



PRODUÇÃO DE MATRIZES TRIDIMENSIONAIS BASEADAS EM POLI (ÁCIDO LACTICO-CO-GLICÓLICO)

Palavras-Chave: biomateriais, fibras, Rotofiação.

Autores(as):

Gustavo da Silva Granjeia, FCA – UNICAMP

Isabella Carolina Pereira Rodrigues, FEM - UNICAMP

Ingrid Rossilho Casale, FEM – UNICAMP

Prof^(a). Dr^(a). Laís Pellizzer Gabriel (orientadora), FCA - UNICAMP

INTRODUÇÃO:

A infecção óssea após procedimentos cirúrgicos (osteomielite) é uma infecção comumente causada por bactérias que se proliferam na estrutura óssea, muitas vezes aproveitando resíduos soltos durante o atrito do corpo com próteses [1]. Atualmente, a osteomielite é o risco mais grave associado ao reparo de tecidos ósseos [1].

Este trabalho busca, por meio da manufatura aditiva e rotofiação, criar e testar matrizes tridimensionais bioabsorvíveis na forma de scaffolds contendo partículas que auxiliem a osteocondução e o crescimento celular em uma região óssea operada, recobertas por uma membrana polimérica incorporada com o fármaco rifampicina, utilizado em larga escala como revestimento em implantes para prevenção de osteomielite [1].

METODOLOGIA:

Para a bioimpressão dos scaffolds, foram preparadas soluções compostas de poli (ácido lactico-co-glicólico) (PLGA) dopadas com hidroxiapatita (HA) nas concentrações de 10% e 20% em massa, solubilizadas em clorofórmio. As soluções foram submetidas a agitação ultrassônica e magnética.

Foram preparadas soluções para rotofiação, compostas por PLGA dopado com Rifampicina na concentração de 5% (m/m), solubilizada em clorofórmio.

As membranas foram fabricadas através do uso do equipamento de rotofiação projetado pelo grupo de pesquisa [2], elas foram sobrepostas aos scaffolds e levadas à uma estufa à vácuo (Ethik Technology 440D) para a remoção da umidade e do solvente restantes nas amostras.

Utilizando o software Excel para gerar o g-code, um dos formatos de código lidos pela bioimpressora Allevi 2, foram criados os scaffolds com tamanhos de poro iguais a 450 µm de tamanho, a serem impressos.

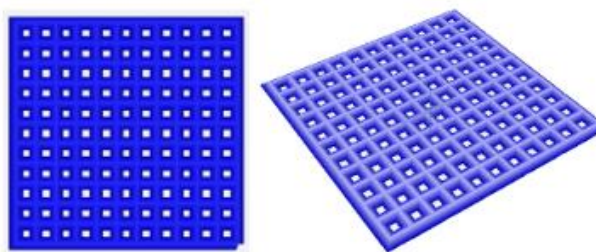


Figura 1: Exemplo de um dos scaffolds desenvolvidos para o projeto, vistas superior e isométrica respectivamente.

O g-code dos scaffolds foi alterado diversas vezes a fim de estar compatível aos diversos testes morfológicos, químicos e estruturais realizados, entre eles: caracterização morfológica através do Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV), caracterização química através do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e Difração de Raios-X (DRX). Todos os testes foram conduzidos em busca de garantir a eficiência na fabricação dos scaffolds.

Parâmetros	
Tamanho da malha (mm)	10.08
Número de Poros	14
Largura do Filamento (mm)	0.27
Tamanho dos poros (mm)	0.450
Altura da Camada (mm)	0.200
Velocidade para primeira solução (mm/min)	210.00
Velocidade para segunda solução (mm/min)	210.00
Imprimir com 2 extrusoras	Sim
Imprimir Mesclando Horizontal e Vertical	Sim
Número de Camadas	50
Altura entre cada camada	0.008

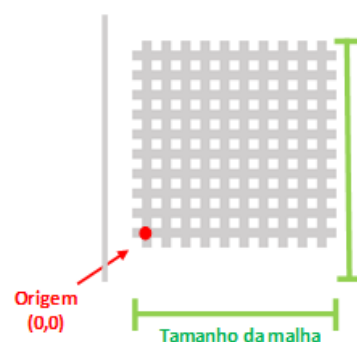


Figura 2: Parâmetros alterados para a criação de cada modelo de g-code a ser utilizado pela bioimpressora.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Foi realizada a parametrização e adaptação com a bioimpressora Allevi 2 em função de descobrir os parâmetros ideais para a confecção dos scaffolds, sendo eles: a velocidade de movimento do cabeçote, pressão, tamanho da ponteira a ser utilizada e altura entre camadas.

Para facilitar o processo de parametrização foi criada uma planilha eletrônica no software Excel capaz de escrever em torno de 50000 linhas de g-code alterando apenas os parâmetros presentes na figura 2, dessa forma, foi possível realizar uma gama maior de testes e encontrar relações entre diferentes parâmetros.

Através das relações entre os parâmetros encontrados, foram impressas amostras de scaffolds de PLGA com poros quadrados de aproximadamente 450 μm (figura 3) e através do software ImageJ, foi possível calcular o tamanho dos poros presentes em cada amostra, resultado em uma média e desvio para cada amostra (figura 4).

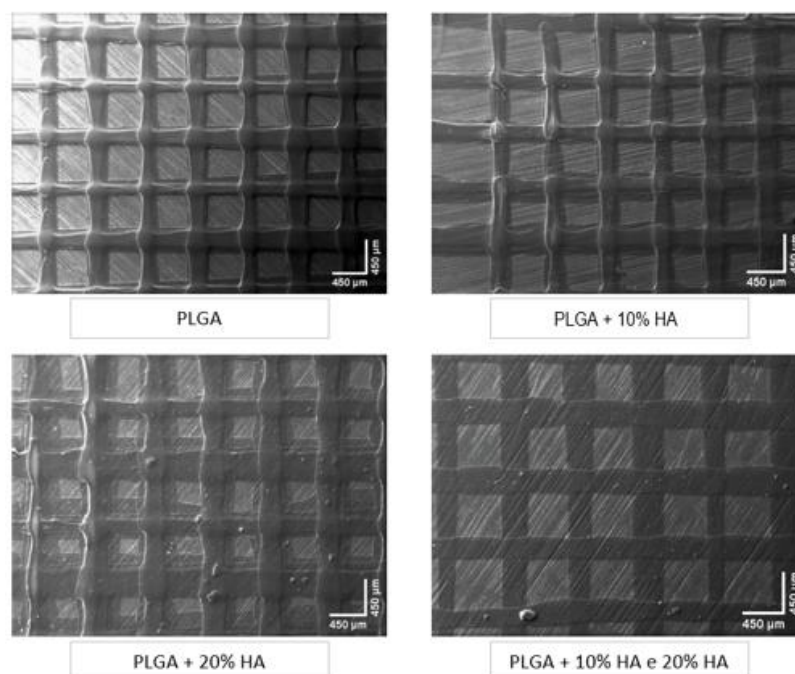


Figura 3: Scaffolds com poros de 450 micrômetros em diferentes concentrações de Hidroxiapatita. Escala das imagens em 500µm. (Imagens capturadas utilizando o Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) presente na Faculdade de Engenharia Mecânica da Unicamp).

Tipo de Scaffold	Média	Desvio Padrão
Puro	453.67	26.63
10% HA	459.70	20.84
20% HA	453.23	20.28
Poros Intercalados	459.30	20.08

Figura 4: Média e desvio padrão do tamanho dos poros dos scaffolds mostrados na Figura 4.

Além dos scaffolds, foram criadas as membranas incorporadas com o antibiótico rifampicina por meio do processo de rotofiação (figura 5):

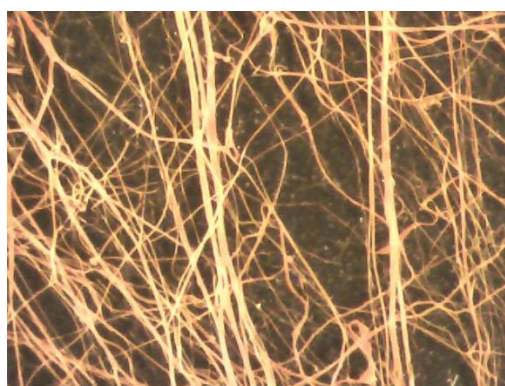


Figura 5: Membrana de PLGA com Rifampicina rotofiada.

A membrana₇ contendo o menor número de beads, defeitos na membrana [3], foi escolhida para ser sobreposta em um scaffold. O conjunto foi levado ao MEV para uma visualização do produto final (figura 6).

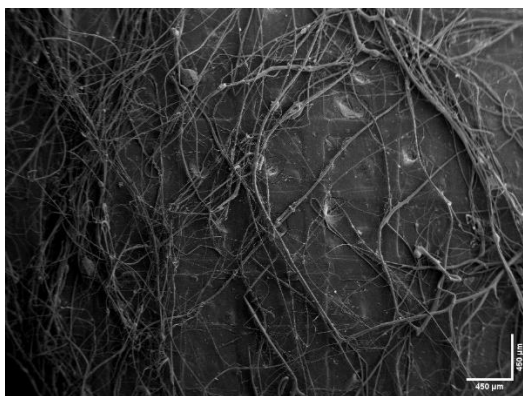


Figura 6: Conjunto da membrana de PLGA com Rifampicina rotofiada e scaffold de PLGA impresso.

Através do teste DRX, nota-se que o HA se manteve presente nas amostras de PLGA com 10% e 20% de HA, alterando o resultado observado, como mostra a figura 7.

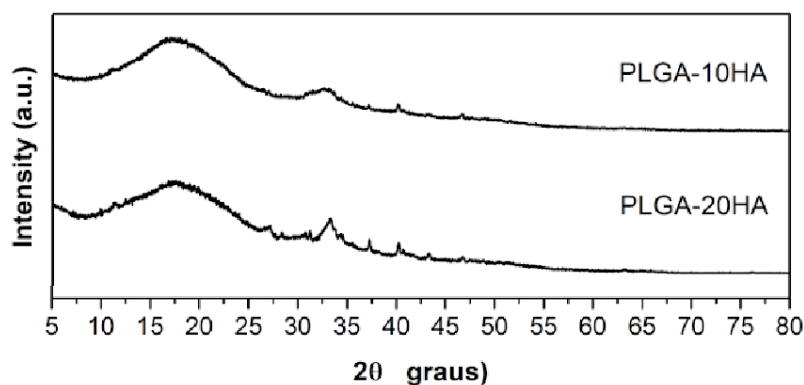


Figura 7: Resultados do teste DRX, com a Intensidade (a.u.) em função de 2θ graus.

Observa-se que a presença do HA afetou os gráficos do PLGA-10HA e do PLGA-20HA de formas diferentes, com picos maiores na região dos 30 a 35 graus no gráfico do PLGA-20HA.

Em busca de comprovar a presença dos grupos químicos de interesse do PLGA e HA dos scaffolds, foi realizado o teste FTIR, apresentando como resultado (figura 8):

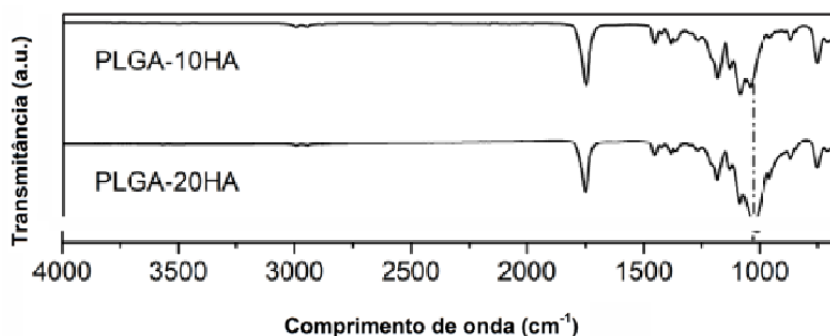


Figura 8: Resultados do teste FTIR, mostrando a Transmitância (a.u.) em função do Comprimento de onda (cm⁻¹).

Observa-se que nenhuma das amostras apresenta grandes picos na região do 3000, 1250 ou 750; os quais são características do FTIR do clorofórmio [4], mostrando que o mesmo está ausente nas amostras e, portanto, elas possuem biocompatibilidade promissora, levando em conta todas as características de biocompatibilidade do PLGA e do HA [5].

CONCLUSÕES:

Através das diversas análises realizadas, mostrou-se possível criar scaffolds biocompatíveis e osteocondutores capazes de auxiliar na regeneração óssea e, conseqüentemente em função da presença de rifampicina, prevenir e/ou auxiliar no combate contra a osteomielite. Futuros estudos mostram-se necessários para comprovar a efetividade dos scaffolds em experimentos in vivo.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Masters, E.A., Trombetta, R.P., de Mesy Bentley, K.L. et al. Evolving concepts in bone infection: redefining “biofilm”, “acute vs. chronic osteomyelitis”, “the immune proteome” and “local antibiotic therapy”. *Bone Res* 7, 20 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41413-019-0061-z>
- [2] Pereira Rodrigues, I.C., Tamborlin, L., Rodrigues, A.A., Jardini, A.L., Ducati Luchessi, A., Maciel Filho, R., Najar Lopes, E.S., Pellizzer Gabriel, L. (2020), Polyurethane fibrous membranes tailored by rotary jet spinning for tissue engineering applications. *J. Appl. Polym. Sci.*, 137, 48455. doi: <https://doi.org/10.1002/app.48455>
- [3] Sánchez, Lina Marcela Duque, Leonardo Rodriguez, and Marcos López. "Electrospinning: la era de las nanofibras." *Revista Iberoamericana de polímeros* 14.1 (2013): 10-27.
- [4] P.J. Linstrom and W.G. Mallard, Eds., NIST Chemistry WebBook, NIST Standard Reference Database Number 69, National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg MD, 20899, <https://doi.org/10.18434/T4D303>
- [5] Langer R, Vacanti J.P, Vacanti C.A, Atala A, Freed L.E, Vunjak-Novakovic G. Tissue engineering: biomedical applications. *Tissue Eng.* 1995 Summer;1(2):151-61. doi: 10.1089/ten.1995.1.151. PMID: 19877924.