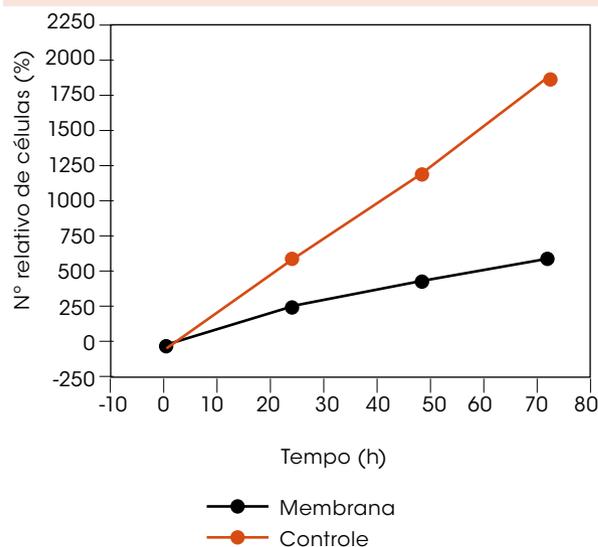


**Figura 4: Contagem de células aderidas à membrana de celulose bacteriana e ao controle (poliestireno) em razão do tempo de cultura**

Fonte: Os autores.

Após 24 h de cultivo, observou-se significativa proliferação celular tanto nas membranas de celulose quanto no controle, como mostram os dados de proliferação da Figura 5. Aumento significativo de fibroblastos foi medido após 72 h de cultura, o que corresponde a cerca de 500%. A taxa de proliferação dos fibroblastos na celulose

bacteriana foi menor do que nas superfícies de poliestireno do controle. Backdahl e colaboradores (2006) descrevem o mesmo comportamento proliferativo de células de músculo liso humano em membranas de celulose bacteriana.

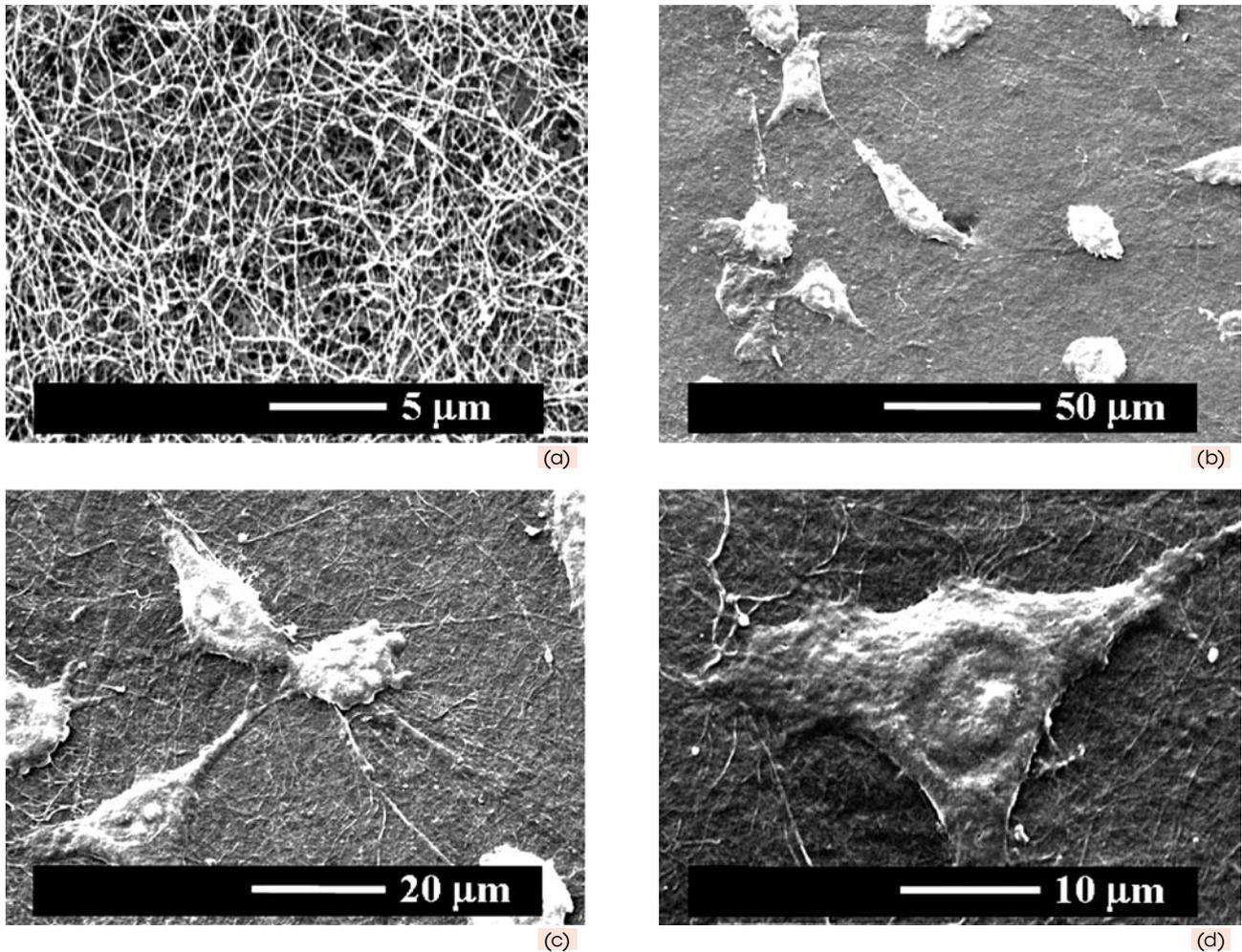


**Figura 5: Proliferação dos fibroblastos na membrana de celulose bacteriana e no controle (poliestireno) em razão do tempo de cultura**

Fonte: Os autores.

A adesão e a proliferação foram analisadas durante curtos períodos de cultura. O perfil das curvas de proliferação dos fibroblastos desenvolvidos na placa de cultura e nas membranas de celulose foi similar. Entretanto, evidenciou-se que, nas membranas de celulose bacteriana, as taxas de adesão e proliferação foram sempre menores que as das células semeadas no controle. Serrano e colaboradores (2004) utilizaram membranas de PCL como substrato para cultura da linhagem L929 e também observaram adesão e proliferação celulares menores do que nas placas de poliestireno utilizadas como controle em curtos períodos de cultura.

Na Figura 6, identificam-se micrografias de MEV das culturas celulares sobre a membrana de celulose bacteriana. A Figura 6a mostra, em detalhe, a microestrutura de superfície da membrana celulósica, formada por longas fibras



**Figura 6:** Micrografias de microscopia eletrônica de varredura (MEV) de cultura de fibroblastos em membrana de celulose bacteriana, após 24 h de adesão. a) detalhe da superfície da membrana celulósica; b) células aderidas à membrana. A seta indica uma célula com formato de fibroblasto; c) e d) ampliação, evidenciando o formato celular

Fonte: Os autores.

com diâmetros de aproximadamente 100 nm, entrelaçadas e dispostas homogeneamente. Os fibroblastos aderidos à superfície apresentam-se distribuídos com densidade média de 450 células/cm<sup>2</sup> e, na maioria, em formatos arredondados (Figura 3a). Apenas uma célula mostra formato alongado, típico de um fibroblasto (indicado pela seta na Figura 6b).

Detalhes da adesão dessas células à membrana podem ser vistos nas Figuras 6c e 6d. As protuberâncias formadas pelos fibroblastos interagem com as nanofibras celulósicas da membrana, re-

sultando na união dessas células. Pode-se afirmar que os fibroblastos aderem e proliferam nas membranas de celulose bacteriana, estando de acordo com os resultados obtidos tanto para as medidas de adesão quanto para as de proliferação.

Quanto à viabilidade celular, a porcentagem de células viáveis depois da semeadura nos filmes de celulose bacteriana para 24, 48 e 72 h foi comparada às culturas celulares nas placas de cultura de poliestireno (controle). A Figura 7 mostra as curvas de viabilidade celular na membrana de CB e no controle. Nas duas condições de cultura, os



fibroblastos continuaram viáveis após 72 h de cultura. Observa-se, depois desse período, aumento substancial de células viáveis tanto para o controle (acima de 3500%, em relação à quantidade inicial de cultura) quanto para a membrana (acima de 750%). Esse aumento é atribuído à proliferação celular simultânea.

Células proliferam em uma taxa proporcional ao número de células presentes,  $X$ , de acordo com a equação 1 (PALSSON; BATHIA, 2004):

$$\frac{dX}{dt} = \mu X \quad (1)$$

cuja solução é uma exponencial crescente da forma:

$$X(t) = X_0 e^{\mu t} \quad (2)$$

em que  $X_0$  é o número inicial de células, e  $\mu$ , a velocidade específica de crescimento. A equação 2 foi ajustada aos dados experimentais de crescimento celular mostrados na Figura 7. Os valores de  $\mu$  obtidos encontram-se na Tabela 1.

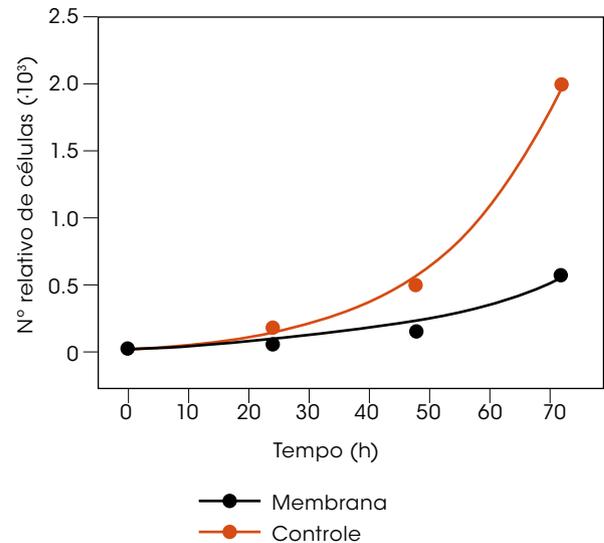
**Tabela 1: Valores de velocidade específica de crescimento,  $\mu$ , obtidos após ajuste da Equação 2 aos dados experimentais, com os respectivos coeficientes de correlação,  $R^2$**

	$\mu$ ( $h^{-1}$ )	$R^2$
Membrana	0,032	0,945
Controle	0,049	0,997

Fonte: Os autores.

Os desvios observados em relação aos dados refletem limitações do modelo, que não considera outros fatores que contribuem para a população celular, tais como morte celular e estágio de diferenciação. Além disso,  $\mu$  é uma função de muitas variáveis (aqui desprezadas), como fatores de crescimento e concentração de oxigênio.

Os resultados obtidos demonstraram que a celulose bacteriana não é citotóxica e suporta tanto a adesão quanto a proliferação e a viabilidade



**Figura 7: Dados de viabilidade celular na membrana de CB e no controle. As curvas representam ajustes da Equação  $X(t) = X_0 e^{\mu t}$  aos dados experimentais**

Fonte: Os autores.

celular, porém em menores proporções quando comparadas ao controle.

## 4 Considerações finais

Neste trabalho, foi estudado o comportamento de fibroblastos cultivados *in vitro*. Diferentes aspectos celulares foram analisados para avaliar o comportamento celular durante a cultura de fibroblastos L929 em membranas de celulose bacteriana: adesão, proliferação, morfologia e viabilidade celular. Investigou-se a resposta celular da linhagem de fibroblastos L929 em contato com membranas de celulose bacteriana, contribuindo, assim, para um melhor entendimento das interações células-substrato, tão importantes para o desenvolvimento e sucesso de produtos médicos de engenharia de tecidos. Explorou-se a dinâmica da interação de células cultivadas em celulose bacteriana para obter informações quantitativas e qualitativas da adesão, proliferação, morfologia e viabilidade celular. Os resultados obtidos do

comportamento celular sugerem que a celulose bacteriana pode servir de material de fabricação de *scaffolds*. Novas investigações deverão ser realizadas para elucidar os mecanismos relacionados às interações célula-substrato, de modo que estabeleçam parâmetros de controle e otimização de produtos biomédicos.

## 5 Agradecimentos

Agradecemos à CAPES e ao CNPq pelo apoio financeiro.

### Analysis of cell culture interactions on biopolymer support for biomedical applications

The study of cell-substrate interactions is of great importance in tissue engineering applications, particularly in order to determine implant biological properties response. The adhesion of cells on the substrate influences morphology as well as cell proliferation and viability. In this work, we examined adhesion, proliferation and viability of murine fibroblasts L929 on polymeric support. Bacterial cellulose membranes were used as substrate for the in vitro evaluation. Cells were cultivated on the membranes using Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS) at 37°C, with 5% CO<sub>2</sub>. In order to monitor and evaluate cell behavior under different cultivation times on the membranes several cell parameters were chosen. Based on them, significant morphological differences were observed. Results showed good cell adhesion, growth, proliferation and viability on the tested bacterial cellulose membranes.

**Key words:** Bacterial cellulose membrane. Cell-biopolymer interaction. Cell growth dynamics. Tissue engineering.

## Referências

- ANSELME, K. Osteoblast adhesion on biomaterials. *Biomaterials*, v. 21, n. 7, p. 667-681, 2000.
- BACKDAHL, H.; HELENIUS, G.; BODIN, A.; NANNMARK, U.; JOHANSSON, B. R.; RISBERG, B.; GATENHOLM, P. Mechanical properties of bacterial cellulose and interactions with smooth muscle cells. *Biomaterials*, v. 27, n. 9, p. 2141-2149, 2006.
- BOYAN, B. D.; HUMMERT, T. W.; DEAN, D. D.; SCHWARTZ, Z. Role of material surfaces in regulating bone and cartilage cell response. *Biomaterials*, v. 17, n. 2, p. 137-146, 1996.
- CHEN, G. Q.; WU, Q. The application of polyhydroxyalkanoates as tissue engineering materials. *Biomaterials*, v. 26, n. 33, p. 6565-6578, 2005.
- CROCE, M. A.; SILVESTRI, C.; GUERRA, D.; CARNEVALI, E.; BORALDI, F.; TIOZZO, R.; PARMA, B. Adhesion and proliferation of human dermal fibroblasts on collagen matrix. *J Biomater Appl*, v. 18, n. 3, p. 209-222, 2004.
- DEE, K. C.; ANDERSEN, T. T.; BIZIOS, R. Design and function of novel osteoblast-adhesive peptides for chemical modification of biomaterials. *J Biomed Mater Res*, v. 40, n. 3, p. 371-377, 1998.
- FONTANA, J. D.; DESOUSA, A. M.; FONTANA, C. K.; TORRIANI, I. L.; MORESCHI, J. C.; GALLOTTI, B. J.; DESOUSA, S. J.; NARCISCO, G. P.; BICHARA, J. A.; FARAH, L. F. X. Acetobacter Cellulose Pellicle as a Temporary Skin Substitute. *Appl Biochem Biotech*, v. 24, n. 5, p. 253-264, 1990.
- LAUFFENBURGER, D. A.; HORWITZ, A. F. Cell migration: A physically integrated molecular process. *Cell*, v. 84, n. 3, p. 359-369, 1996.
- MADIHALLY, S. V.; MATTHEW, H. W. T. Porous chitosan scaffolds for tissue engineering. *Biomaterials*, v. 20, n. 12, p. 1133-1142, 1999.
- MULLER, F. A.; MULLER, L.; HOFMANN, I.; GREIL, P.; WENZEL, M. M.; STAUDENMAIER, R. Cellulose-based scaffold materials for cartilage tissue engineering. *Biomaterials*, v. 27, n. 21, p. 3955-63, 2006.
- NARITOMI, T.; KOUUDA, T.; YANO, H.; YOSHINAGA, F. Effect of lactate on bacterial cellulose production from fructose in continuous culture. *J Ferment Bioeng*, v. 85, n. 1, p. 89-95, 1998.
- NEHRER, S.; BREINAN, H. A.; RAMAPPA, A.; SHORTKROFF, S.; YOUNG, G.; MINAS, T.; SLEDGE, C. B.; YANNAS, I. V.; SPECTOR, M. Canine chondrocytes seeded in type I and type II collagen implants investigated in vitro. *J Biomed Mater Res*, v. 38, p. 95-104, 1997.
- PALSSON, B. O.; BHATIA, S. N. *Tissue Engineering*. New Jersey: Pearson Prentice Hall, 2004.



ROSS, P.; MAYER, R.; BENZIMAN, M. Cellulose Biosynthesis and Function in Bacteria. *Microbiol Rev*, v. 55, n. 1, p. 35-58, 1991.

SANCHAVANAKIT, N.; SANGRUNGRAUNGROJ, W.; KAOMONGKOLGIT, R.; BANAPRASERT, T.; PAVASANT, P.; PHISALAPHONG, M. Growth of human keratinocytes and fibroblasts on bacterial cellulose film. *Biotechnol Progr*, v. 22, n. 4, p. 1194-1199, 2006.

SERRANO, M. C.; PAGANI, R.; VALLET-REGI, M.; PENA, J.; RAMILA, A.; IZQUIERDO, I.; PORTOLES, M. T. In vitro biocompatibility assessment of poly (epsilon-caprolactone) films using L929 mouse fibroblasts. *Biomaterials*, v. 25, n. 25, p. 5603-5611, 2004.

SVENSSON, A.; NICKLASSON, E.; HARRAH, T.; PANILAITIS, B.; KAPLAN, D. L.; BRITTBURG, M.; GATENHOLM, P. Bacterial cellulose as a potential scaffold for tissue engineering of cartilage. *Biomaterials*, v. 26, n. 4, p. 419-431, 2005.

WATANABE, K.; TABUCHI, M.; MORINAGA, Y.; YOSHINAGA, F. Structural features and properties of bacterial cellulose produced in agitated culture. *Cellulose*, v. 5, n. 3, p. 187-200, 1998.

Trabalho originalmente apresentado no XVI Simpósio Nacional de Bioprocessos – SINAFERM 2007, de 29 de julho a 01 de agosto, Curitiba/PR, 2007.

Recebido em 10 set. 2007 / aprovado em 31 out. 2007

**Para referenciar este texto**

PÉRTILE, R. A. N. et al. Interação de culturas celulares com suportes biopoliméricos para aplicações biomédicas. *Exacta*, São Paulo, v. 5, n. 2, p. 342-352, jul./dez. 2007.