

# Produção de estruturas tubulares de hidrogéis biodegradáveis para aplicações biomédicas

Palavras-Chave: [Hidrogéis], [Polissacarídeos], [Engenharia de tecidos]

Amanda Carregari Martinez, Ana Paula Mayumi Nosaki, Ângela Maria Moraes  
Faculdade de Engenharia Química, UNICAMP

## INTRODUÇÃO:

O corpo humano apresenta diversos tipos de tecidos e órgãos e devido a doenças ou acidentes pode ser necessária a sua substituição total ou parcial. Infelizmente, há escassez de doadores de tecidos e órgãos, sendo esta uma das principais motivações para os recentes desenvolvimentos da área de engenharia tecidual. Por meio da engenharia tecidual pode-se produzir substitutos dos tecidos e órgãos lesados, combinando-se células, sinalizadores e moduladores celulares a biomateriais (ou *scaffolds*) especialmente projetados para prover suporte estrutural adequado para a adesão, proliferação e eventual diferencial celular.

O trabalho desenvolvido nesta Iniciação Científica constituiu-se de uma revisão bibliográfica aprofundada sobre estruturas tubulares produzidas pelo uso de polímeros formadores de hidrogéis com vistas à aplicação na área de engenharia de tecidos (ET) para a substituição de órgãos como traqueia, ureter, uretra, esôfago, intestino delgado, cólon e vasos sanguíneos. As estruturas poliméricas tubulares, a princípio, seriam utilizadas como suportes tridimensionais visando originar tecidos como os dos órgãos acima mencionados de forma direcionada e programada.

A revisão aqui apresentada inclui *scaffolds* tridimensionais de hidrogéis produzidos a partir de polímeros naturais e sintéticos fabricados por diversas técnicas, como moldagem, liofilização, eletrofiação e impressão 3D.

## METODOLOGIA:

As bases de dados utilizadas para fazer a busca bibliográfica foram o Google Scholar, a ScienceDirect e a Scopus. Foram coletados conteúdos de artigos de pesquisa e artigos de revisão, sendo a estes em grande parte na língua inglesa. Para ter como base quais tópicos deveriam ser os mais recorrentes e importantes para o início da pesquisa foram utilizadas palavras-chaves como *scaffolds*, *tubular*, *cylindrical* e *organs*. Os resultados obtidos foram analisados, focalizando-se, em seguida, a avaliação e discussão de características de *scaffolds* tubulares específicos para os seguintes órgãos: vasos sanguíneos, traqueia, ureter, uretra, esôfago, intestino delgado e cólon.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Os *scaffolds* tubulares, independentemente do tecido que se necessita substituir, devem apresentar algumas propriedades em comum (LEVIN, 2019). Podem ser inertes biologicamente ou bioativos, mas não devem provocar reação imune ou alteração negativa significativa do meio celular. Devem ser idealmente absorvíveis, estimulando que o tecido nativo neoformado substitua a região lesada, o que é importante principalmente em pacientes pediátricos, já que, com o crescimento, o *scaffold* poderia se tornar não adequado anatomicamente e apresentar falhas. Os *scaffolds* devem também ter estrutura estável e prover um ambiente propício para a adesão e a proliferação celular, mimetizando o mais proximamente possível o meio que está destinado a substituir. Além disso devem ser esterilizáveis, ter custos competitivos e ser produzidos a partir de

métodos reprodutíveis. As principais características necessárias dos *scaffolds* para cada tipo de órgão ou tecido são sumarizadas na Tabela 1.

Tabela 1. Principais requisitos para *scaffolds* tubulares que visam substituir vasos sanguíneos, traqueia, ureter, uretra, esôfago e intestinos.

Órgão/Tecido	Principais características requeridas	Referência(s)
Vasos sanguíneos	Desempenho similar ao da artéria coronária, considerada o “padrão ouro”: <ul style="list-style-type: none"> <li>• módulo de Young de cerca de 1,41 MPa;</li> <li>• resistência de retenção de sutura de 1,96 MPa;</li> <li>• capacidade de suportar a tensão de cisalhamento e a pressão sanguínea;</li> <li>• boa complacência;</li> <li>• baixa trombogenicidade;</li> <li>• alta taxa de endotelização, para que não haja a adesão de plaquetas nas paredes internas e o vaso seja bloqueado ou perdido.</li> </ul>	YAO <i>et al.</i> (2020), NOROUZI e SHAMLOO (2019), DE SOUZA (2018)
Traqueia	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Consistir de uma estrutura tubular rígida lateralmente, mas flexível na orientação longitudinal;</li> <li>• Apresentar superfície interna livre para a passagem de ar;</li> <li>• Ter capacidade de vedação;</li> <li>• A pressão suportada deve ser compatível com os valores observados <i>in vivo</i>, valores em torno de 60-150 mmHg.</li> </ul>	LAW <i>et al.</i> (2016), MÄKITIE <i>et al.</i> (2013), OTT <i>et al.</i> (2016)
Ureter	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Suportar pressões de até 30 cm de água;</li> <li>• Ter propriedades viscoelásticas que suportem adequadamente os movimentos biomecânicos;</li> <li>• Ser capaz de transportar cerca de 0,5 mL/min de urina;</li> <li>• Fornecer uma barreira adequada contra a urina.</li> </ul>	LE NORMAND <i>et al.</i> (2005), e KLOSKOWSKI <i>et al.</i> (2014)
Uretra	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ter resistência às tensões mecânicas de contração e expansão;</li> <li>• Pressão de ruptura condizente com a pressão fisiológica durante a micção (10kPa);</li> <li>• Módulo de Young próximo ao da uretra nativa (20 kPa);</li> <li>• Atuar como uma barreira eficaz para a urina.</li> </ul>	CUNNANE <i>et al.</i> (2021) e MÜLLER <i>et al.</i> (2008)
Esôfago	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ter elasticidade na direção circunferencial para se expandir e relaxar, permitindo a passagem do alimento;</li> <li>• Resistência à tensão condizente com o tecido nativo (<math>1,41 \pm 0,05</math> MPa e <math>1,29 \pm 0,52</math> MPa, nas direções circunferencial e longitudinal respectivamente).</li> <li>• A estrutura deve ser compatível com condições ácidas, já que refluxos gástricos podem ocorrer</li> </ul>	TAN <i>et al.</i> (2015)
Intestino grosso e delgado	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Apresentar absorção adequada dos nutrientes e água;</li> <li>• Resistência, de forma que o <i>scaffold</i> consiga se esticar em grande proporção;</li> <li>• Devem suportar as pressões de contração, podendo chegar a até 100 mmHg para o intestino grosso e 30 mmHg para o intestino delgado.</li> </ul>	DUTTON <i>et al.</i> (2019).

A análise da literatura relativa a *scaffolds* tubulares para distintos tipos de órgãos e tecidos nas diferentes bases de dados indicou que, entre 2016 e 2021, a incidência é predominante para *scaffolds* vasculares, conforme indicado na Figura 1. Este tipo de *scaffold* tem grande relevância clínica, visto que apenas em 2017, dentre as 56 milhões mortes de pessoas observadas no mundo, mais de 30% foram causadas por doenças cardiovasculares (RITCHIE; ROSER, 2018). Por esta razão, será melhor detalhado adiante.

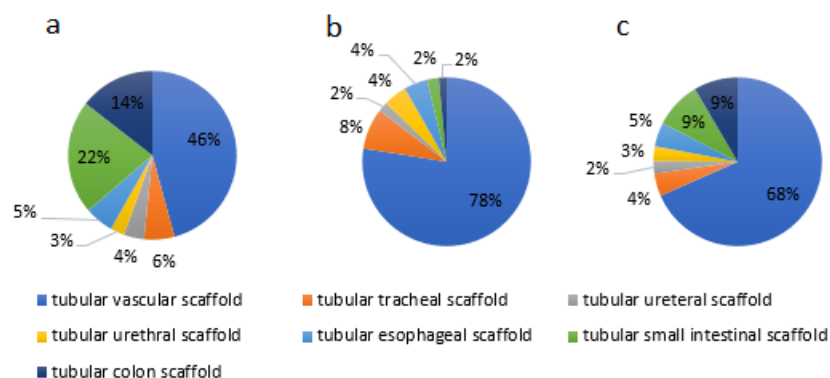


Figura 1. Resultados da busca bibliográfica realizada usando os termos em língua inglesa “tubular (órgão) scaffolds” nas bases Google Scholar (a), Scopus (b) e Science Direct (c), restringindo a língua de busca apenas para o inglês e os resultados registrados entre 2016 e 2021. Busca atualizada em 03/03/2021.

Os vasos sanguíneos são tecidos tubulares, dutos por onde o sangue é distribuído aos demais tecidos corporais (APPLEGATE, 2012). *In vivo* podem ter diâmetros variados e sua parede é dividida em três partes, na seguinte ordem, do centro para o exterior: túnica íntima, túnica média e túnica adventícia (GOINS *et al.*, 2019). Cada uma delas possui sua função para manter o tônus vascular (dilatação e constrição dos vasos), homeostasia (WAGENSEIL; MECHAM, 2009), e suporte às cargas fisiológicas durante o ciclo cardíaco.

A escolha do material para fabricar o *scaffold* é de extrema importância, sendo particular para cada tipo de órgão ou tecido. A seleção de um material inadequado pode levar a falhas do suporte desenvolvido ou a reações imunogênicas após a implantação, quando proteínas do sangue começam a ser adsorvidas na superfície do *scaffold*. A nova camada de proteínas será determinada pelas características químicas da superfície inicial, que dita a interação celular. (WALPOTH *et al.*, 2020)

Diversos materiais são usados hoje na ET em geral, como metais, cerâmicas, polímeros sintéticos ou naturais. Para a engenharia de tecidos vasculares (ETV), os polímeros são mais visados, já que possuem propriedades mais semelhantes às das veias e artérias no corpo humano (DEB *et al.*, 2018).

Os polímeros utilizados podem ser classificados como sintéticos ou naturais. Os polímeros sintéticos se mostram muito atraentes pois possuem propriedades mecânicas superiores às dos naturais, costumam ser menos onerosos e podem ser produzidos uniformemente em grandes quantidades. Além disso, características como porosidade, propriedades mecânicas e taxa de degradação podem ser manipuladas até certo grau para atender as propriedades requeridas (WIDMER; MIKOS, 1998; DHANDAYUTHAPANI *et al.*, 2011). Alguns dos polímeros sintéticos mais comumente utilizados para engenharia de tecidos vascular são PCL, PLA, PGA e PLGA, devido à sua degradabilidade e biocompatibilidade, além de serem de fácil manipulação (LI *et al.*, 2020; WALPOTH *et al.*, 2020; BOCCAFOSCHI *et al.*, 2005).

Polímeros naturais, como o colágeno, são utilizados há milhares de anos (NAIR; LAURENCIN, 2007). Estes possuem grande semelhança com a matriz extracelular natural e possuem propriedades bioativas, que melhoram as interações do *scaffold* com as células *in vivo*. Especificamente para a área de ETV, fibroína de seda, fibrina, colágeno, gelatina e quitosana têm sido muito utilizados (KABIRIAN *et al.*, 2018).

O colágeno, por exemplo, é a proteína que ocorre em maior quantidade na matriz extracelular, que é também composta por outras proteínas e carboidratos. O colágeno é responsável por oferecer resistência e suporte estrutural. Em seguida, tem-se a elastina como a proteína mais comum, sendo que esta fornece elasticidade e resiliência. Mesmo com as diferentes funções e localizações dos tecidos do corpo, estes têm o colágeno e elastina como constituintes em comum, e por isso podem ser muito atrativos para a engenharia de tecidos vascular (MIRANDA-NIEVES; CHAIKOF, 2017).

Como ambos os tipos de polímeros, naturais e sintéticos, apresentam vantagens e limitações, tem sido também explorado o uso de *scaffolds* híbridos com os polímeros misturados, para os quais há relatos de bom desempenho no que se refere à adesão e proliferação celular (JIANG *et al.*, 2017).

Adequada geometria, porosidade e propriedades físico-químicas da superfície do biomaterial estão entre os requisitos mais desafiadores da ET. Por esta razão, a escolha de como o *scaffold* será produzido é de

grande importância, já que cada técnica de produção poderá acarretar diferentes características finais. *Scaffolds* de hidrogéis são considerados como uma ótima opção, pois proporcionam um ambiente apropriado para o crescimento celular (LIU *et al.*, 2015), pela alta quantidade de água a eles associada.

Várias técnicas podem ser utilizadas para fabricar *scaffolds* de hidrogel, uma delas é a moldagem ou *casting*. Este modo de produção consiste em usar materiais na forma de líquidos, géis ou suspensões vertidas em um molde e em sua indução ao estado sólido. Essa indução pode ocorrer de várias formas, como por evaporação de solvente, reticulação e gelificação de hidrogéis (BOYS *et al.*, 2020). A matriz fabricada por moldagem pode ser inoculada com células por incorporação, pipetagem e métodos dinâmicos como moldagem centrífuga (MIRONOV *et al.*, 2005). Além disso, pode-se também produzir *scaffolds* porosos por *casting*. Para isso, podem ser incorporados sais aos polímeros e depois, solubilizá-los para formar os espaços vazios na matriz (método de lixiviação de substâncias solúveis), realizar a liofilização, que consiste em congelar e sublimar o solvente dentro do *scaffold*, entre outras técnicas. Por ser um método simples, altamente replicável e compatível com muitos materiais, é um dos métodos de produção mais empregados na engenharia de tecido, e que ademais pode ser utilizado em combinação com outras técnicas para formar estruturas mais complexas.

Dentre as técnicas existentes, a eletrofição (ou *electrospinning*) é um dos métodos selecionados com bastante frequência para o desenvolvimento de produtos com aplicações em engenharia de tecidos. Por isso já foi extensivamente utilizada para o sistema cardiovascular, mostrando-se promissora para este fim (YAO *et al.*, 2020). Por este método pode-se fabricar fibras com espessuras da ordem de nanômetros a micrômetros, que apresentam grande área superficial mesmo quando sobrepostas. Neste método, um campo elétrico de alta tensão é gerado entre uma agulha de injeção e um anteparo sobre o qual são coletadas as fibras. Fibras criadas por *electrospinning* podem simular muito bem os vasos sanguíneos em escala nanométrica, além de serem capazes de mimetizar a orientação da camada média que apresenta fibrilas de colágeno em orientação circunferencial, em que estas conferem a resistência às pressões circulatórias (VAZ *et al.*, 2005).

A impressão 3D, mais atualmente definida como manufatura aditiva, é utilizada para criar modelos de *scaffolds* altamente personalizados, podendo-se por meio dela fabricar matrizes muito complexas consistindo no material escolhido para formar substitutos para engenharia de tecidos e de células simultaneamente (método conhecido como bioimpressão). Existem várias estratégias de impressão e, apesar de se diferirem um pouco entre si, elas consistem fundamentalmente na obtenção de um produto tridimensional a partir da adição consecutiva de camadas (adição camada a camada) (KABIRIAN *et al.*, 2018).

Hidrogéis são muito utilizados na formulação de biotintas para bioimpressão. As biotintas são constituídas pela mistura do hidrogel a células isoladas em suspensão ou na forma de agregados, por exemplo, na forma de esferóides, ou imobilizadas em microcarreadores (DUAN, 2017). Este tipo de tinta, no entanto, pode necessitar de máquinas especializadas, que podem ser também mais dispendiosas e de operação mais complexa. Para a formação de arranjos tubulares, as camadas de biotinta depositadas pela impressora devem ter a estrutura rígida o bastante para sustentar as camadas superiores e o acúmulo de mais material subsequente. Isso impõe restrições mecânicas às biotintas utilizadas e também limita a faixa dimensional que pode ser impressa. Além disso, a produção de várias camadas concêntricas compostas de diferentes tipos de hidrogel e células, como é observado no tecido nativo, é ainda difícil de ser obtida. Dessa maneira, boa parte dos *scaffolds* bioimpressos atualmente são, em geral, feitos de um só material (HOLLAND *et al.*, 2018).

Apesar de ser uma técnica relativamente recente e de estar ainda associada a estes e a outros obstáculos, a impressão 3D é uma das metodologias mais discutidas presentemente, e tem alto potencial de aplicação, podendo ser também combinada com outras técnicas para formar *scaffolds* ainda mais complexos.

## CONCLUSÕES:

Os *scaffolds* cilíndricos possuem alguns requisitos de projeto em comum, como biocompatibilidade, estabilidade à esterilização, devem ser idealmente absorvíveis e fornecer um ambiente propício para o crescimento e desenvolvimento celular, além de características específicas para cada órgão, relacionadas, por exemplo, a demandas mecânicas e de resistência a diferentes microambientes químicos. As estruturas desenvolvidas devem ser testadas *in vitro*, *in vivo* em modelos animais e, em um estágio mais avançado, em

testes clínicos de desempenho em humanos antes de sua colocação no mercado. Os *scaffolds* tubulares com mais pesquisas desenvolvidas são os vasculares, mas são seguidos pelos traqueais, ureterais, uretrais, esofágicos, de intestino delgado e de cólon.

Diversos materiais podem ser utilizados no processo de desenvolvimento, mas o grande foco para engenharia de tecidos moles, como para os vasculares, são os polímeros sintéticos e naturais. Estes podem ser utilizados como hidrogéis, que se apresentam como uma ótima opção, fornecendo um ambiente adequado para o crescimento celular. Os hidrogéis por sua vez, podem ser fabricados por diversas maneiras, que incluem moldagem, liofilização, eletrofiliação e impressão 3D. As diferentes técnicas podem também ser combinadas, a fim de produzir um *scaffold* ainda mais complexo estruturalmente. Esta amplitude de possibilidades tem alta atratividade e grande potencial de contribuir com a maior disponibilização de órgãos e tecidos.

## AGRADECIMENTO

As autoras agradecem ao CNPq pelo apoio a este trabalho na forma de bolsa do PIBIC (processo no. 123043/2020-4) e de bolsa de produtividade (processo no. 307829/2018-9).

## BIBLIOGRAFIA

- APPLEGATE, E. **Anatomia e fisiologia**. 4. ed., 2012.
- BOCCAFOSCHI, F. *et al.* **Biomaterials**, 26:7410-7417, 2005.
- BOYS, J. A. *et al.* **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, 8:1-20, 2020.
- CUNNANE, E. M. *et al.* **Biomaterials**, 269:120651, 2021.
- DEB, P. *et al.* **Materials Today: Proceedings**, 5:12909-12919, 2018.
- DE SOUZA, F. C. B. **Estruturas tridimensionais obtidas pela complexação de quitosana com outros polissacarídeos para aplicação na engenharia de tecidos vasculares**. Tese de doutorado. Universidade Estadual de Campinas, 2018.
- DHANDAYUTHAPANI, B *et al.* **International Journal of Polymer Science**, 2011: 290602, 2011.
- DUAN, B. **Annals of Biomedical Engineering**, 45:195-209, 2017.
- DUTTON, J. S. *et al.* **Trends in Biotechnology**, 37(7):744-760, 2019.
- GOINS, A. *et al.* **Materials Science and Engineering C**, 97:896-912, 2019.
- JIANG, Y. C. *et al.* **Materials Science and Engineering C**, 71:901-908, 2017.
- HOLLAND, I. *et al.* **Bio-Design and Manufacturing**, 1:89-100, 2018.
- JIANG, Y. C. *et al.* **Materials Science and Engineering C**, 71:901-908, 2017.
- KABIRIAN, F. *et al.* **Materials Today: Proceedings**, 5:15586-15594, 2018.
- KLOSKOWSKI, T. *et al.* **PLoS ONE**, 9(8):e106023, 2014.
- LAW, J. X. *et al.* **International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology**, 91:55-63, 2016.
- LE NORMAND, L. *et al.* **Annales d'Urologie**, 39(1):30-48, 2005.
- LEVIN, D. **Gastroenterology Clinics of North America**, 48(4):607-623, 2019.
- LI, P. *et al.* **Journal of Materials Chemistry B**, 8:6092-6099, 2020.
- LIU, J. *et al.* **International Journal of Molecular Sciences**, 16(7):15997-16016, 2015.
- MÄKITIE, A. A. *et al.* **Journal of Functional Biomaterials**, 33(4):412-417, 2013.
- MIRANDA-NIEVES, D. *et al.* **ACS Biomaterials Science and Engineering**, 3:694-711, 2017.
- MIRONOV, V. *et al.* **Biomaterials**, 26:7628-7635, 2005.
- MÜLLER, B. *et al.* **Journal of Biomechanics**, 41:S61, 2008.
- NAIR, L. S.; LAURENCIN, C. T. **Progress in Polymer Science (Oxford)**, 32:762-798, 2007.
- NOROUZI, S. K. *et al.* **Materials Science and Engineering C**, 94:1067-1076, 2019.
- OTT, L. M. *et al.* **Biomedical Materials**, 11(2):25020, 2016.
- RITCHIE, H.; ROSER, M. Causes of Death. **Our World in Data**, 2018.
- VAZ, C. M. *et al.* **Acta Biomaterialia**, 1:575-582, 2005.
- TAN, Y. J. *et al.* **Materials Letters**, 159:424-427, 2015.
- WAGENSEIL, J. E.; MECHAM, R. P. **Physiological Reviews**, 89(3):957-989, 2009.
- WALPOTH, B. H. *et al.* **Tissue-Engineered Vascular Grafts**, 1. ed, 2020.
- WIDMER, M. S.; MIKOS, A. G. **Frontiers in Tissue Engineering**, 107-120, 1998.