



Biomateriais Projetados para Integração

Bruno B. Corona, Filipe L. Dal Ri, Marco A. O. Passos, Pedro Z. Segnini, Vitor Z. Segnini
bruno.corona@usp.br, filipe.ri@usp.br, marco.passos@usp.br, pedro.segnini@usp.br,
vitor.segnini@usp.br

RESUMO

Biomaterials Engineered for Integration é uma área de biomateriais que visa aumentar a integração de um material celular que ainda não se diferenciou (como por exemplo células tronco) com o tecido natural que está danificado no corpo humano, dessa forma essas células, no ambiente dos tecidos danificados, passaria por um processo de diferenciação, induzida pelo ambiente em que elas estarão presentes, para restaurar esses tecidos. Logo, a integração entre os novos tecidos formados por essas células e o danificado presente no paciente é de suma importância para essa área. Com esse objetivo em vista, uma boa integração entre esses meios pode ser obtida através da utilização de moldes projetados com biomateriais para atuarem não somente como um meio para se aderir e formar novos tecidos, mas também promover conexões funcionais entre os tecidos. [5]

Desde os primeiros projetos na área de tissue engineering, projetos de tecidos que serão usados no corpo humano, mostrou-se que há um grande potencial para aplicação em tratamentos médicos. A área de tissue engineering tem como objetivo reparar, restaurar e regenerar tecidos danificados do corpo humano, sendo que para isso é usado uma combinação de várias células e um molde tridimensional no qual essas células serão inseridas, esse molde tridimensional é nomeado de Scaffold ou Tissue-Engineered Constructs (TEC). As células usadas nessa combinação podem ser desde células que já passaram pelo processo de diferenciação, ou seja, que já são células de um determinado tecido como por exemplo ósseo e muscular, ou células tronco (adultas ou embrionárias) que não passaram por esse processo ainda.

O Scaffold (molde tridimensional), são normalmente manufaturados com biomateriais, pois esses são atóxicos e possuem uma probabilidade pequena, às vezes até inexistente, de rejeição quando implantados no corpo humano, além de poderem serem absorvidos pelo corpo após a restauração do tecido danificado.^[1,2] Esse molde tridimensional precisa satisfazer certos requisitos para ser considerado um possível candidato para gerar uma boa integração entre os tecidos e reparar o danificado. Alguns desses requisitos são a capacidade de se ligarem e integrarem ao tecido danificado, que é importante para o objetivo de recuperar o local danificado, e possuir uma série de canais interligados acessíveis, ou seja, ser poroso para permitir a difusão de células e nutrientes, divisão celular e a formação de vasos e nervos.[3]



Os formatos dos poros presentes no Scaffold são intimamente ligados com as suas propriedades mecânicas, desse modo um aumento na porosidade gera um comportamento mais flexível para esse molde tridimensional. Assim a escolha do Scaffold dependerá do tecido em que ele será implantado, pois as propriedades mecânicas desse molde devem combinar com às do tecido a ser restaurado, pois assim reduz o tempo de cultura *in vitro*, os custos e o tempo de imobilização do paciente após o processo. Porém é necessário encontrar um ponto ótimo entre as propriedades ideais e a porosidade que pode ser usada, pois um Scaffold com baixa porosidade também afeta a difusão de nutrientes, podendo acarretar inclusive uma necrose do tecido que foi projetado para o reparo. Assim o desafio hoje encontra-se principalmente em fabricar Scaffolds que permitam o desenvolvimento de vasos e nervos, bem como sua integração a essas estruturas já contidas nos pacientes, visto que elas requerem uma rede de poros muito mais acessível no Scaffold e sua formação e posicionamento podem diferir das estruturas da região a ser regenerada.

O processo de tissue engineering possui diversas etapas, sendo que a combinação do material celular com o Scaffold para servir como um meio para o crescimento do tecido é o primeiro passo. Os tecidos do corpo humano possuem uma estrutura hierárquica, ou seja, este é formado por diversos outros tecidos menores. Dessa forma, o projeto de um tecido deve possuir uma boa homogeneidade e integração entre todos esses durante a formação e desenvolvimento do projeto; vale ressaltar ainda que quando esse tecido for implantado no corpo humano, ele deverá formar uma interface contínua e homogênea com o tecido danificado, tanto no período de implantação quanto no de crescimento.

Somado a isso, é possível melhorar a integração do Scaffold e do tecido desenvolvido utilizando da composição química dos biomateriais, técnica que já é amplamente utilizada em tecidos que não possuem nervos e nem vasos sanguíneos como os tecidos cartilagosos. A composição química dos biomateriais pode ser manipulada através da modificação de sua cadeia principal ou alterando as propriedades físico-químicas da superfície de modo a aumentar a adesão, sendo que as interações químicas com os tecidos podem ser covalentes ou não-covalentes.

O material de cada enxerto varia dependendo da sua aplicação. Em geral, existem os materiais naturais e os sintéticos. Os naturais possuem maior aceitação pelo hospedeiro, dado que o mesmo não reproduz reações químicas estranhas ao corpo e os sintéticos devem ser desenvolvidos a melhorar esse aspecto [4]. Materiais como polímeros estão sendo pesquisados para tratamentos com tecidos mais sensíveis como é o caso da medula espinal em que são utilizados biopolímeros como base para os scaffolds[3,4]. Para aplicações em tecidos que requerem maior resistência, como no caso de regeneração de tecido ósseo, são utilizados materiais cerâmicos ricos em cálcio para facilitar e melhorar a integração da plataforma com as células *in vivo*[2]. Um dos biomateriais que vem sendo pesquisados como plataforma de integração celular são os hidrogéis (sintéticos ou naturais). Eles possuem um design similar ao material celular (ECM: Extracellular Matrix) facilitando a adesão e



troca de materiais pelas células, além de poder ser aplicado diretamente no paciente, não necessitando de procedimentos cirúrgicos [1].

A adesão das células à parede do scaffolds é muito importante qualquer que seja o seu material, para que seja possível o crescimento de tecido no enxerto. A fim de melhorar essa característica, diferentes peptídeos e proteínas são introduzidas na matriz do hidrogel. Um dos peptídeos que mais se destacou entre as pesquisas foi um peptídeo baseado em RGD (arginine-glycine-aspartate) que demonstrou alta efetividade na melhora de adesão e diferenciação de células em tecido cartilaginoso, bem como em tecidos mais resistentes ou maleáveis. Isso ocorre porque o RGD ativa uma proteína presente na membrana celular, a β 1-integrin, que atua como receptor celular e facilita a entrada ou adesão de ECM. Para aprimorar também a regeneração de tecido cartilaginoso, pode-se utilizar alguns polímeros oriundos do ECM para otimizar o desenvolvimento do tecido, de forma que a adição desses polímeros durante o processo de polimerização do scaffold, criam redes tridimensionais ou malhas fibrosas que facilitam a ligação da interface biológica-sintética. Dentre os polímeros adicionados, o que obteve maior destaque foi o chondroitin sulphate (CS) já que ele fortalece o processo de formação de cartilagem e facilita a adesão de células diferenciadas ou não.

Além disso, scaffolds baseados em hidrogel devem possuir a habilidade de se adequar ao ambiente no decorrer do período de aplicação para facilitar sua integração com o ECM e conectar o material celular do hospedeiro ao recriado no scaffold. Assim, torna-se possível a aplicação de scaffolds ainda fluidos em seres vivos, evitando intervenções cirúrgicas para o posicionamento de peças sólidas inteiras e outros métodos considerados mais invasivos. Um dos aditivos que demonstrou ser eficiente neste quesito foi a adição de transglutaminase, que consegue ligar o hidrogel à proteína presente no ECM além de ter demonstrado ser eficiente ao ligar estruturas sintéticas e naturais.

Com o objetivo de mimetizar mecanismos presentes em seres vivos, tem-se tentado replicar a capacidade de adesão das patas das lagartixas e dos moluscos em ambientes molhados (como o caso do corpo humano, que contém muita água), mas esses materiais ainda não foram testados *in vivo*.

Tratando-se de materiais que serão implantados em tecidos vivos, e de extrema importância a compatibilidade entre estes. Uma série de métodos então devem ser utilizados e desenvolvidos para ser possível avaliar como ocorre, e se ocorre de maneira desejada, a interação entre o tecido vivo e os TEC's. Dentre as técnicas mais fáceis para avaliação tem-se a análise visual utilizando microscópio e análises histológicas, que são mais precisas, podendo detectar eventuais descontinuidades na interface entre o tecido vivo e o TEC. Ambas as técnicas são feitas tecidos de cobaias ainda vivos (*in vivo*), e tem como resultados apenas parâmetros qualitativos de avaliação, além de que, em tecidos não expostos (como a pele por exemplo) só poder ser feita através de biópsias após sacrifício da cobaia.



Quando a avaliação lida com tecidos cartilagosos a técnica mais utilizada, no entanto, é de tecidos retirados de organismos vivos, ou seja, amostras de tecidos manipuladas em laboratório (in vitro). Utilizando de uma montagem de um "sanduíche" composto por duas camadas de cartilagem contendo uma camada de TEC entre estas, ou até mesmo um disco de cartilagem com seu centro preenchido por TEC's. Técnicas de microscopia confocal também podem ser utilizadas para avaliar e entender a integração entre os tecidos.

No entanto se faz necessária o desenvolvimento de novas técnicas que permitam uma avaliação quantitativa da interação e adesão entre os tecidos. Imagens de ressonância magnética vem tendo destaque nesse meio tendo como foco a análise do índice de relaxação spin-spin T2 como avaliação para a homogeneidade da interface entre a cartilagem natural e o tecido engenheirado. Outra técnica, oriunda de clínicas de neurocirurgia é a two- and multiphoton spectroscopy, que consiste na emissão de fótons direcionados que irão excitar determinadas proteínas (de acordo com seu comprimento de onda, e fazerem estas auto florescerem. Esta técnica permite um acompanhamento em tempo real do desenvolvimento e integração entre os tecidos, além de possibilitar avaliações em tecidos mais profundos.

A análise mecânica dos TEC's sozinhos ou em integração tem sido utilizada para avaliar a integração do tecido in vitro. A otimização do molde através de cisalhamento ou compressão direta em biorreatores mostrou tanto uma melhora na formação do tecido quanto em suas propriedades mecânicas. Tais estudos evidenciam a importância do estímulo mecânico na integração do tecido. Contudo, a interação na interface com tecidos naturais ainda é crítica.

Além disso, os testes em humanos são bem mais difíceis de avaliar, já que dependem de fatores como o bem estar do paciente, pois devido ao tempo, biópsias são inviáveis. Como alternativa, a análise radiológica e MRI, tem se demonstrado eficientes na análise pontual dos tecidos.

Em seres humanos, aspectos sociais, como dores e desconfortos do paciente são muito importantes, pois as técnicas de avaliação das propriedades dos scaffolds em organismos ainda vivos não têm capacidade de por si só trazer resultados suficientes para a determinação precisa do sucesso ou falha dos métodos empregados.

Pode-se definir como objetivo e foco da inovação fazer com que os tecidos engenheirados e seu meio sejam como um, de maneira que não sejam notadas diferenças morfológicas, anatômicas, fisiológicas e dinâmicas. Quanto mais próximo se chega disso, maior tende a ser o conforto do paciente, qualidade e velocidade de regeneração, que são os dados mais importantes quando se trata do desenvolvimento de novos tratamentos. O maior desafio dessa inovação hoje é o desenvolvimento de tecidos vasculares e nervais nos Scaffolds, bem como sua integração com o organismo a ser regenerado. Tudo isso deve ser aliado à busca constante por métodos cada vez menos invasivos aos organismos dos pacientes.



Palavras-chave: tissue engineering, regenerative biomaterials, biomaterials, biomedical engineering, scaffold, Tissue-Engineered Constructs.

Referências consultadas:

- [1] L. Moroni, J.H. Elisseeff. Biomaterials engineered for integration. *Materials Today*, v. 11, n. 5, p. 44-51, 2008.
- [2] James E. Fleming, Jr, MD, Charles N. Cornell, MD, and George F. Muschler, MD. Bone cells and matrices in orthopedic tissue engineering. *Orthopedic Clinics of North America*, v. 31 (n. 3), (2000) p. 357-369.
- [3] X. Chen, C. Fu, J.P. Thawani, L. Yan, J. Ding, B. Shi, Q. Zang. Polymer scaffolds facilitate spinal cord injury repair. *Acta Biomaterialia*, v. 88 (2019) p. 57-77.
- [4] S. Cohen, M.C. Baño, L. G.Cima, H. R. Allcock, J. P. Vacanti, C. A. Vacanti, R. Langer. Design of synthetic polymeric structures for cell transplantation and tissue engineering. *Clinical Materials*, v. 13 (n.1-4), (1993), p.3-10.
- [5] L. Oliveira, C. S. Oliveira, A. P. Machado, F. Rosa. Biomateriais com aplicação na regeneração óssea. *Revista de Ciências Médicas e Biológicas*, v. 9 (n. 1), (2010) p. 37-44
- [6] CHAN, W.D. et al. Tissue Engineering Scaffolds for the Regeneration of Craniofacial Bone. *J. Can. Dent. Assoc.*, v.75, n.5, p.373-377, 2009.
- [7] EL-GHANNAM, A. Bone reconstruction: from bioceramics to tissue engineering. *Expert Rev. Med. Devices*, v.2, n.1, p.87-101, 2005.
- [8] FURTH, M.E.; ATALA, A.; VAN DYKE, M.E. Smart biomaterials design for tissue engineering and regenerative medicine. *Biomaterials*, v.28, p.5068-5073, 2007.
- [9] KESTENBACH, H.J.; BOTA FILHO, W.J. *Microscopia eletrônica transmissão e varredura*. São Paulo: ABM, 1994.
- [10] RATNER, B.D.; HOFFMAN, A.S.; SCHOEN, F.J. *Biomaterials science. An introduction to materials in medicine*. 2ed. Amsterdam, The Netherlands/New York, NY: Elsevier/Academic Press, 2004.

BIOMATERIALS ENGINEERED FOR INTEGRATION

Key-words: tissue engineering, regenerative biomaterials, biomaterials, biomedical engineering, scaffold, Tissue-Engineered Constructs.