

FABRICAÇÃO DE SCAFFOLDS POR MANUFATURA ADITIVA PARA APLICAÇÃO EM ENGENHARIA TECIDUAL.

Daniel A. L. V. da Cunha^{1*}, Marcia C. Branciforti².

1. Estudante de IC da Escola de Engenharia de São Carlos
2. EESC - USP - Departamento de Engenharia de Materiais / Orientadora.

Resumo:

A engenharia tecidual se define como a aplicação de um conjunto de métodos de engenharia e de ciência para o entendimento fundamental da relação entre a estrutura e a função de tecidos normais e patológicos visando o desenvolvimento de técnicas de restauração, manutenção e incrementação tecidual. Trata-se portanto, de uma alternativa possível para solução de problemas da saúde vinculados a regeneração de tecidos danificados.

Dentre as técnicas mais promissoras, destaca-se o desenvolvimento de armações de suporte denominados *scaffolds* que permitem a adesão, crescimento e propagação de células, visando a reestruturação controlada do tecido. Para que a restauração tecidual possa se realizar, os *scaffolds* devem cumprir certas exigências de propriedades e estrutura. O trabalho teve como objetivo a fabricação e caracterização de *scaffolds* de poli(ϵ -caprolactona) reforçados com Biosilicato[®] fabricados por manufatura aditiva por rosca de extrusão.

Palavras-chave: Engenharia Tecidual; Manufatura Aditiva; *Scaffolds*.

Apoio financeiro: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Trabalho selecionado para a JNIC pela instituição: USP.

Introdução:

Durante séculos, identificou-se como um dos grandes problemas vinculados à saúde, as lesões teciduais causadas por traumas mecânicos e doenças degenerativas. A remoção total ou parcial da região lesada era um meio comumente utilizado no passado, o que acarretava em diversas limitações e diminuição da qualidade de vida dos pacientes. Com o desenvolvimento da medicina e dos recursos terapêuticos, novas metodologias para substituição tecidual

surgiram e têm sido hoje, as principais formas de tratamento. Dentre esses procedimentos, podem-se citar as operações por transplantes e de enxerto que são totalmente dependentes de doadores compatíveis para a substituição e reconstrução dos tecidos ou órgãos.¹

A engenharia tecidual representa uma alternativa promissora para a solução das desvantagens vinculadas aos procedimentos atualmente utilizados para regenerar ou substituir órgãos e tecidos danificados ou perdidos.

Para se criar um tecido substituto vivo, um número pequeno de células pode idealmente ser colhido do paciente usando técnicas apropriadas de biopsia e então cultivado em laboratório. Estas células são expandidas em estruturas-suporte, denominadas *scaffolds*, que permitem o desenvolvimento das células de forma análoga às condições de diferentes tecidos. Segundo a norma ASTM F2150-13, os *scaffolds* são matrizes de biomateriais biocompatíveis e biodegradáveis que permitem com que as células sejam cultivadas, tendo como propósito a reconstrução do tecido *in vitro*.²

A manufatura aditiva é um processo proveitoso para a fabricação de *scaffolds* por apresentar vantagens como a precisão na deposição de material e repetibilidade, podendo obter estruturas complexas que estão dentro das especificações para a aplicação em engenharia tecidual.³⁻⁴

Neste contexto, o presente trabalho visou desenvolver *scaffolds* biocompatíveis que tenham propriedades adequadas capazes de garantir, simultaneamente o crescimento celular e a resistência mecânica para suportar a tensão do ambiente tecidual do hospedeiro. Métodos de caracterização foram realizados para a análise das propriedades mecânicas, morfológicas e biológicas dessas estruturas.

Os *scaffolds* fabricados são compostos pela poli(ϵ -caprolactona) (PCL) como matriz polimérica – um termoplástico sintético altamente utilizado na estruturação de *scaffolds* – em conjunto do Biosilicato[®] que foi adicionado como reforço cerâmico em

diferentes percentuais em massa, assegurando maior desempenho na aplicação.

Metodologia:

A preparação das composições de biomateriais foi dada no Laboratório de Biomateriais do Departamento de Engenharia de Materiais (SMM, EESC – USP). Neste procedimento, as quantidades do reforço Biosilicato[®] foram misturadas mecanicamente em proporções de 1, 3 e 5% em massa na matriz polimérica PCL CAPA[®] 6500.

Os *scaffolds* foram então produzidos mediante ao processo de impressão 3D por rosca de extrusão. A máquina de impressão 3D foi construída pelo Centro de Tecnologia da Informação Renato Archer (CTI), localizado em Campinas-SP.

Os parâmetros de processamento na manufatura dos *scaffolds* foram definidos a partir de testes prévios auxiliados pelo *software* de controle *Fab@HomeModel1*, de código aberto. Os parâmetros geométricos dos *scaffolds*, por sua vez, foram determinados pelo *software Bioscaffold PG* que permite gerar trajetórias de impressão contínuas em curto tempo.⁵ Ambos os programas citados foram desenvolvidos pela Divisão de Tecnologias Tridimensionais (DT3D) do CTI.

A Fab@CTI, impressora 3D utilizada no processo, possui características que facilitam as pesquisas em bioengenharia pois apresenta baixo custo de produção e requer baixas quantidades de material para a fabricação.⁶

Por fim, foram realizados métodos de caracterização para avaliar a possibilidade de aplicação dos *scaffolds* fabricados na engenharia de tecidos.

A caracterização das propriedades mecânicas ocorreu por ensaio de compressão de acordo com as especificações da norma ASTM D2990-0990.⁷ Utilizou-se a máquina de ensaio universal *Instron*[®] modelo 5969, com cargas e velocidade de compressão de, respectivamente, 1,5 kN e 1,3 mm/min. O *software Bluehill*[®] Software foi utilizado para gerir o teste e é compatível com a máquina de ensaios.

Na análise das propriedades morfológicas dos *scaffolds* buscou avaliar as dimensões dos poros obtidos, a interconectividade entre esses poros, além das características relacionadas à superfície da estrutura. Para isso, foi utilizada a técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) no equipamento FEI[®] Inspect F-50, disponibilizado

no SMM, EESC – USP.

O ensaio biológico *in vitro* foi realizado em colaboração com o Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular (LBBM) do Departamento de Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar). Essas análises procuram acompanhar a morfologia, adesão, migração, proliferação e a viabilidade celular em função de potenciais agentes tóxicos derivados dos biomateriais, sendo útil, portanto, para o estudo da biocompatibilidade dos *scaffolds* produzidos.

Resultados e Discussão:

Os resultados obtidos das propriedades mecânicas dos *scaffolds* fabricados demonstraram que os valores do módulo de elasticidade, ou seja, do parâmetro que proporciona a medida da rigidez da estrutura, estão de acordo com os valores exigidos para os tecidos ósseos (0,02 a 14,1 GPa), descritos em literatura.⁸ Com o aumento da concentração do reforço biocerâmico, observou-se acréscimo de até 200% do módulo elasticidade em relação à amostra de PCL sem reforço.

A análise morfológica dos *scaffolds* produzidos permitiu verificar a boa interconectividade e as adequadas dimensões dos poros da estrutura. Além disso, foi possível avaliar a dispersão e a distribuição do reforço biocerâmico.

A avaliação biológica *in vitro* mostrou que os *scaffolds* fabricados têm potencial para serem utilizados em aplicações em tecidos ósseos.

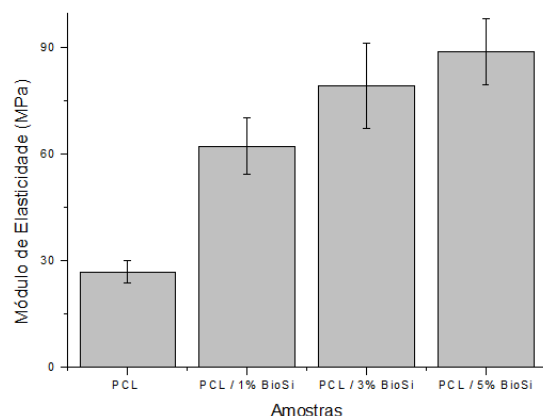


Figura 1 - Módulo de elasticidade médio dos *scaffolds*.

Conclusões:

Os parâmetros de geometria e de processamento definidos na pré-fabricação, permitiram obter *scaffolds* conformes e com morfologias adequadas para a aplicação em

engenharia de tecidos. As dimensões dos poros obtidos estão dentro da faixa de tamanho exigidos nas especificações e literaturas. Foi verificada também, a interconectividade entre os poros.

A incorporação do Biosilicato[®] influenciou diretamente o comportamento mecânico dos *scaffolds* quando submetidos ao ensaio de compressão. Houve o aumento da rigidez específica dos *scaffolds* com aumento dos teores de reforço biocerâmico, adequando assim, as propriedades mecânicas obtidas às exigências descritas em literatura.

Os testes biológicos *in vitro* concluíram a viabilidade celular e a proliferação das células nos *scaffolds* fabricados, o que permite concluir a não toxicidade da estrutura fabricada.

Desta forma, os *scaffolds* de biocompósitos de matriz polimérica de PCL reforçados por Biosilicato[®] têm potencial para aplicação na engenharia de tecidos, levando em consideração as propriedades mecânicas, morfológicas e biológicas obtidas neste trabalho.

Referências bibliográficas

1. IKADA Y. Challenges in tissue engineering. J R Soc. Interface 2006;3;589 – 601.
2. ASTM F2150-13: Standard Guide for Characterization and Testing of Biomaterial Scaffolds Used in Tissue-Engineered Medical Products.
3. LANGER R, Vacanti JP. Tissue Engineering Science, 1993; 260(5110):920-6.
4. ASTM 2009: *American Society for Testing and Materials*.
5. INFORÇATTI NETO, P. Dissertação de Mestrado, EESC – USP, 2013.
6. DÁVILA J. L., M. S. Freitas, P. Inforçatti Neto, Z. C. Silveira, J. V. L. Silva, M. A. D'Ávia. "Fabrication of PCL/ β -TCP scaffolds by 3D mini-screw extrusion printing". *Journal of Applied Polymer Science*, 2015.
7. ASTM D2990 – 0990 - Standard Test Methods for Tensile, Compressive, and Flexural Creep and Creep-Rupture of

Plastics.

8. WHITE, A.; BEST, S.; KINLOCH, I. *International Journal of Applied Ceramic Technology*, 4, 1-13, 2007.