

FIBRAS ELETROFIADAS PARA ENGENHARIA DE TECIDOS

DOI: 10.22533/at.ed.5282313127

Patricia Pranke

Laboratório de Hematologia e Células-tronco, Faculdade de Farmácia; Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre – RS
Laboratório de Células-tronco, Instituto de Ciências Básicas da Saúde; Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre – RS
Instituto de Pesquisa com Células-tronco (IPCT), Porto Alegre – RS

Fernanda Stapenhorst França

Laboratório de Hematologia e Células-tronco, Faculdade de Farmácia; Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre – RS
Laboratório de Células-tronco, Instituto de Ciências Básicas da Saúde; Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre – RS

Bruna B. J. Leal

Laboratório de Hematologia e Células-tronco, Faculdade de Farmácia; Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre – RS
Laboratório de Células-tronco, Instituto de Ciências Básicas da Saúde; Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre – RS

Marcelo Garrido dos Santos

Laboratório de Hematologia e Células-tronco, Faculdade de Farmácia; Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre – RS
Laboratório de Células-tronco, Instituto de Ciências Básicas da Saúde; Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre – RS
Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre; Porto Alegre – RS.

7.1 INTRODUÇÃO À ENGENHARIA DE TECIDOS

No início da década de 1990, os pesquisadores Robert Langer e Joseph Vacanti descreveram uma nova área da ciência definida como “um campo multidisciplinar que aplica os princípios da engenharia e ciências da vida com o objetivo de desenvolver substitutos biológicos para restaurar, manter ou melhorar a função tecidual” e a chamaram de engenharia de tecidos.¹ Para atingir tal objetivo, materiais biocompatíveis que podem ser associados com células vivas e moléculas bioativas (tais como fatores de

crescimento) são empregados para produção destes substitutos, que devem apresentar similaridades com o tecido. Os estudos iniciais nessa área foram motivados pela crescente demanda por órgãos para transplante em seres humanos, sendo os primeiros testes realizados utilizando construtos produzidos com polímeros biodegradáveis e células hepáticas, intestinais e pancreáticas.¹ Apesar de a maioria dos estudos publicados que abordam a engenharia de tecidos estarem focados na regeneração estrutural e/ou funcional de órgãos e tecidos lesados, ela também pode ser empregada para a produção de suportes de vida extracorpóreo, construtos com fins diagnósticos e modelos teciduais de estudo.^{1,2} Devido à grande versatilidade dos biomateriais produzidos pelas técnicas de engenharia de tecidos, eles são estudados como alternativa para a regeneração de praticamente todos os tecidos humanos.^{1,2} Um exemplo de aplicação de biomateriais na engenharia de tecidos está ilustrado na Figura 7.1.

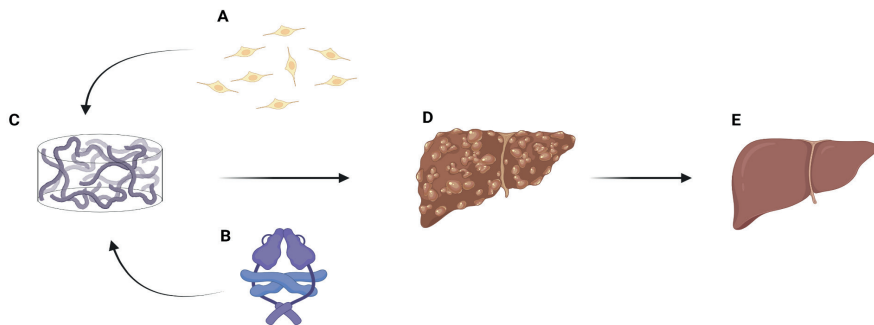


Figura 7.1. Representação do processo de produção e utilização de biomaterial na engenharia de tecidos. A combinação de (A) células e (B) fatores de crescimento com um (C) arcabouço biocompatível e sua implantação em um (D) tecido danificado leva à (E) regeneração do mesmo. Imagem puramente ilustrativa e fora de escala.

Embora as estratégias dentro da engenharia de tecidos sejam classicamente descritas pela união da tríade biomateriais, células e moléculas bioativas, não é necessário a utilização destes três elementos em conjunto. Um exemplo disto são abordagens que não utilizam biomateriais, onde células são administradas localmente ou sistemicamente sem um arcabouço de suporte.³ Neste tipo de abordagem, os melhores resultados são obtidos com a administração concomitante de moléculas bioativas, tais como os fatores de crescimento, capazes de ativar mecanismos intrínsecos de reparo tecidual. Existem também as abordagens que se baseiam no uso de biomateriais como arcabouços de suporte para células ou para liberação local e controlada de fármacos e outros compostos.^{3,4} Os biomateriais utilizados podem ser de origem natural ou sintética, podendo também ocorrer a combinação de materiais de naturezas diferentes. Dentre os biomateriais naturais, pode-se citar o ácido hialurônico, alginato, gelatina, colágeno, quitosana, celulose, dextran,

matriz extracelular (MEC) proveniente de um tecido descelularizado, entre outros. Os materiais sintéticos mais utilizados são: poli(ácido lático) (PLA), policaprolactona (PCL), ácido poliglicólico (PGA), ácido poli(lático-co-glicólico) (PLGA), entre outros. Cada classe de biomaterial apresenta características próprias, tornando-os aplicáveis em diferentes contextos. Os materiais naturais apresentam alta biocompatibilidade, estimulando a adesão e proliferação celular, rápida degradabilidade, com rigidez e força mecânica reduzida. Por outro lado, os materiais sintéticos usualmente apresentam melhores propriedades mecânicas (incluindo rigidez), com taxa de degradação lenta, porém podem ter uma biocompatibilidade menor em relação aos naturais.^{3,4}

Os biomateriais utilizados para engenharia de tecidos podem ser produzidos por meio de diferentes tecnologias, sendo os arcabouços considerados os melhores materiais para restaurar, manter e otimizar a função tecidual.⁵ Os principais tipos de arcabouços utilizados são arcabouços porosos, hidrogéis, arcabouços formados por nanoesferas, tecidos descelularizados, arcabouços compostos de polímeros e biocerâmicas e arcabouços fibrosos.⁵

Os arcabouços fibrosos são estruturas poliméricas porosas formadas por nanofibras com alta capacidade de mimetizar o ambiente natural dos tecidos humanos, sendo utilizados para a engenharia de tecidos moles e tecidos com alta rigidez, como o tecido ósseo. Estas estruturas apresentam ótimas propriedades biológicas, fornecendo um nicho para as células que promove a adesão, proliferação e diferenciação celular. Além de atuarem como suportes celulares, as nanofibras podem ser utilizadas como veículos de liberação controlada de fármacos e outras moléculas bioativas, como proteínas e fatores de crescimento. Uma técnica amplamente utilizada para a produção destes arcabouços é a eletrofiação, que permite a produção de fibras alinhadas ou randômicas produzidas através de diversos polímeros. A fim de aumentar sua atividade, é possível funcionalizar essas fibras, por meio da mistura de mais de um polímero na composição utilizada na sua produção ou através da modificação da superfície das mesmas.⁵ A grande versatilidade dos materiais eletrofiados permite sua aplicação na regeneração de diversos tecidos e sistemas. Neste capítulo iremos abordar as particularidades destes materiais aplicados em diferentes, bem como diferentes formas de aplicação das fibras.

7.2 SISTEMA NERVOSO

Lesões no sistema nervoso podem levar a sérias consequências para o paciente e, portanto, apresentam-se como importantes alvos de estudo no campo da medicina regenerativa. O sistema nervoso central (SNC), composto pelo encéfalo e medula espinal, possui uma capacidade de regeneração muito limitada, enquanto o sistema nervoso periférico (SNP), composto por nervos, é capaz de se regenerar após uma lesão.⁶ Diversos mecanismos estão envolvidos na limitação da regeneração do SNC, principalmente a

presença de moléculas inibitórias na matriz extracelular (MEC) e na mielina, astrocitose reativa e a necessidade de fatores de crescimento para que a regeneração seja possibilitada.⁷ Por outro lado, no caso de lesões do SNP, após uma lesão em um nervo, há a produção de uma MEC permissiva e fatores neurotróficos pelas células de Schwann, facilitando a regeneração axonal.⁶

Nesse sentido, a técnica de eletrofiação vem sendo amplamente explorada como uma ferramenta na engenharia de tecidos para a regeneração do sistema nervoso. Uma das vantagens desta técnica para o SN é a possibilidade de produzir fibras alinhadas, de forma a guiar a orientação da regeneração axonal.⁸

A densidade de fibras utilizadas em um biomaterial é um importante fator que influencia na regeneração axonal. Arcabouços com diferentes densidades de fibras foram implantados em um modelo animal de lesão da medula espinal (LME) e o nível de regeneração foi avaliado.⁹ Foi observado que materiais com maior densidade de fibras e, portanto, menores espaços entre as fibras, levou a um maior crescimento axonal e uma melhor integração do implante. Ainda, não foram observadas diferenças na infiltração de células do hospedeiro e na vascularização entre as diferentes densidades. Dessa forma, a produção de arcabouços com maior densidade de fibras parece ser mais favorável na regeneração axonal após LME.

Outra característica importante de biomateriais eletrofiados é o alinhamento das fibras. Um estudo com células-tronco embrionárias de camundongo comparou a adesão e a diferenciação celular em fibras de PLGA alinhadas ou randomizadas.¹⁰ Observou-se que não houve diferenças em termos de adesão e viabilidade, mas as células cultivadas nas fibras alinhadas apresentaram maior expressão de marcadores neuronais após a diferenciação, bem como uma morfologia mais alongada. Esse efeito pode ser explicado pelo fato de que a medula espinal possui tratos axonais alinhados, de forma que um biomaterial alinhado melhor mimetize o ambiente neuronal.

Além disso, fibras podem ser produzidas com alterações em suas composições com o objetivo de otimizar a diferenciação de células-tronco em células neuronais. A funcionalização de fibras de PCL com laminina e peptídeo RGD, que são moléculas de adesão celular, foi avaliada em uma cultura de células-tronco neurais (CTN).¹¹ Observou-se uma distribuição alinhada das CTNs na presença de fibras alinhadas e, principalmente, em fibras contendo laminina ou peptídeo RGD. Entretanto, apesar de ambas as moléculas melhorarem a adesão e proliferação celular, as fibras contendo laminina levaram a maior expressão de marcador neuronal e maior desenvolvimento de neuritos após a diferenciação em comparação com os demais grupos.

Um dos materiais muito utilizado na produção de fibras para engenharia de tecidos é o PLGA. Esse polímero é biocompatível, biodegradável e aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) para uso humano. Entretanto, ele apresenta considerável hidrofobicidade que dificulta sua interação com diferentes tipos celulares. Assim, um estudo

avaliou a combinação de PLGA com polietileno glicol (PEG), um polímero hidrofílico e de baixa toxicidade, para a produção de fibras por eletrofiação.¹² Quando células neurais humanas foram cultivadas no biomaterial de PLGA/PEG, observou-se um aumento da viabilidade celular, tanto em comparação com o grupo controle como com células cultivadas em um biomaterial contendo apenas fibras de PLGA. Além disso, a combinação com PEG levou à presença de neuritos mais longos e maiores conectividades sinápticas quando comparado a células cultivadas apenas em fibras de PLGA. Esse resultado também pode ser obtido pela funcionalização das fibras de PLGA com N-desacilase-hidrolisada monosialotetrahexosilgangliosídeo (LysoGM1).¹³ Essa funcionalização também levou a uma melhora *in vivo* após uma lesão cerebral. Assim, demonstra-se que a combinação de polímeros com diferentes propriedades pode levar a melhora de resultados na regeneração do sistema nervoso.

Outro uso de biomateriais eletrofiados na engenharia de tecidos do sistema nervoso é via a incorporação de fármacos nas fibras visando à obtenção de um sistema de liberação controlada. Nesse sentido, um fármaco que pode ser utilizado é o antagonista de cálcio nimopidina, devido às suas propriedades neuroprotetoras. Em um estudo onde fibras de PLGA foram produzidas contendo esse fármaco, observou-se uma liberação sustentada da nimopidina por 4 a 8 dias.¹⁴ Quando células de Schwann, neurônios e astrócitos foram cultivados nesse biomaterial, houve uma diminuição da morte celular após diferentes estímulos estressantes, como estresse osmótico, oxidativo e de calor. Apesar de ter sido testado apenas *in vitro*, esse biomaterial apresentou potencial para o tratamento de lesões cerebrais.

Outro estudo utilizou a eletrofiação coaxial para o desenvolvimento de um material de PLGA contendo o fator de crescimento de fibroblastos básico (FGF-2) para ser utilizado após LME.¹⁵ *In vitro*, as fibras levaram a uma boa adesão e proliferação celular. Quando aplicado em um modelo animal de LME, houve melhora na função locomotora e observou-se uma infiltração dos astrócitos locais, bem como a presença de fibras neuronais pelo biomaterial.

Biomateriais eletrofiados também são muito utilizados na regeneração após lesão de nervo periférico. Um estudo comparou materiais desenvolvidos com fibras alinhadas e randomizadas de PCL, através do cultivo de gânglio da raiz dorsal (GRD), em um biomaterial composto de duas camadas, sendo a de cima de fibras alinhadas e a de baixo de fibras randomizadas.¹⁶ Esse material de camada dupla foi comparado com construtos de camada simples, composto apenas de fibras alinhadas ou apenas de fibras randomizadas. Observou-se que as fibras randomizadas prejudicaram a extensão dos neuritos do GRD em comparação ao biomaterial produzido apenas com fibras alinhadas. Entretanto, quando o biomaterial de camada dupla foi pré-tratado com células de Schwann, este efeito negativo foi mitigado. A partir disso, foi produzido um conduíte com o material de camada dupla e células de Schwann, e foi observada uma boa regeneração após transecção do

nervo isquiático. Este efeito positivo do pré-tratamento com células de Schwann deve-se ao fato de que estas células adquiriram a morfologia das nanofibras da camada de cima do biomaterial. Assim, o pré-tratamento faz com que elas guiem a extensão de neuritos durante o processo regenerativo.

Em outro trabalho, nanopartículas superparamagnéticas de óxido de ferro (do inglês, *superparamagnetic iron oxide nanoparticles* - SPIONs) funcionalizadas com ácido oleico foram incorporadas em fibras de PLLA misturando-as na solução a ser eletrofiada, tornando-as responsivas magneticamente para serem alinhadas e posicionadas in situ através da aplicação de um campo magnético.¹⁷ Um esquema do desenho experimental pode ser observado na Figura 7.2. Observou-se um aumento do crescimento de neuritos de neurônios do GRD em fibras contendo SPIONs em comparação com fibras controle. Em um modelo de cultivo 3D, um explante de GRD suspenso em hidrogel foi utilizado e as fibras de PLLA contendo SPIONs funcionalizadas por laminina foram injetadas e orientadas utilizando ímãs, de forma que uma das extremidades das fibras ficasse em contato com o corpo do GRD. Após a incubação, observou-se que os neuritos em contato com as fibras seguiram sua orientação e mantiveram-se alinhados mesmo na ausência do campo magnético, ao passo que neuritos que não estavam em contato com as fibras estenderam-se em um padrão radial. Ainda, houve um aumento no comprimento dos neuritos na presença das fibras.

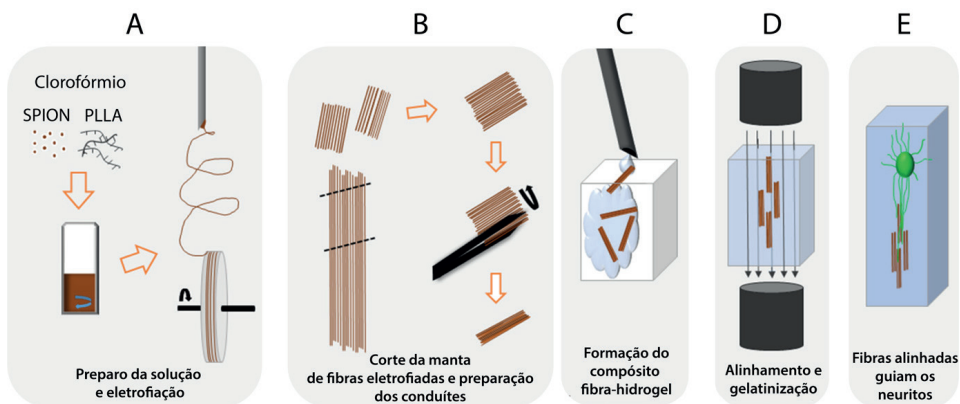


Figura 7.2. Esquema do uso de nanofibras de PLLA contendo SPIONs para a regeneração do sistema nervoso: (A) Nanopartículas de óxido de ferro superparamagnéticas revestidas com ácido oleico são misturadas na solução de eletrofiadação contendo PLLA e clorofórmio por agitação constante. Uma vez dissolvida, a solução é eletrofiada levando a formação de manta com fibras alinhadas. (B) A manta é removida do coletor e cortada em segmentos de aproximadamente 3 x 5 mm. Com auxílio de um fórceps, as mantas são cuidadosamente enroladas em um pequeno condutor que se encaixa no orifício interno da agulha. (C) Condutor e hidrogel são injetados em uma câmara. (D) Campo magnético é aplicado para orientar as fibras dentro do hidrogel até que o hidrogel seja solidificado. (E) O campo magnético é removido e as fibras permanecem alinhadas para guiar os neuritos de neurônios do GRD. Adaptada com permissão da referência 17. Copyright 2019 American Chemical Society.

Um outro importante trabalho reportou a utilização de várias técnicas combinadas para a produção de um conduíte.¹⁸ Foram produzidas fibras alinhadas de gelatina e PEO, as quais foram enroladas, de modo a formar pequenos cilindros, os quais foram fixados em um molde cilíndrico. Em seguida, o molde cilíndrico foi preenchido por gelatina, nanopartículas de gelatina contendo fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e um gradiente de fator de crescimento neuronal (NGF), conforme mostrado na Figura 7.2. Observou-se uma liberação mais rápida de NGF do que de BDNF, devido ao fato deste último estar encapsulado nas nanopartículas de gelatina. Quando as CTN diferenciadas (dCTNs) foram cultivadas em diferentes partes desse biomaterial, houve o crescimento axonal alinhado paralelamente às fibras alinhadas. Já o cultivo no gradiente de NGF demonstrou um aumento na densidade celular e na extensão axonal com o aumento da concentração do fator. Além disso, o co-cultivo de dCTNs e células de Schwann no *scaffold*, contendo o gradiente de NGF e as partículas de BDNF, levou a um aumento na expressão de MBP, um marcador de mielina. *In vivo*, o biomaterial levou a uma boa regeneração do nervo isquiático após transecção, apresentando níveis de diâmetro axonal, espessura da bainha de mielina e diâmetro de fibras mielinizadas, bem como níveis de atrofia muscular, comparáveis ao grupo de enxerto autólogo.

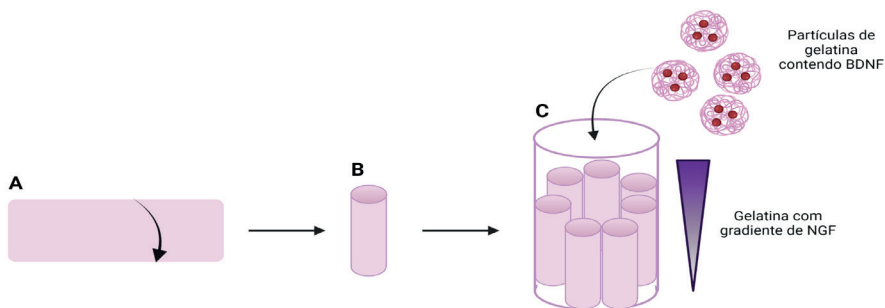


Figura 7.3. (A) Fibras alinhadas de gelatina e PEO foram enroladas para formar (B) um cilindro. (C) Um conjunto de cilindros foi fixado em um molde cilíndrico que foi preenchido por gelatina contendo um gradiente de NGF, onde foram adicionadas partículas de gelatina contendo BDNF.

7.3 OSSO

Quando a engenharia de tecidos e desenvolvimento de biomateriais tem como foco a regeneração óssea, deve-se ter em mente a composição deste tecido. A MEC do tecido ósseo é composta de uma parte orgânica e uma parte inorgânica, onde a primeira constitui-se principalmente por fibras de colágeno e glicosaminoglicanos (GAGs), conferindo ao tecido a capacidade de suportar forças de tração e compressão. Já a parte inorgânica é constituída de minerais, como hidroxiapatita de cálcio e fosfato, que também estão relacionados com a resistência mecânica do tecido. Além disso, o osso é composto por diversos tipos celulares,

como osteoblastos, osteoclastos e osteócitos. Assim, um biomaterial para ser usado na regeneração óssea deve ser biocompatível e possuir propriedades mecânicas similares às do osso. Ainda, deve apresentar uma porosidade que permita a adesão celular e a difusão de nutrientes, mas não poroso o bastante para prejudicar a resistência mecânica.¹⁹

Os polímeros mais utilizados para eletrofiação na engenharia de tecidos ósseos podem ser tanto naturais como sintéticos. Dentre os naturais, os mais comuns são quitosana, colágeno, gelatina, seda, alginato e celulose, ao passo que os polímeros sintéticos incluem poli(vinil álcool) (PVA), PEO, PCL, PLGA e PLA.¹⁹ Em geral, é utilizada uma combinação de polímeros sintéticos e naturais com outros materiais. Devido ao fato do PLLA ser hidrofóbico e pouco osteocondutor (propriedade relativa a capacidade do crescimento ósseo em uma superfície), este polímero foi usado juntamente com gelatina metacrilada (GelMA) e nano-hidroxiapatita (nHA) na produção de fibras pela técnica de eletrofiação.²⁰ Essa combinação demonstrou ser mais adequada em termos de resistência à tração, hidrofiliabilidade e degradação em comparação com biomateriais de PLLA e PLLA/GelMA apenas. Além disso, as fibras de PLLA/GelMA/nHA apresentaram melhor citocompatibilidade e adesão celular, bem como maior diferenciação osteogênica de células-tronco da medula óssea. *In vivo*, o material também levou a maior regeneração osteogênica após defeito da calvária em ratos.

A MEC de órgãos ou tecidos também pode ser usada como material potencial para agregar poder regenerativo quando combinada com polímeros para a produção de fibras. A MEC possui diversas proteínas que regulam a adesão e proliferação celular, e pode ser obtida a partir da descellularização de um tecido ou até mesmo de uma cultura de células.²¹ No estudo de Junka e colaboradores,²¹ a MEC descellularizada (dMEC) de osteoblastos e de células endoteliais cultivadas em fibras de PCL foi usada para a produção de um biomaterial de camada dupla, sendo uma das camadas compostas por fibras de PCL e a outra por dMEC das células endoteliais ou de dMEC de osteoblastos, ou ainda uma camada de dMEC de células endoteliais e outra camada de dMEC de osteoblastos (Fig. 7.3). *In vitro*, o material composto de dMEC de osteoblastos e fibras de PCL apresentou maior proliferação de osteoblastos e deposição mineral. No entanto, *in vivo*, o material com ambas dMECs levou a um maior crescimento e regeneração óssea em comparação com arcabouços feitos com apenas uma das dMECs.

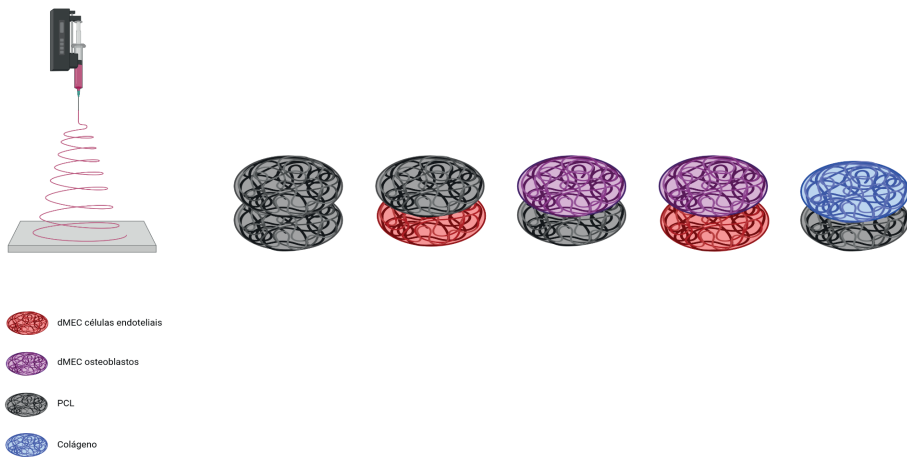


Figura 7.4. A dMEC de osteoblastos e de células endoteliais cultivadas em fibras de PCL foi utilizada para eletrofição, e os materiais eletrofiados foram combinados de diferentes formas para serem testados como arcabouços para a regeneração óssea.

Outra forma de otimizar as propriedades de fibras eletrofiadas é através da associação com materiais obtidos por outras técnicas para a produção de biomateriais híbridos. Um estudo incorporou fibras eletrofiadas de acetato de celulose e PCL em um aerogel de quitosana.²² Aerogéis são materiais derivados de géis, onde a parte líquida é substituída por gases, formando um material extremamente leve. Eles apresentam boa morfologia e biocompatibilidade, com uma grande área de superfície e porosidade. O material apresentou boa biocompatibilidade e adesão celular. Além disso, houve uma maior expressão de marcadores de diferenciação celular osteogênica e produção de colágeno tipo I. Apesar de ter sido testado apenas *in vitro*, o estudo traz uma abordagem inovadora na engenharia de tecidos ósseos.

Variações da técnica de eletrofição também podem trazer benefícios para a produção de biomateriais para regeneração óssea. A eletrofição de polímeros fundidos (*melt electrospinning*), por exemplo, traz vantagens pois dispensa o uso de solventes orgânicos que muitas vezes são tóxicos para as células. PCL fundido foi eletrofiado em coletores de malha de fios em formato de redomas, os quais estavam em uma placa móvel. Esse sistema proporcionou a fabricação de um biomaterial tridimensional poroso, e que apresentou boa citocompatibilidade, adesão e proliferação de osteoblastos.²³

7.4 CARTILAGEM

A cartilagem humana é um tecido avascular, não innervado e sem a presença de vasos linfáticos e, por isso, apresenta baixa capacidade de regeneração endógena. O tecido cartilaginoso é formado por condrócitos compactados em uma MEC rica em

proteoglicanos e colágeno, que formam diversas fibras tridimensionais.²⁴ Sua função é atuar como um amortecedor no local de união de dois ou mais ossos, articulando o movimento desta região. Lesões neste tecido induzem um processo inflamatório que causa a degradação tecidual e osteoartrite, podendo culminar em redução da mobilidade e dor local.^{24,25} Os tratamentos clínicos utilizados, como as microfraturas e implantação autóloga de condrócitos, não levam a regeneração tecidual completa, além de necessitarem de cirurgias complexas.²⁶ Nesse contexto, o uso da técnica de eletrofiação é uma estratégia promissora para obtenção de biomateriais para o tratamento de defeitos na cartilagem devido à sua capacidade de produzir arcabouços funcionalizados com diversos tamanhos de fibra, porosidade, alinhamento e com propriedades mecânicas ideais para estimular a regeneração da cartilagem.^{2,6,27}

As células-tronco, por sua grande capacidade de gerarem diferentes linhagens celulares maduras e funcionais, são amplamente exploradas na engenharia de tecidos. A diferenciação de células-tronco mesenquimais é fortemente influenciada pela rigidez e elasticidade de um biomaterial e por isso estes fatores são determinantes no destino das células-tronco.²⁷ A utilização de nanofibras eletrofiadas compostas por poliuretano (PU) e PCL, por exemplo, foi capaz de produzir um arcabouço elástico e com baixa rigidez, compatíveis com as propriedades mecânicas da cartilagem natural.²⁷ Essa similaridade é fundamental para que, em futuros estudos, células-tronco cultivadas neste material possam se diferenciar em condrócitos funcionais. A incorporação de colágeno tipo I e sulfato de condroitina na composição deste biomaterial aumentou sua capacidade de mimetizar o tecido cartilaginoso e, por isso, a capacidade de regeneração *in vivo* de uma cartilagem danificada.

Um dos obstáculos da utilização de biomateriais com alta concentração de nanofibras é a baixa porosidade do material, o que impede a infiltração das células e compromete o processo de diferenciação e regeneração.² A tridimensionalidade do material também deve ser considerada durante sua produção, devido a importância da mimetização da matriz pelo biomaterial. Diferentes abordagens são utilizadas para superar estes problemas. Por exemplo, Li e colaboradores²⁴ realizaram a homogeneização com terc-butanol e posterior liofilização de membranas produzidas com nanofibras de PCL e gelatina, produzindo materiais 3D porosos. Os biomateriais obtidos foram capazes de mimetizar a estrutura de uma cartilagem natural e mantiveram a integridade de sua estrutura após imersão em água. Esse arcabouço estimulou não somente a proliferação de condrócitos, mas também a produção de colágeno e GAGs, atividade fundamental para a regeneração da cartilagem.

Outra maneira de produzir materiais tridimensionais altamente porosos é através da utilização de fibras de diferentes diâmetros para fabricação do biomaterial. Dados da literatura demonstram que o diâmetro da fibra influencia o desenvolvimento do tecido, sendo as fibras na nanoescala mais utilizadas por apresentarem maior similaridade com o tecido.²⁸ A utilização de um sistema de extrusão dual capaz de depositar dois tipos de

fibras em um rotor pode ser utilizado para produzir um arcabouço com micro- e nanofibras misturadas, podendo também ser compostas por materiais diferentes. Essa técnica foi utilizada para a produção de arcabouços utilizando apenas PCL ou combinando PCL e fibrina.²⁸ Ambos os arcabouços apresentam alta porosidade e estimulam a produção de GAGs, sendo promissores para a regeneração de cartilagem.

Conforme discutido anteriormente, a tridimensionalidade e propriedades mecânicas de um arcabouço polimérico tem um papel central no sucesso deste material na regeneração de um tecido. A liofilização de um material eletrofiado permite a produção de um arcabouço com compressibilidade, rigidez e elasticidade ideais para a regeneração do tecido cartilaginoso, porém este processo compromete a biocompatibilidade do material. A modificação da superfície destes biomateriais utilizando componentes da MEC nativa promove a estimulação mecânica das células e aumenta a interação entre as células e das células com a própria MEC. Dessa forma, essa modificação cria um microambiente estável capaz de guiar a regeneração tecidual. O sulfato de condroitina, um membro da família das GAGs e um dos principais componentes da matriz cartilaginosa, apresenta atividade condrogênica, antiinflamatória e regula a formação da cartilagem.²⁹ A funcionalização de nanofibras de PLA e gelatina com sulfato de condroitina não comprometeu as propriedades mecânicas deste material e manteve uma alta biocompatibilidade em células-tronco cultivadas neste arcabouço.²⁹ Além disso, também diminuiu a expressão de óxido nítrico e promoveu a proliferação e diferenciação de células-tronco em comparação às fibras não funcionalizadas. Por esses fatores, a funcionalização das fibras com sulfato de condroitina permitiu a criação de um arcabouço capaz de estimular a regeneração da cartilagem.

Os hidrogéis (maiores detalhes no Capítulo 6) são amplamente estudados na engenharia de tecidos da cartilagem pela similaridade de sua estrutura hidratada com o ambiente da cartilagem. A utilização de polímeros naturais, como a quitosana e a seda, na produção de hidrogéis permite a fabricação de biomateriais biodegradáveis e biocompatíveis. Contudo, os hidrogéis apresentam propriedades mecânicas deficientes, limitando a capacidade de regeneração destes materiais. Uma estratégia para solucionar esses problemas é a utilização de nanofibras eletrofiadas para reforçar o hidrogel, melhorando as propriedades mecânicas e conservando as ótimas propriedades biológicas deste arcabouço. Um arcabouço formado por um hidrogel de quitosana e fibras de seda reforçado com fibras eletrofiadas de poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato) (PHBV) apresentou uma estrutura porosa e hidratada similar à estrutura do tecido cartilaginoso. O reforço do hidrogel utilizando as nanofibras também garantiu melhores resultados em termos de estabilidade térmica, resistência à compressão e diferenciação condrogênica quando comparado ao hidrogel sozinho.³⁰

Polímeros sintéticos apresentam grande flexibilidade em sua estrutura molecular e propriedades físico-químicas, características fundamentais para a aplicação na área biomédica, conforme citado anteriormente neste capítulo. Porém, esses materiais não

apresentam domínios funcionais na sua estrutura, limitando a interação destes polímeros, em grande parte hidrofóbico, com as células e sua biocompatibilidade. A utilização de fibras compostas formadas por polímeros sintéticos e naturais combina as características desejáveis dos materiais sintéticos e a biocompatibilidade dos materiais naturais, fornecendo sítios de ligação para as células. A escolha dos materiais que irão compor a fibra e a razão entre polímero natural/polímero sintético irão determinar as propriedades mecânicas e biológicas do arcabouço formado e, portanto, a sua capacidade de regeneração do tecido.³¹ A análise de nanofibras de gelatina/PCL com diferentes razões entre estes polímeros demonstrou que o ângulo de contato, a resistência mecânica e o módulo de Young aumentaram com o aumento da concentração de PCL. Embora diferenças na razão de gelatina/PCL não tenham exercido influência na biocompatibilidade do material *in vitro*, concentrações mais altas de PCL foram desfavoráveis para a regeneração tridimensional da cartilagem. Devido à baixa degradabilidade do polímero sintético, a deposição de MEC pelas células cultivadas não foi contínua e homogênea, prejudicando especialmente a regeneração de tecidos complexos, como a cartilagem auricular.^{31,32}

7.5 MÚSCULO

O músculo esquelético é um tecido formado por miócitos, células polinucleadas com formato de fibras envoltos por membranas de colágeno. Os miócitos são agrupados por essas membranas em estruturas fibrosas alinhadas de alta complexidade que permitem o movimento coordenado do tecido, com baixa rigidez e alta elasticidade.³⁴ As principais funções do músculo são o suporte do corpo, suporte de cargas, permitir o movimento e gerar calor. O tecido muscular apresenta uma capacidade de regeneração endógena superior à de outros tecidos (como a cartilagem e o tecido neural), principalmente devido à ativação de células satélites musculares e células-tronco circulantes em resposta ao dano. Contudo, quando ocorre um dano muito extenso, ocorrendo perda volumétrica do músculo ou um processo danoso crônico, esse mecanismo endógeno não é capaz de promover uma regeneração completa do músculo, causando perdas funcionais no indivíduo afetado. As estratégias utilizadas atualmente para o reparo do músculo danificado incluem o transplante de tecido de um doador, transplante autólogo, reconstrução cirúrgica, entre outros. Porém, essas abordagens também não promovem a regeneração completa do tecido, além de apresentarem problemas como a baixa disponibilidade de doadores, a necessidade de biocompatibilidade, a morbidade local em casos de transplante autólogo e a necessidade de uma equipe cirúrgica altamente treinada e especializada. Nesse contexto, o desenvolvimento de biomateriais capazes de dar suporte para uma regeneração funcional deste tecido é fundamental para o avanço da engenharia de tecidos do músculo.³³⁻³⁵

Para que um substituto tecidual cumpra sua função de regenerar o músculo é indispensável que ele apresente similaridade com a estrutura de suporte dos miócitos, ou

seja, a MEC e moléculas de sinalização. É importante que esse arcabouço permita não somente a interação do material com as células e o crescimento destas células, mas também a difusão gasosa e de nutrientes por toda a sua estrutura. Esse biomaterial precisa ainda ter uma taxa de degradação compatível com a taxa de regeneração do tecido. Polímeros naturais, como a gelatina e o fibrinogênio, apresentam sítios de ligação e adesão celular, estimulando o crescimento e proliferação celular. Além disso, sua hidrofiliçidade permite a difusão de nutrientes através de sua estrutura permitindo a migração celular. Esses dois biopolímeros podem ser eletrofiados para a produção de um arcabouço fibroso capaz de estimular o crescimento e migração de células musculares cultivadas nele.³⁵ Conforme descrito na seção anterior, a razão entre os polímeros que compõem a fibra influencia a interação do arcabouço com as células. Os autores compararam fibras compostas por gelatina/fibrinogênio em uma razão 4:1 com fibras compostas por essa mistura na razão 1:1 e também com fibras apenas de gelatina. Foi observado que a composição em 4:1 estimulou maior proliferação e migração celular em comparação com os outros dois grupos. Isso pode ser justificado pelo fato de a gelatina permitir a adesão celular ao passo que o fibrinogênio promove a proliferação celular.

As propriedades biológicas da MEC são um dos fatores mais importantes e difíceis de serem mimetizados durante a produção de um biomaterial para a engenharia tecidual. Os componentes da matriz, como os GAGs, colágeno, peptídeos e fatores de crescimento modulam a atividade celular, em condições fisiológicas ou durante o processo de regeneração tecidual, em resposta a um insulto. A descelularização da MEC permite a produção de biomateriais que apresentam essas propriedades, uma vez que são formados pelos componentes da matriz natural do tecido. Aliando a descelularização do tecido muscular com a eletrofiação é possível fabricar arcabouços capazes de direcionar a atividade celular e com a estrutura tridimensional necessária para promover a regeneração do músculo. Geralmente é necessário a utilização de um polímero combinado com a dMEC (ou mesmo com algum de seus componentes) para permitir a formação da fibra. Porém, a homogeneização do tecido descelularizado e posterior filtração para retirada de partículas com tamanho superior a 300 µm possibilita a fabricação de um arcabouço eletrofiado composto exclusivamente do material descelularizado. Esse arcabouço apresenta uma alta porosidade e, quando depositado aleatoriamente no coletor, apresenta propriedades mecânicas similares às do músculo, fatores fundamentais para o sucesso da regeneração do tecido.^{36,37}

A utilização de materiais capazes de transformar energia em movimento, como os polímeros condutores, permite a fabricação de arcabouços com propriedades eletromecânicas próximas àquelas do tecido muscular.³⁸ Embora esses polímeros apresentem uma boa biocompatibilidade, estes materiais são frágeis e pouco solúveis, fazendo com que seja difícil de se manipular e, conseqüentemente, de se produzir um material que replique a estrutura do músculo. Uma estratégia para solucionar esse

problema é a combinação do polímero condutor com outro biomaterial capaz de produzir uma estrutura fibrosa e alinhada. A utilização de nanofibras de seda revestidas com os polímeros condutores polipirrol ou poli(hidroxi-metil-3,4-etilenodioxo tiofeno) permite a fabricação de arcabouços que apresentam as propriedades eletromecânicas do músculo, com condutividade elétrica e estrutura formada por fibras altamente alinhadas.³⁸

Outra maneira para a produção de um biomaterial capaz de conduzir um impulso elétrico é a incorporação de nanopartículas na solução polimérica previamente ao processo de eletrofiação. A utilização de PLLA e nanopartículas de ouro na produção do arcabouço permitiu a fabricação de um material biocompatível, biodegradável e com condutividade elétrica, mas apresentou propriedades mecânicas diferentes das propriedades do músculo.³⁹ A combinação de PCL, nanotubos de carbono e um hidrogel de ácido poliacrílico (PAA)/PVA também permitiu a produção de um arcabouço fibroso por meio da eletrofiação coaxial.⁴⁰ Apesar de apresentar propriedades mecânicas diferentes daquelas do tecido muscular, esse material apresentou alta biocompatibilidade e estimulou a presença de células multinucleadas. Esse arcabouço também apresentou condutividade elétrica, evidenciando a possibilidade de utilização dessa tecnologia para a produção de um material capaz de regenerar o músculo esquelético.

Conforme discutido anteriormente, a engenharia de tecidos é definida pela tríade biomaterial, moléculas bioativas e células. A escolha da linhagem celular utilizada na produção de um arcabouço para regeneração de um tecido influencia diretamente o sucesso da abordagem. As células satélites musculares apresentam uma fonte celular promissora, pois participam do processo endógeno de regeneração do músculo. Porém, essas células perdem a capacidade de diferenciação se sofrerem muitas passagens durante o cultivo e por isso não podem ser a única fonte celular para o transplante.⁴¹ Já as células-tronco mesenquimais (CTMs) da medula óssea são altamente disponíveis, podem sofrer diversas passagens em cultura sem comprometer a capacidade de diferenciação e apresentam capacidade imunossupressora, sendo uma vantagem contra a rejeição de tecidos após o transplante. Porém, elas apresentam potencial de diferenciação miogênica limitado e também não podem ser utilizados como a única fonte celular. A co-cultura das CTMs é uma alternativa para potencializar a diferenciação através da liberação de citocinas relacionadas com a diferenciação miogênica, como o Fator de Crescimento de Hepatócito (HGF) e Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGF), pelas próprias células. A co-cultura dessas linhagens celulares em um arcabouço de fibras alinhadas de PCL e estimuladas por HGF e Fator de Crescimento Semelhante à Insulina tipo 1 (IGF-1) produziu um biomaterial capaz de estimular o alinhamento paralelo das células e sua diferenciação miogênica.⁴¹

Arcabouços à base de fibras alinhadas de PCL também podem ser utilizados para a regeneração *in vivo* de tecidos musculares. Por ser um polímero sintético não absorvível, o PCL apresenta algumas desvantagens, entre elas a incapacidade de crescer acompanhando o crescimento tecidual do hospedeiro quando o transplante do arcabouço

ocorre em crianças.⁴² Para minimizar esse efeito adverso pode ser utilizado um polímero natural, como o colágeno tipo I, que é biodegradável e gradualmente substituído pela deposição de MEC pelas células. Um arcabouço composto de fibras eletrofiadas alinhadas de PCL e colágeno tipo I induziu a regeneração funcional do diafragma, dando suporte para a troca gasosa. Esse biomaterial biodegradável apresentou estabilidade biomecânica e biológica e estimulou a formação de tecido muscular novo, o que evidencia a possibilidade de utilização deste arcabouço no tratamento de defeitos diafragmáticos.⁴²

7.6 CORAÇÃO

O músculo cardíaco é um tecido formado por músculo estriado cardíaco, o qual não possui capacidade regenerativa eficiente para restaurar células danificadas por algumas doenças. Quando os danos no tecido estão avançados, em estágio terminal ou em vias de ocasionar falência do coração, os transplantes cardíacos podem ser realizados. No entanto, a falta de órgãos disponíveis é um ponto limitante para a realização desse procedimento.⁴³ A doença cardiovascular é considerada a principal causa de mortalidade global, responsável por mais de 30% do total de mortes.⁴⁴ Atualmente, há uma demanda urgente de estratégias/terapias eficazes para o tratamento das doenças cardiovasculares. Uma alternativa para os transplantes cardíacos e para a regeneração cardíaca é o uso da engenharia tecidos através da eletrofição, em casos após infarto do miocárdio, insuficiência cardíaca, danos na válvula cardíaca e doenças cardíacas congênitas, a fim de melhorar a qualidade de vida desses pacientes.^{44–46}

Para a regeneração cardíaca, algumas propriedades são cruciais para o sucesso do biomaterial desenvolvido por eletrofição, tais como: dar suporte para a condutividade elétrica para a contração síncrona dos cardiomiócitos; boas propriedades estruturais e mecânicas; boa biocompatibilidade;⁴⁷ dar suporte funcional para cardiomiócitos, permitindo a geração de uma força de 2-4 mN/mm² durante a contração muscular; estrutura anisotrópica do miocárdio.⁴³ Kharaziha e colaboradores⁴⁸ utilizaram uma mistura de poli(sebacato de glicerol) elastomérico biodegradável (PGS) e gelatina para a produção de nanofibras por eletrofição, as quais demonstraram anisotropia capaz de mimetizar a arquitetura do miocárdio ventricular esquerdo e melhorar a funcionalidade, utilizando-se células de fibroblastos cardíacos de ratos e de induzir contrações síncronas adequadas, sendo um biomaterial passível de ser utilizado clinicamente na engenharia de tecidos cardíacos.

Outras técnicas também podem ser associadas à eletrofição, como por exemplo a ablação a laser. Um estudo desenvolveu um patch cardíaco produzido com fibras eletrofiadas de albumina que passaram pelo processo de ablação a laser.⁴⁹ O biomaterial foi desenvolvido contendo 3 tipos de camadas com arquiteturas distintas produzidas pela ablação a laser, sendo elas: microsulcos (do inglês, *microgrooves*) para o alinhamento das fibras cardíacas; microtúneis para dar suporte para as células endoteliais e micropartículas

de PLGA contendo VEGF; estruturas semelhantes a microgaiolas para suportar partículas de PLGA com dexametasona. Um esquema da estrutura pode ser observado na Figura 7.5. O arcabouço foi montado com 6 camadas de microsulcos, 6 de microtúneis e 2 de microgaiolas, coladas com um hidrogel de MEC. Esse construto mimetizou as diferentes orientações de fibras de colágeno no ventrículo esquerdo. O material apresentou rigidez e anisotropia semelhantes ao músculo cardíaco, tendo potencial de gerar contração muscular. Ainda, quando implantado em ratos, os construtos que não possuíam VEGF em sua estrutura não apresentaram vascularização, ao passo que os construtos com VEGF exibiram a presença de vasos sanguíneos.

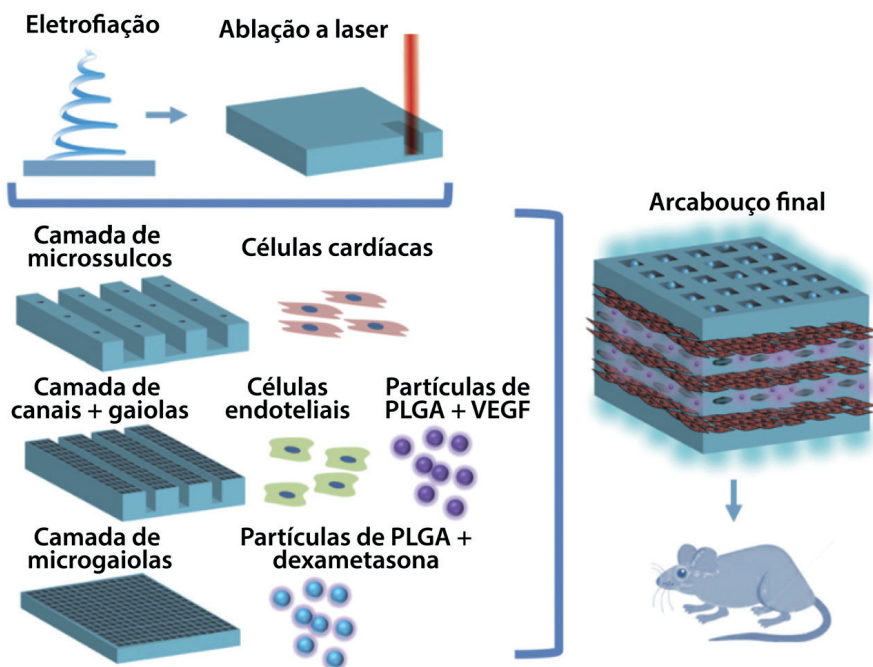


Figura 7.5. Esquema ilustrativo da produção do biomaterial com diferentes arquiteturas. Adaptada com permissão da referência 49. Copyright 2017 PNAS.

Conforme discutido anteriormente, o polímero utilizado na técnica pode influenciar nas características do biomaterial. Estudos têm abordado as terapias baseadas em células para promover a regeneração cardíaca, principalmente após eventos de infarto do miocárdio.^{44,50} As células utilizadas na engenharia de tecidos cardíacos podem ser autólogas, alogênicas, linhagens celulares, culturas primárias ou células progenitoras.⁴⁶ Alguns exemplos são o uso de cardiomiócitos derivados de células-tronco pluripotentes, células endoteliais, células-tronco embrionárias humanas. Por fim, a eletrofição permite o desenvolvimento de *scaffolds* que mimetizam as estruturas 3D, propriedades mecânicas e elétricas dos miocárdios nativos.^{47,51}

7.7 VASOS SANGUÍNEOS

Os vasos sanguíneos são tecidos que apresentam capacidade regenerativa inerente, contudo, em algumas situações como aterosclerose, complicações diabéticas e traumas teciduais, ocorre perda de tecido. As técnicas mais utilizadas nesses casos são o *bypass* cirúrgico e a colocação de *stents*, através de enxertos autólogos ou materiais superficiais.⁵² No caso dos enxertos autólogos, em que são utilizados os vasos sanguíneos do próprio paciente, eles são ótimas opções por conta da biocompatibilidade. Contudo, a colheita desses vasos depende de quantidade e qualidade para o sucesso do enxerto. No caso dos materiais superficiais, não existem materiais atualmente disponíveis para aplicação em vasos de pequeno diâmetro (< 6 mm), principalmente devido a alta taxa de formação de trombos no interior desses enxertos vasculares. Além disso, ocorrem eventos como trombogenicidade aguda, hiperplasia intimal e infecção.⁵³ Portanto, há uma necessidade clínica para o desenvolvimento de enxertos vasculares de pequeno diâmetro com propriedades anticoagulantes para utilização na revascularização.⁵²

A eletrofiliação pode ser utilizada na engenharia de tecidos vasculares para o desenvolvimento de enxertos sintéticos, principalmente devido à sua capacidade de mimetizar a MEC. Para o desenvolvimento desses enxertos, algumas características são essenciais, como: biocompatibilidade, estrutura tridimensional, promoção da adesão e da proliferação de células endoteliais, boas propriedades mecânicas (por conta do fluxo sanguíneo) e propriedades anticoagulantes.^{54,55} Diversos materiais poliméricos, naturais ou sintéticos, podem ser utilizados com esse propósito. Os polímeros naturais não possuem boas propriedades mecânicas, por esse motivo são associados a polímeros sintéticos incluindo PCL, poli (L-lactídeo-co- ϵ -caprolactona) (PLCL), PLA, PU, poli(L-lactídeo-co-carbonato de trimetileno), polipropileno (Moplen 462R PP), polilactídeo 4060D, PEO e PLGA.⁵⁴

Na engenharia de tecidos vasculares são utilizados diversos métodos para aprimorar os enxertos desenvolvidos por eletrofiliação, como a modificação da superfície, reticulação, promoção da endotelização e variações da técnica de eletrofiliação. Por exemplo, a modificação da superfície pode ocorrer pela utilização de biomoléculas/fatores de crescimento associados aos biomateriais, promovendo funcionalidade biológica adicional, diretamente no local necessitado, como por exemplo, através da incorporação de VEGF e Fator de Transformação do Crescimento Beta 2 (TGF β 2).⁵⁶ Ainda, a heparina pode ser associada para evitar a coagulação excessiva no interior do enxerto vascular, sendo um dos principais desafios dos enxertos de pequeno diâmetro. Geralmente, a molécula de heparina é carregada nas superfícies dos enxertos.⁵⁵ Um estudo reportou a funcionalização de biomateriais vasculares produzidos por eletrofiliação com heparina e VEGF.⁵⁷ A heparina impediu a coagulação na superfície do biomaterial e a associação de heparina e VEGF favoreceu a adaptação de células-tronco mesenquimais e células

progenitoras endoteliais (EPC), que possuem papel importante na antitrombogenicidade. Ainda, aumentou a proliferação de ECP, favorecendo a camada endotelial e a regeneração de vasos sanguíneos danificados.

Outro material que pode ser utilizado para a produção de biomateriais por eletrofiação é a gelatina (maiores detalhes no Capítulo 5). Esse polímero natural apresenta alta biocompatibilidade, além de estimular a adesão e proliferação e favorecer a resistência mecânica vascular. No entanto, os biomateriais produzidos com a gelatina apresentam baixa porosidade, prejudicando a infiltração celular. Para contornar esse problema, uma possível estratégia é a adição de polímeros sintéticos na composição do material, como o PCL. Um estudo desenvolveu um biomaterial por eletrofiação composto de PCL e gelatina associado com TGF β 2, utilizando células musculares lisas.⁵⁶ Os resultados demonstraram porosidade adequada, onde os biomateriais contendo TGF β 2 promoveram maior proliferação e densidade celular, quando comparado aos materiais sem a biomolécula. Para a promoção da endotelização, o endotélio vascular libera óxido nítrico, o qual possui papel crítico no controle do tônus vascular, limitando a proliferação de células musculares lisas, evitando a ativação e adesão plaquetária, bem como promovendo a proliferação de células endoteliais. Essas são algumas das vantagens de associar o óxido nítrico à eletrofiação, por meio de imobilização física, prolongando a duração da liberação.⁵⁸

As variações da eletrofiação podem ser cruciais no desempenho do biomaterial vascular. Por exemplo, em relação ao formato do biomaterial, podem ser desenvolvidos *scaffolds* vasculares com forma tubular, através da utilização de mandris de diferentes diâmetros como placa coletora, podendo ser aplicados a uma variedade de vasos sanguíneos.⁵⁸ Ainda, a eletrofiação coaxial pode ser utilizada para desenvolver fibras com estrutura núcleo-casca, podendo ser funcionalizada para apresentar características específicas de acordo com as partes interna e externa do vaso.⁵³ Por fim, o desenvolvimento de *scaffolds* vasculares por eletrofiação ainda é um grande desafio, havendo a necessidade de desenvolvimento de novos enxertos vasculares com todas as propriedades necessárias para o sucesso do enxerto quando aplicado *in vivo*.

7.8 PELE

A pele humana é o maior órgão do nosso corpo e atua como uma barreira contra agentes externos, sendo capaz de controlar algumas funções do organismo através da eliminação de toxinas, prevenção de perda de água, proteção para outros órgãos e estresse mecânico (maiores detalhes no Capítulo 8). Esse órgão possui características específicas, como anisotropismo, viscoelasticidade, alta taxa de proliferação celular e capacidade de regeneração, especialmente no caso de feridas pequenas. Independente da causa da lesão, o tratamento deve ser adequado para auxiliar na aceleração da cicatrização, prevenir infecções e promover a regeneração tecidual.⁵⁹⁻⁶¹ Os principais danos teciduais

são causados por queimaduras, feridas crônicas, excisão de pele, doenças dermatológicas, úlceras em pés diabéticos e câncer de pele.^{61,62}

Igualmente como descritos para outros tipos de tecidos, os enxertos autólogos, alogênicos e xenogênicos possuem algumas limitações, como a indisponibilidade de tecido disponível para transplante, rejeição imunológica e baixa resistência, dificultando o uso desses tipos de enxertos. Por esses motivos, novos enxertos devem ser desenvolvidos. A utilização da engenharia de tecidos associada às células-tronco pode acelerar o processo de cicatrização e regeneração tecidual da pele.^{59,63} Na regeneração da pele ou na substituição desse tecido, a mimetização da estrutura da MEC é ainda mais interessante, pois a pele possui características de alta sensibilidade e alta capacidade de resposta ao estresse, devido a organização das fibras de colágeno e de elastina desse tecido.⁶⁴

Na regeneração tecidual da pele, assim como para outros tecidos, a associação da eletrofição com outras etapas pode melhorar as propriedades físicas, mecânicas e biológicas do biomaterial, podendo ser utilizadas diversas outras técnicas, dependendo de cada tipo de tecido a ser regenerado. Como exemplo, citam-se as variações da eletrofição ou a funcionalização com fatores de crescimento, outras biomoléculas ou células. Um estudo usou a técnica de *wet electrospinning*, uma variação da eletrofição convencional, para desenvolver fibras de PCL associadas a células endoteliais.⁶⁴ O biomaterial foi desenvolvido através da associação de três camadas, sendo um *scaffold* composto de tecido têxtil na camada intermediária e, nas camadas externas, fibras eletrofiadas de PCL. O biomaterial apresentou organização semelhante a MEC nativa, rigidez, proliferação celular e capacidade de adesão após sete dias de cultivo. Os autores concluíram que o biomaterial apresentou propriedades físicas, mecânicas e biológicas semelhantes às da pele.

Um estudo desenvolveu fibras de PU/ácido hialurônico por eletrofição coaxial para formar fibras com morfologia núcleo-casca.⁶² Os resultados *in vitro* demonstraram aumento significativo na adesão celular e, *in vivo*, foi demonstrado um aumento na cicatrização e formação da camada epitelial, observados pela análise histológica. Ainda, o grupo controle apresentou maior inflamação do que o grupo tratado. Assim, os estudos *in vivo* demonstraram ser essa estratégia uma promissora candidata para a cicatrização de feridas.

Além disso, outros materiais podem ser utilizados associados à eletrofição. Em estudo realizado por Lopresti e colaboradores,⁶⁵ fibras de PLA revestidas com kefir foram utilizadas a fim de modular a inflamação e auxiliar na remodelação quando aplicado para a cicatrização da pele. Essa modificação aumentou consideravelmente a elasticidade, mas de forma discreta a força de tensão. Quando fibroblastos de camundongo foram cultivados nas fibras, houve expressão de colágeno tipo I, indicando atividade metabólica dessas células.

7.9 OUTROS TECIDOS

A engenharia de tecidos utilizando biomateriais construídos a partir de fibras eletrofiadas também tem sido estudada para a regeneração de outros tecidos, além dos anteriormente descritos. Esta estratégia da medicina regenerativa tem sido empregada visando o reparo de outros tecidos e órgãos, como o rim, fígado, córnea e pâncreas.⁶⁶ Esses tecidos possuem particularidades funcionais e sua reconstrução apresenta desafios específicos. A estrutura e composição da MEC tem um importante papel na regeneração tecidual e no tecido renal esta importância se faz mais evidente, uma vez que a matriz participa dos processos de filtração, reabsorção e secreção que ocorrem no néfron. O néfron é composto por uma estrutura membranosa composta por moléculas da MEC e uma monocamada de células epiteliais que atuam como uma barreira permeável. A mimetização dessa estrutura é fundamental para produzir um arcabouço funcional para regeneração renal. Esse objetivo pode ser atingido utilizando a dMEC do rim e PCL para a produção de nanofibras com alto conteúdo de colágeno e GAGs, as quais apresentaram melhor performance biológica para cultivo de células renais, quando comparadas às fibras produzidas somente com PCL. Esse fato evidencia a possibilidade de utilização dessa metodologia para produzir membranas filtrantes funcionais para engenharia do tecido renal.⁶⁶

No caso do fígado, o microambiente da MEC também apresenta um papel fundamental no suporte da função dos hepatócitos. Dessa forma, vários estudos utilizam dMEC como componente de biomateriais devido à presença de proteínas importantes para esse microambiente. Neste sentido, um estudo utilizou comparou nanofibras de dMEC com fibras produzidas com proteínas específicas da matriz, como colágeno tipo I, laminina e fibronectina, observando-se que essas proteínas também estavam presentes no material com dMEC.⁶⁷ Ao cultivar células nesses arcabouços, todos os biomateriais produzidos apresentaram boa biocompatibilidade, mas a presença de dMEC permitiu maior sobrevivência e proliferação celular. Além disso, o material com dMEC também apresentou maior expressão de albumina ao longo tempo e de genes relacionados ao metabolismo de fármacos e de componentes tóxicos, demonstrando seu papel na função celular hepática.

Outro estudo utilizou nanofibras de quitosana galactosilada (QG) para mimetizar a MEC hepática.⁶⁸ Hepatócitos foram cultivados em filmes ou em fibras de QG e observou-se que, após 1 dia de cultura, as células cultivadas nas fibras formaram agregados de formatos irregulares, ao passo que as células cultivadas nos filmes se agregaram em pequenos esferóides. Dessa forma, o cultivo nos filmes levou a uma baixa adesão celular, enquanto o cultivo nas nanofibras apresentou uma boa integração células-fibras. Além disso, os hepatócitos cultivados nas nanofibras de QG apresentaram maior bioatividade, com maior secreção de albumina e síntese de ureia.

Outra estratégia interessante na engenharia de tecidos é o uso de *patches* para regeneração hepática. Combinando a eletrofiação com impressão 3D, foi produzido um *patch* utilizando células progenitoras hepáticas derivadas de pacientes e células endoteliais da veia umbilical humana (HUVECs).⁶⁹ Para isso, fibras de PCL foram eletrofiadas e na borda foi impresso um constructo de PCL. Após, em cada manta de material eletrofiado, foram semeadas células progenitoras hepáticas ou HUVECs. As mantas de nanofibras contendo células foram agrupadas em camada única, dupla ou tripla, sendo a camada de progenitores hepáticos a camada do meio ou a de baixo. O construto de camada tripla apresentou características histológicas e morfológicas similares ao tecido hepático, bem como funções de secreção de albumina e atividade enzimática. *In vivo*, o *patch* levou a uma repopulação do parênquima hepático, com restauração da função e aumento da sobrevivência dos animais.

A reconstrução de defeitos córneos é geralmente realizada por meio de transplante de córnea ou utilizando membrana amniótica humana. Porém, essas metodologias apresentam desvantagens como a falta de doadores, incompatibilidade imunológica e a possibilidade de transmissão de doenças infecciosas. Para evitar estes problemas é possível a utilização de materiais compostos por hidrogel de colágeno comprimido e nanofibras de PLGA.⁷⁰ Esse biomaterial apresentou propriedades mecânicas e biológicas ideais para a regeneração da córnea, além de ser suturável. O arcabouço produzido utilizando esta técnica apresentou uma estrutura porosa, com propriedades mecânicas similares às encontradas na córnea, com alta biocompatibilidade e estímulo à proliferação celular tridimensional, sendo uma possibilidade para a regeneração córnea.

A *Diabete Mellitus* tipo I é uma doença autoimune em que ocorre a destruição das células produtoras de insulina no pâncreas, culminando em um aumento da glicose sanguínea que pode levar a complicações como perda de visão, neuropatia grave e destruição vascular. A terapia celular utilizando células-tronco é uma promissora alternativa para restaurar a produção de insulina em pacientes com diabetes, devido à sua capacidade de diferenciação em células produtoras de insulina. A utilização de uma estrutura 3D eletrofiada, utilizando polímeros naturais ou sintéticos, promove uma melhora neste processo de diferenciação. Quando nanofibras de PLLA foram comparadas com nanofibras de seda, as células cultivadas e diferenciadas no biomaterial sintético apresentaram maior expressão gênica de genes relacionados à diferenciação em células produtoras de insulina e maior produção e liberação de insulina quando estimuladas pela adição de glicose no meio de cultura.⁷¹

7.10 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O aumento da expectativa de vida da população mundial acompanha o crescimento do número de pacientes que deverão se beneficiar pelo uso de estratégias inovadoras para

promover a regeneração de órgãos e tecidos, devido a lesões decorrentes dessa maior longevidade, por traumas ou acidentes. Conforme demonstrado no presente capítulo, devido à grande variedade de biomateriais disponíveis e de variações da técnica, a eletrofiação apresenta-se como uma metodologia versátil e promissora para a engenharia de tecidos. Atualmente, muitos estudos exploram o potencial dessa técnica para a regeneração de diversos tecidos e órgãos com características e necessidades distintas. Um desafio desta área é a produção de constructos que combine propriedades mecânicas favoráveis para regeneração tecidual com materiais que mantenham uma boa viabilidade celular. A eletrofiação é uma técnica multifuncional que permite a fabricação tanto de constructos robustos que mimetizam a matriz óssea, como constructos delicados para a regeneração da córnea, fazendo dela uma excelente alternativa para a construção de biomateriais para a engenharia de tecidos e medicina regenerativa.

REFERÊNCIAS

1. Langer, R.; Vacanti, J. ;*J. Pediatr. Surg.* **2016**, *51*, 8.
2. Berthiaume, F.; Maguire, T. J.; Yarmush, M. L. ;*Annu. Rev. Chem. Biomol. Eng.* **2011**, *2*, 403.
3. Bakhshandeh, B.; Zarrintaj, P.; Oftadeh, M. O.; Keramati, F.; Fouladiha, H.; Sohrabi-jahromi, S.; Ziraksaz, Z. ;*Biotechnol. Genet. Eng. Rev.* **2017**, *33*, 144.
4. Perić Kačarević, Ž.; Rider, P.; Alkildani, S.; Retnasingh, S.; Pejakić, M.; Schnettler, R.; Gosau, M.; Smeets, R.; Jung, O.; Barbeck, M. ;*Int. J. Artif. Organs* **2020**, *43*, 69.
5. Chaudhari, A. A.; Vig, K.; Baganizi, D. R.; Sahu, R.; Dixit, S.; Dennis, V.; Singh, S. R.; Pillai, S. R. ;*Int. J. Mol. Sci.* **2016**, *17*.
6. Aijie, C.; Xuan, L.; Huimin, L.; Yanli, Z.; Yiyuan, K.; Yuqing, L.; Longquan, S. ;*Nanomedicine* **2018**, *13*, 1067.
7. Blesch, A.; Tuszynski, M. H. **2008**, 41.
8. Xie, J.; MacEwan, M. R.; Schwartz, A. G.; Xia, Y. ;*Nanoscale* **2010**, *2*, 35.
9. Cnops, V.; Chin, J. S.; Milbreta, U.; Chew, S. Y. ;*J. Biomed. Mater. Res. - Part A* **2020**, *108*, 2473.
10. Sperling, L. E.; Reis, K. P.; Pozzobon, L. G.; Girardi, C. S.; Pranke, P. ;*J. Biomed. Mater. Res. - Part A* **2017**, *105*, 1333.
11. Amores de Sousa, M. C.; Rodrigues, C. A. V.; Ferreira, I. A. F.; Diogo, M. M.; Linhardt, R. J.; Cabral, J. M. S.; Ferreira, F. C. ;*Front. Bioeng. Biotechnol.* **2020**, *8*, 1.
12. Kazemi, L.; Rahbarghazi, R.; Salehi, R.; Abedelahi, A.; Niari, S. A.; Karimipour, M.; Nasrabadi, H. T. ;*J. Mol. Neurosci.* **2020**, *70*, 1967.
13. Tang, W.; Fang, F.; Liu, K.; Huang, Z.; Li, H.; Yin, Y.; Wang, J.; Wang, G.; Wei, L.; Ou, Y.; Wang, Y. ;*ACS Biomater. Sci. Eng.* **2020**, *6*, 2209.

14. Zech, J.; Leisz, S.; Göttel, B.; Syrowatka, F.; Greiner, A.; Strauss, C.; Knolle, W.; Scheller, C.; Mäder, K. ;*Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2020**, *151*, 116.
15. Reis, K. P.; Sperling, L. E.; Teixeira, C.; Paim, Á.; Alcântara, B.; Vizcay-Barrena, G.; Fleck, R. A.; Pranke, P. ;*Regen. Med.* **2018**, *13*.
16. Xie, J.; Macewan, M. R.; Liu, W.; Jesuraj, N.; Li, X.; Hunter, D.; Xia, Y. ;*ACS Appl. Mater. Interfaces* **2014**, *6*, 9472.
17. Johnson, C. D. L.; Ganguly, D.; Zuidema, J. M.; Cardinal, T. J.; Ziemba, A. M.; Kearns, K. R.; McCarthy, S. M.; Thompson, D. M.; Ramanath, G.; Borca-Tasciuc, D. A.; Dutz, S.; Gilbert, R. J. ;*ACS Appl. Mater. Interfaces* **2019**, *11*, 356.
18. Chang, Y. C.; Chen, M. H.; Liao, S. Y.; Wu, H. C.; Kuan, C. H.; Sun, J. S.; Wang, T. W. ;*ACS Appl. Mater. Interfaces* **2017**, *9*, 37623.
19. Chahal, S.; Kumar, A.; Hussian, F. S. J. ;*J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **2019**, *30*, 1308.
20. Li, B.; Chen, Y.; He, J.; Zhang, J.; Wang, S.; Xiao, W.; Liu, Z.; Liao, X. ;*ACS Biomater. Sci. Eng.* **2020**, *6*, 6737.
21. Junka, R.; Yu, X. ;*Mater. Sci. Eng. C* **2020**, *113*, 110981.
22. Zhang, Y.; Yin, C.; Cheng, Y.; Huang, X.; Liu, K.; Cheng, G.; Li, Z. ;*Adv. Wound Care* **2020**, *9*, 441.
23. Zaiss, S.; Brown, T. D.; Reichert, J. C.; Berner, A. ;*Materials (Basel).* **2016**, *9*, 1.
24. Li, Y.; Liu, Y.; Xun, X.; Zhang, W.; Xu, Y.; Gu, D. ;*ACS Appl. Mater. Interfaces* **2019**, *11*, 36359.
25. Masaeli, E.; Karamali, F.; Loghmani, S.; Eslaminejad, M. B.; Nasr-Esfahani, M. H. ;*J. Mater. Chem. B* **2017**, *5*, 765.
26. Yilmaz, E. N.; Zeugolis, D. I. ;*Front. Bioeng. Biotechnol.* **2020**, *8*, 1.
27. Jiang, T.; Heng, S.; Huang, X.; Zheng, L.; Kai, D.; Loh, X. J.; Zhao, J. ;*J. Biomed. Nanotechnol.* **2019**, *15*, 1005.
28. Levorson, E. J.; Raman Sreerekha, P.; Chennazhi, K. P.; Kasper, F. K.; Nair, S. V.; Mikos, A. G. ;*Biomed. Mater.* **2013**, *8*.
29. Chen, S.; Chen, W.; Chen, Y.; Mo, X.; Fan, C. ;*Mater. Sci. Eng. C* **2021**, *118*, 1.
30. Gunes, O. C.; Albayrak, A. Z.; Tasdemir, S.; Sendemir, A. ;*J. Biomater. Appl.* **2020**, *35*, 515.
31. Zhao, W.; Du, Z.; Fang, J.; Fu, L.; Zhang, X.; Cai, Q.; Yang, X. ;*J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **2020**, *37*, 1437.
32. Zheng, R.; Duan, H.; Xue, J.; Liu, Y.; Feng, B.; Zhao, S.; Zhu, Y.; Liu, Y.; He, A.; Zhang, W.; Liu, W.; Cao, Y.; Zhou, G. ;*Biomaterials* **2014**, *35*, 152.
33. Fasolino, I.; Guarino, V.; Cirillo, V.; Ambrosio, L. ;*J. Biomed. Mater. Res. Part A* **2017**, *105*, 2551.

34. Gotti, C.; Sensini, A.; Fornaia, G.; Gualandi, C.; Zucchelli, A.; Focarete, M. L. ;*Front. Bioeng. Biotechnol.* **2020**, *8*, 1.
35. Ardila, D. C.; Tamimi, E.; Danford, F. L.; Haskett, D. G.; Kellar, R. S.; Doetschman, T.; Vande Geest, J. P. ;*Biomaterials* **2015**, *37*, 164.
36. Smoak, M. M.; Han, A.; Watson, E.; Kishan, A.; Grande-Allen, K. J.; Cosgriff-Hernandez, E.; Mikos, A. G. ;*Tissue Eng. - Part C Methods* **2019**, *25*, 276.
37. Politi, S.; Carotenuto, F.; Rinaldi, A.; Nardo, P. Di; Manzari, V.; Albertini, M. C.; Araneo, R.; Ramakrishna, S.; Teodori, L. ;*Nanomaterials* **2020**, *10*, 1.
38. Severt, S. Y.; Maxwell, S. L.; Bontrager, J. S.; Leger, J. M.; Murphy, A. R. ;*J. Mater. Chem. B* **2017**, *5*, 8105.
39. McKeon-Fischer, K. D.; Flagg, D. H.; Freeman, J. W. ;*J. Biomed. Mater. Res. - Part A* **2011**, *99 A*, 493.
40. McKeon-Fischer, K. D.; Freeman, J. W. ;*J. Tissue Eng. Regen. Med.* **2011**.
41. Witt, R.; Weigand, A.; Boos, A. M.; Cai, A.; Dippold, D.; Boccaccini, A. R.; Schubert, D. W.; Hardt, M.; Lange, C.; Arkudas, A.; Horch, R. E.; Beier, J. P. ;*BMC Cell Biol.* **2017**, *18*, 1.
42. Zhao, W.; Ju, Y. M.; Christ, G.; Atala, A.; Yoo, J. J.; Lee, S. J. ;*Biomaterials* **2013**, *34*, 8235.
43. Kim, P. H.; Cho, J. Y. ;*BMB Rep.* **2016**, *49*, 26.
44. Augustine, R.; Dan, P.; Hasan, A.; Khalaf, I. M.; Prasad, P.; Ghosal, K.; Gentile, C.; McClements, L.; Maureira, P. ;*Biomed. Pharmacother.* **2021**, *138*, 111425.
45. Ahmadi, P.; Nazeri, N.; Derakhshan, M. A.; Ghanbari, H. ;*Int. J. Biol. Macromol.* **2021**, *180*, 590.
46. Suh, T. C.; Amanah, A. Y.; Gluck, J. M. ;*Bioengineering* **2020**, *7*, 1.
47. Nguyen-Truong, M.; Li, Y. V.; Wang, Z. ;*Bioengineering* **2020**, *7*, 1.
48. Kharaziha, M.; Nikkhah, M.; Shin, S.-R.; Annabi, N.; Masoumi, N.; Gaharwar, A. K.; Camci-Unal, G.; Khademhosseini, A. ;*Biomaterials* **2013**, *34*, 6355.
49. Fleischer, S.; Shapira, A.; Feiner, R.; Dvir, T. ;*Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2017**, *114*, 1898.
50. Castilho, M.; Feyen, D.; Flandes-iparraguirre, M. **2020**, *6*.
51. Colzani, M.; Malcor, J. D.; Hunter, E. J.; Bayraktar, S.; Polkinghorne, M.; Krieg, T.; Cameron, R.; Best, S.; Farndale, R. W.; Sinha, S. ;*Biomaterials* **2021**, *269*, 120612.
52. Liu, Q.; Ying, G.; Jiang, N.; Yetisen, A. K.; Yao, D.; Xie, X.; Fan, Y.; Liu, H. ;*Med. Nov. Technol. Devices* **2021**, *9*, 100051.
53. Leal, B. B. J.; Wakabayashi, N.; Oyama, K.; Kamiya, H.; Braghirolli, D. I.; Pranke, P. ;*Front. Cardiovasc. Med.* **2021**, *7*, 1.

54. Fazal, F.; Diaz Sanchez, F. J.; Waqas, M.; Koutsos, V.; Callanan, A.; Radacsi, N. ;*Med. Eng. Phys.* **2021**, *94*, 52.
55. Yao, W.; Gu, H.; Hong, T.; Wang, Y.; Chen, S.; Mo, X.; Li, W.; Wang, C.; Zhu, T.; Lu, S. ;*Mater. Des.* **2020**, *194*, 108943.
56. Ardila, D. C.; Tamimi, E.; Doetschman, T.; Wagner, W. R.; Vande Geest, J. P. ;*J. Control. Release* **2019**, *299*, 44.
57. Braghirolli, D. I.; Helfer, V. E.; Chagastelles, P. C.; Dalberto, T. P.; Gamba, D.; Pranke, P. ;*Biomed. Mater.* **2017**, *12*.
58. Ercolani, E.; Del Gaudio, C.; Bianco, A. ;*J. Tissue Eng. Regen. Med.* **2015**, *9*, 861.
59. Izadyari Aghmiuni, A.; Heidari Keshel, S.; Sefat, F.; AkbarzadehKhiyavi, A. ;*Mater. Sci. Eng. C* **2021**, *120*, 111752.
60. Keirouz, A.; Fortunato, G.; Zhang, M.; Callanan, A.; Radacsi, N. ;*Med. Eng. Phys.* **2019**, *71*, 56.
61. Yousefi, I.; Pakravan, M.; Rahimi, H.; Bahador, A.; Farshadzadeh, Z.; Haririan, I. ;*Mater. Sci. Eng. C* **2017**, *75*, 433.
62. Movahedi, M.; Asefnejad, A.; Rafienia, M.; Khorasani, M. T. ;*Int. J. Biol. Macromol.* **2020**, *146*, 627.
63. Gautam, S.; Chou, C. F.; Dinda, A. K.; Potdar, P. D.; Mishra, N. C. ;*Mater. Sci. Eng. C* **2014**, *34*, 402.
64. Jiang, C.; Wang, K.; Liu, Y.; Zhang, C.; Wang, B. ;*J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* **2021**, *119*, 104499.
65. Lopresti, F.; Campora, S.; Tirri, G.; Capuana, E.; Carfi Pavia, F.; Brucato, V.; Gherzi, G.; La Carrubba, V. ;*Mater. Sci. Eng. C* **2021**, *127*, 112248.
66. Sobreiro-Almeida, R.; Fonseca, D. R.; Neves, N. M. ;*Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol. Appl.* **2019**, *103*, 109866.
67. Grant, R.; Hallett, J.; Forbes, S.; Hay, D.; Callanan, A. ;*Sci. Rep.* **2019**, *9*, 1.
68. Feng, Z. Q.; Chu, X.; Huang, N. P.; Wang, T.; Wang, Y.; Shi, X.; Ding, Y.; Gu, Z. Z. ;*Biomaterials* **2009**, *30*, 2753.
69. Kim, Y.; Kim, Y. W.; Lee, S. B.; Kang, K.; Yoon, S.; Choi, D.; Park, S. H.; Jeong, J. ;*Biomaterials* **2021**, *274*, 120899.
70. Kong, B.; Sun, W.; Chen, G.; Tang, S.; Li, M.; Shao, Z.; Mi, S. ;*Sci. Rep.* **2017**, *7*, 1.
71. Barati, G.; rahmani, A.; Nadri, S. ;*Biologicals* **2019**, *62*, 3

SOBRE OS AUTORES



PATRICIA PRANKE: Professora titular da disciplina de Hematologia Clínica e orientadora e professora no programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas - Fisiologia, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), além de ser atual vice-reitora da UFRGS (2020-2024). Possui graduação em Farmácia e Análises Clínicas pela Universidade Federal de Santa Maria (1989), mestrado em Ciências Médicas pela Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP (1994), doutorado em Genética e Biologia Molecular pela UFRGS (2002) e doutorado sanduíche no laboratório de células-tronco do *New York Blood Center*, Nova York, Estados Unidos (2002). Pós-doutorado na Phillip Marburg University, Marburg, Alemanha (2008 e 2010) na área de nanotecnologia e engenharia de tecidos/medicina regenerativa. Fundadora e primeira presidente do Instituto de Pesquisa Com Célula-tronco. Tem experiência na área de células-tronco e nanotecnologia, atuando principalmente nos seguintes temas: células tronco adultas, sangue de cordão umbilical, células tronco embrionárias, nanotecnologia, engenharia de tecidos e medicina regenerativa.

<http://lattes.cnpq.br/4063751977530416>



FERNANDA STAPENHORST FRANÇA: Graduada em biomedicina pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) (2014), mestre em Bioquímica (2016) e doutora em Fisiologia (2022) pela mesma universidade. Atualmente faz pós-doutorado na University of Kentucky, tendo como principais áreas de estudo lesão da medula espinal e nanoformulações.

<http://lattes.cnpq.br/8874508180489620>



BRUNA BORSTMANN JARDIM LEAL: Graduada em Biomedicina pela Universidade do Vale do Rio dos Sinos (Unisinos) (2019). Atualmente é mestranda do Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul no Instituto de Pesquisa com Células-Tronco, atuando principalmente nas áreas de medicina regenerativa e nanotecnologia relacionadas aos vasos sanguíneos. Também atua em Pesquisa Clínica na área de cardiologia no Hospital de Clínicas de Porto Alegre.
<http://lattes.cnpq.br/5597295184445396>



MARCELO GARRIDO DOS SANTOS: Graduado em biomedicina pela Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA) (2023). Atualmente é doutorando no Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) no Instituto de Pesquisa com Células-Tronco. Atua principalmente nas áreas de medicina regenerativa e nanotecnologia na lesão da medula espinal, trabalhando principalmente com bioimpressão 3D. CV Lattes: <http://lattes.cnpq.br/7277425511037328>