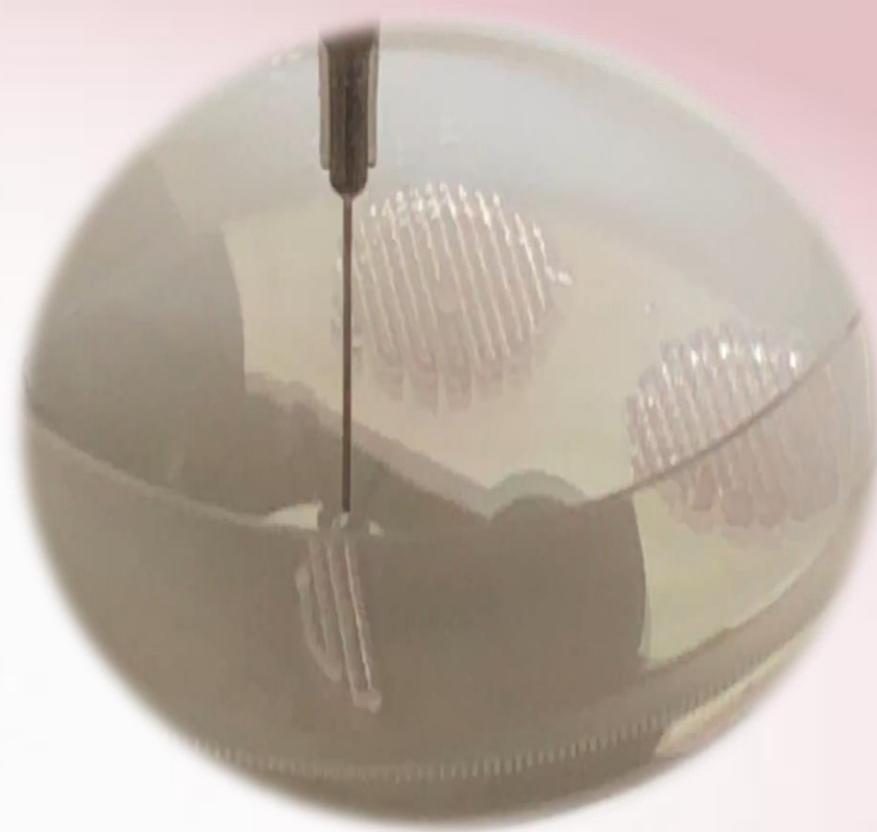




# Os Avanços e Desafios da Bioimpressão de Tecidos e Órgãos



THE  
DEVELOPER'S  
CONFERENCE

Janaina Dernowsek, PhD

BIOEDTECH

Capacitação e Desenvolvimento em Bioimpressão



Biologia → UNESP



Mestrado em Genética → USP



Doutorado em Genética → USP



Engenharia de Controle e Automação → Anhanguera



Pós doutoramento em Biofabricação e Bioimpressão → CTI Renato Archer



Pós doutoramento em Bioimpressão → INCT Regenera  
Pesquisadora colaboradora em projetos do ICB – USP, UNIFESP e CTI



Fundadora da BioEdTech



Janaina

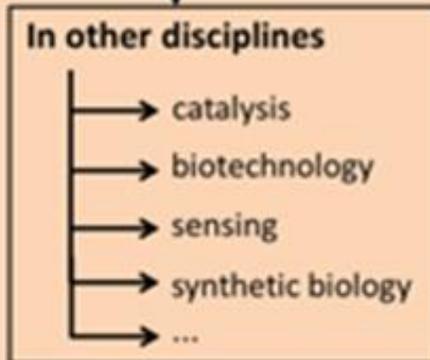
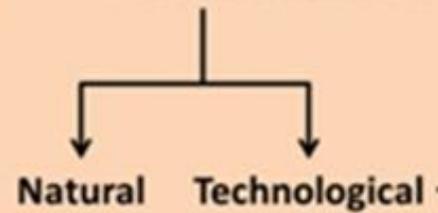




# O que é Bioimpressão



## Biofabrication



## Biofabrication in TE and RM

### Bioprinting

direct spatial arrangement of cells / materials / factors

*in situ / post printing*

*implantation*

*maturation / fusion*

tissue equivalent

*in vitro model*

### Bioassembly

automated assembly of cell containing building blocks

## TE and RM

### Classical TE

cells and factors are seeded on 3D matrices

*maturation*

tissue equivalent

*in vitro model*

*implantation*

### *In situ* TE

implantation of tissue inductive constructs

*in situ* recruitment of cells and / or modulation of the immune response

### Cell Therapy

injection of cells

*in situ* tissue regeneration



# Saúde mundial - *Motivação*



## ➤ Saúde

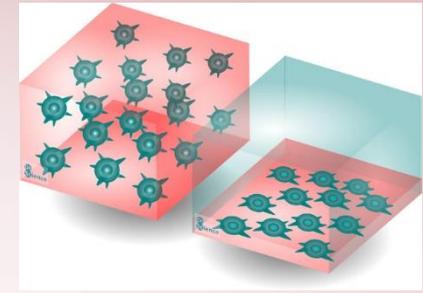
- Envelhecimento
- Doenças
- Traumas
- Acidentes



Baixa qualidade de vida



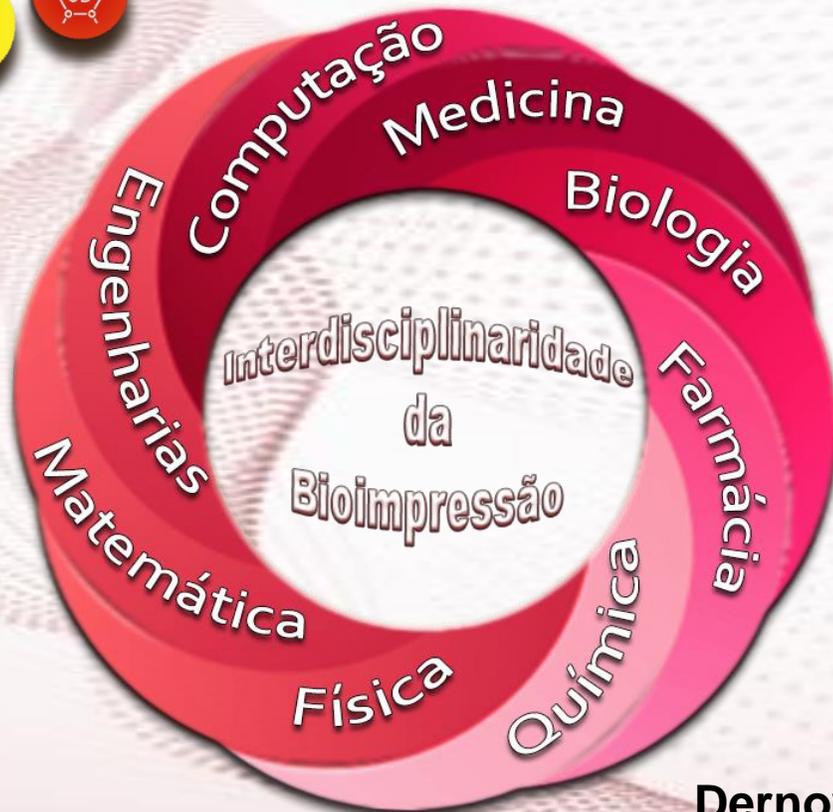
# Aplicações na saúde



- Produção de microtecidos 3D
  - Estudos de modelos de doenças
  - Teste de drogas
  - Testes de cosméticos
- Métodos alternativos → minimiza os uso de animais
- Produção de microtecidos, tecidos e órgãos
  - Regeneração local → danos/doenças
  - Substituição total → Transplantes



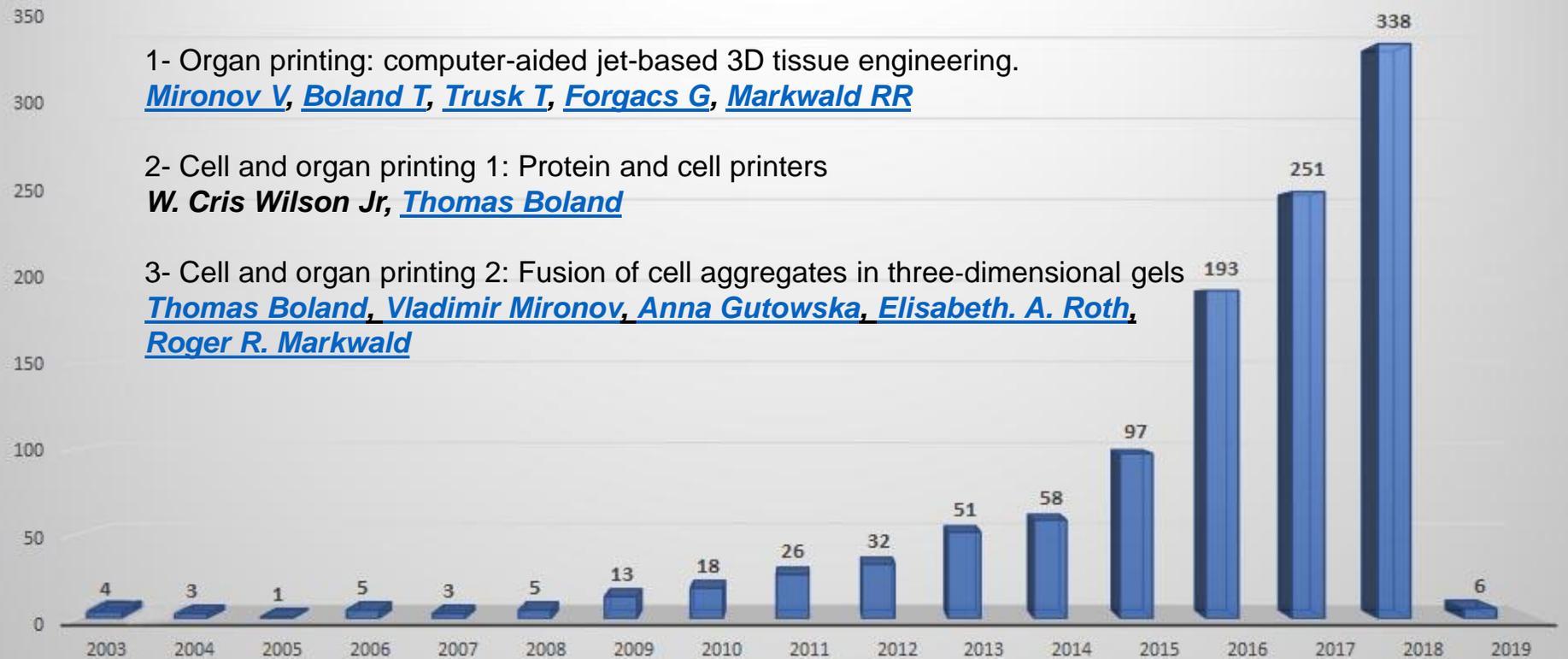
# Interdisciplinaridade da Bioimpressão



# Quando surgiu a Bioimpressão?



## Publicações de artigos sobre Bioimpressão (Bioprinting) e Impressão de Órgãos (Organ Printing)



1- Organ printing: computer-aided jet-based 3D tissue engineering.

[Mironov V](#), [Boland T](#), [Trusk T](#), [Forgacs G](#), [Markwald RR](#)

2- Cell and organ printing 1: Protein and cell printers

[W. Cris Wilson Jr](#), [Thomas Boland](#)

3- Cell and organ printing 2: Fusion of cell aggregates in three-dimensional gels

[Thomas Boland](#), [Vladimir Mironov](#), [Anna Gutowska](#), [Elisabeth. A. Roth](#), [Roger R. Markwald](#)

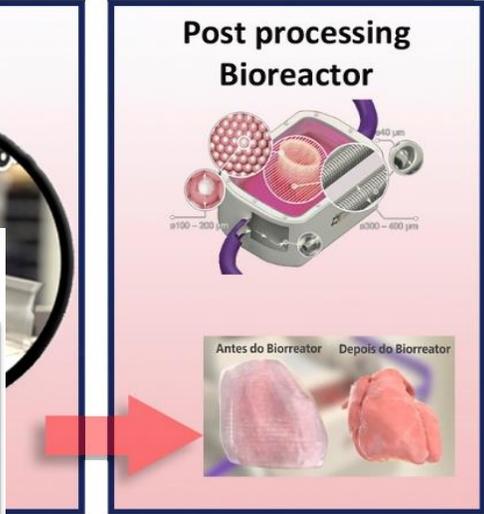
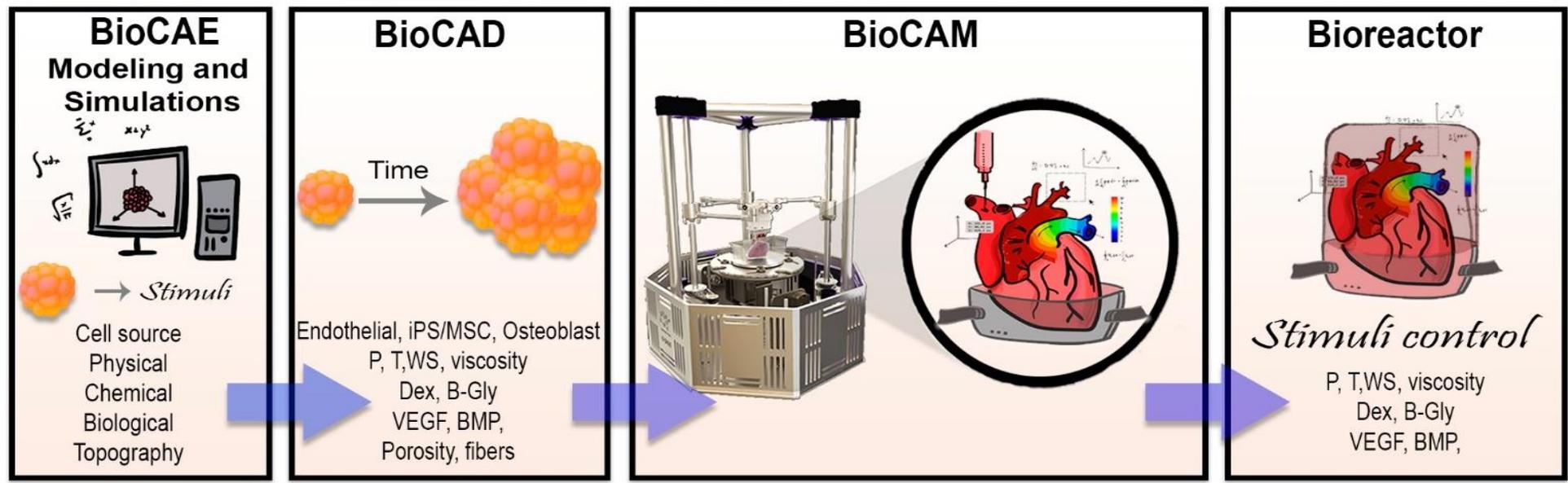
# Etapas principais



## Today



## Next steps



# Parâmetros importantes de um projeto de bioimpressão

**Modelagem 3D  
Geometria (CAD)**

**Modelagem  
Simulação  
Imagens biológicas**

**Biotinta**

**Células  
Estímulos  
Hidrogel**

**Bioimpressão**

**Processo/Técnica  
Bioimpressoras  
Otimização**

**Estruturação  
da Biotinta**

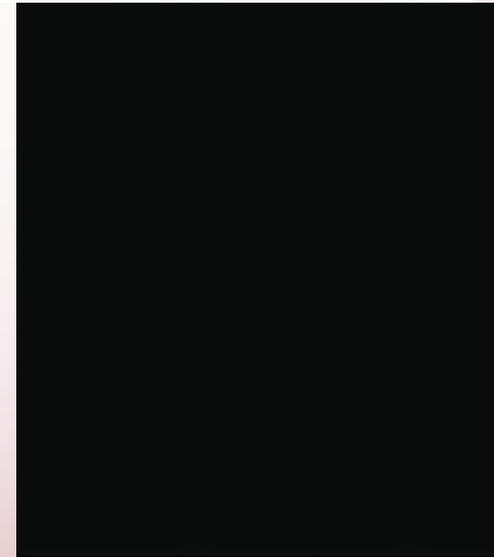
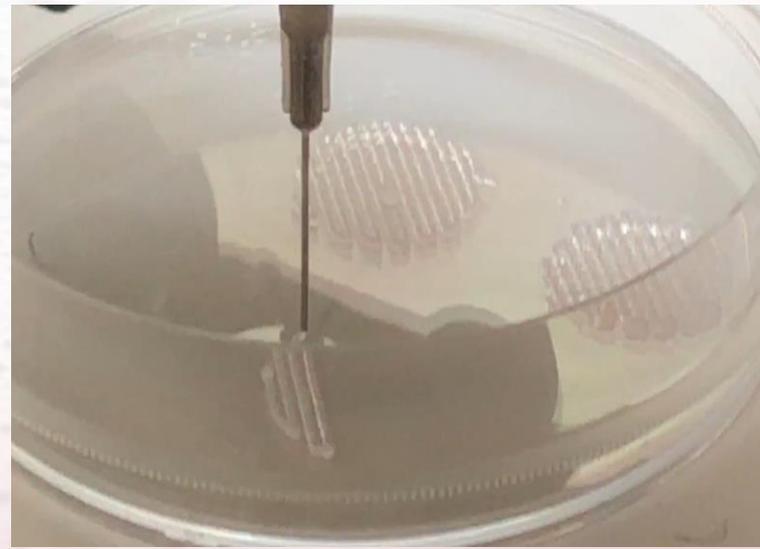
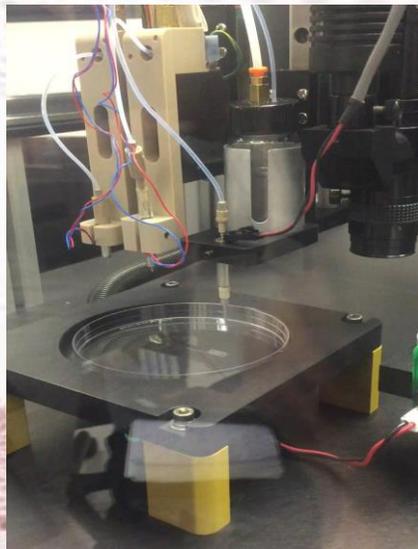
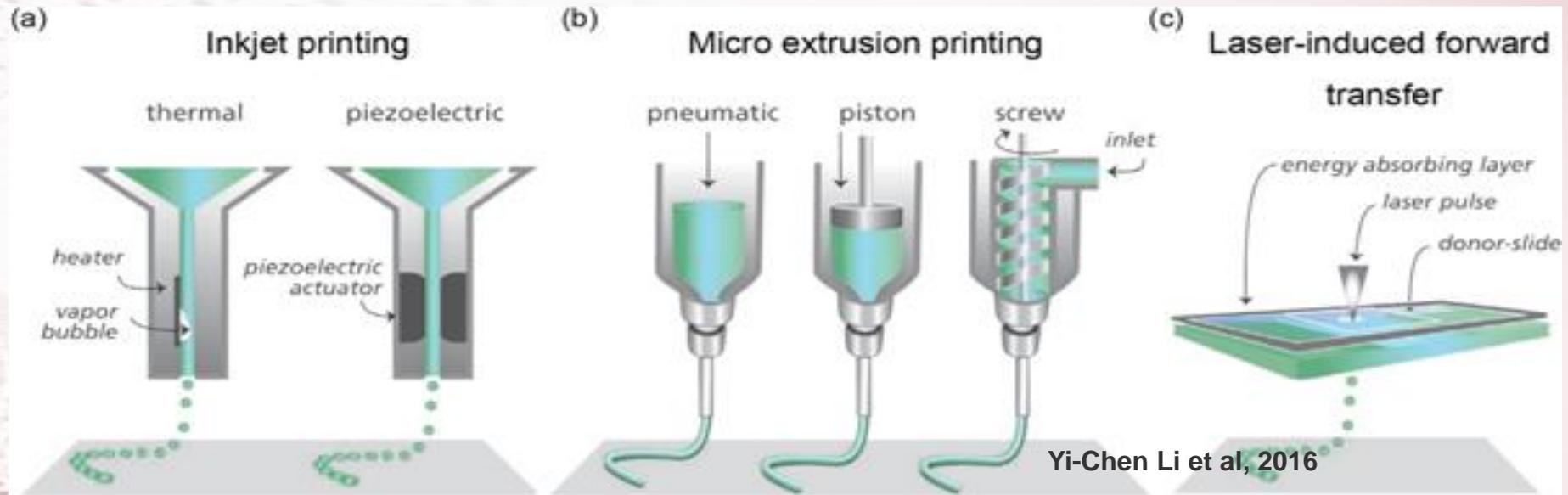
**Estruturação  
química/física**

**Maturação  
e Análise**

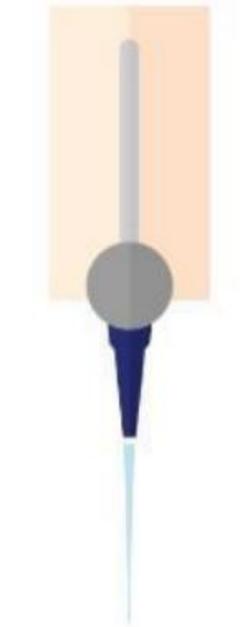
**Viabilidade  
Toxicidade  
Proliferação  
Moléculas de adesão  
Análise fenotípica**

...

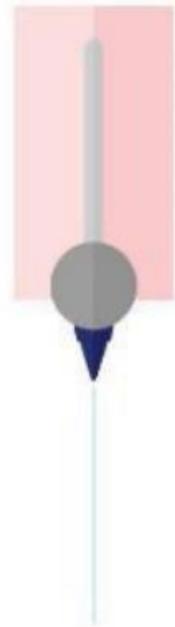
# Tecnologias envolvidas na Bioimpressão



# Principais parâmetros encontrados nos equipamentos



EXTRA HEATED  
PNEUMATIC HEAD



THERMOPLASTIC  
FILAMENT EXTRUDER



COOLED  
PNEUMATIC HEAD



INK-JET  
PRINT HEAD



SYRINGE PUMP  
PRINT HEAD



PHOTO CURING  
TOOL HEAD  
UV light

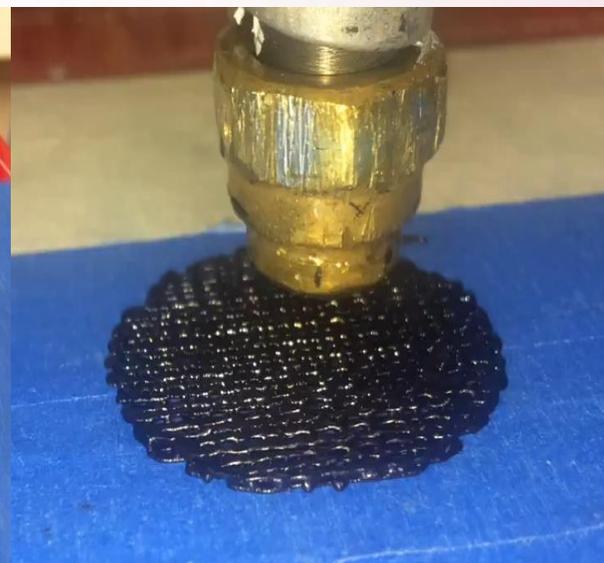
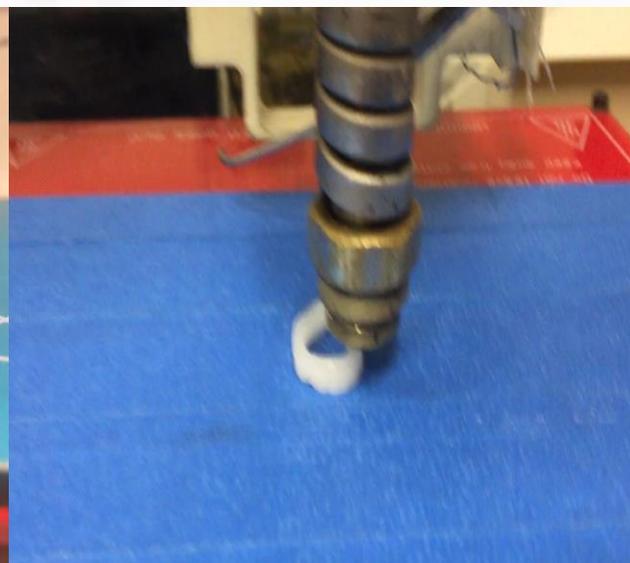
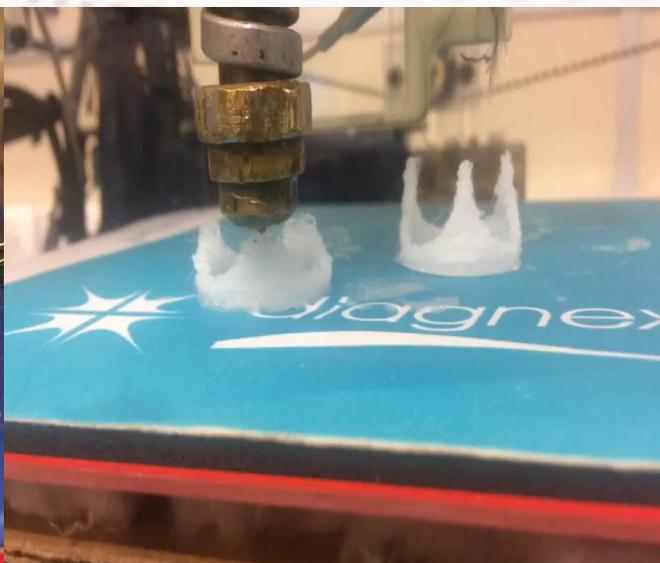
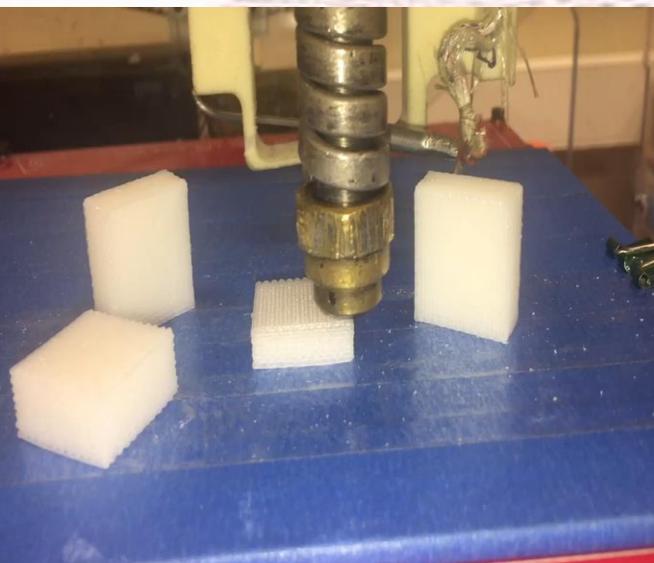


HD CAMERA  
TOOL HEAD

# Trabalhos desenvolvidos no Brasil

Produção de *scaffolds* rígidos utilizando biomateriais e materiais sintéticos biodegradáveis.

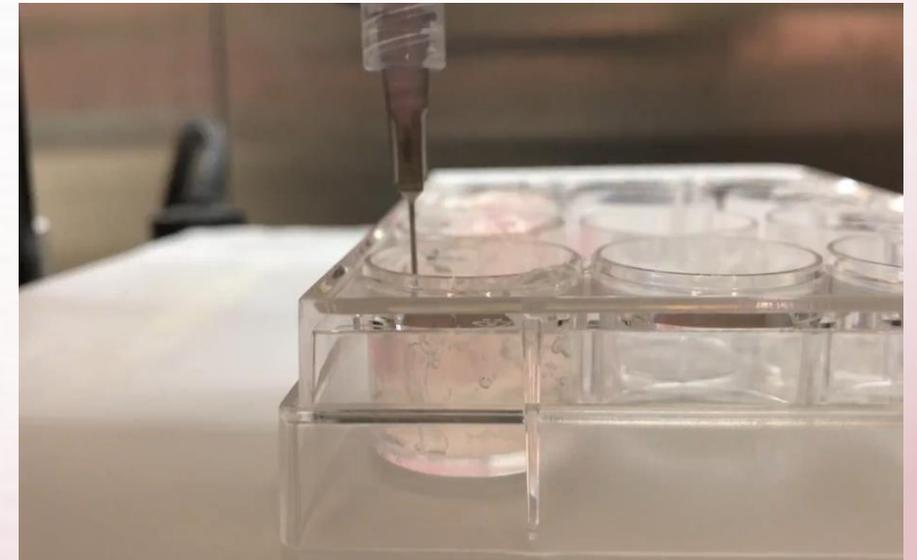
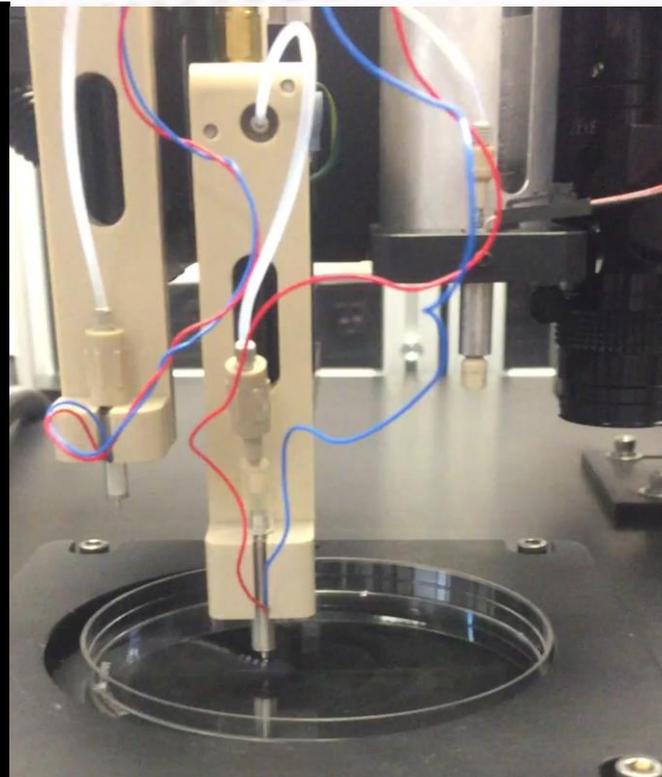
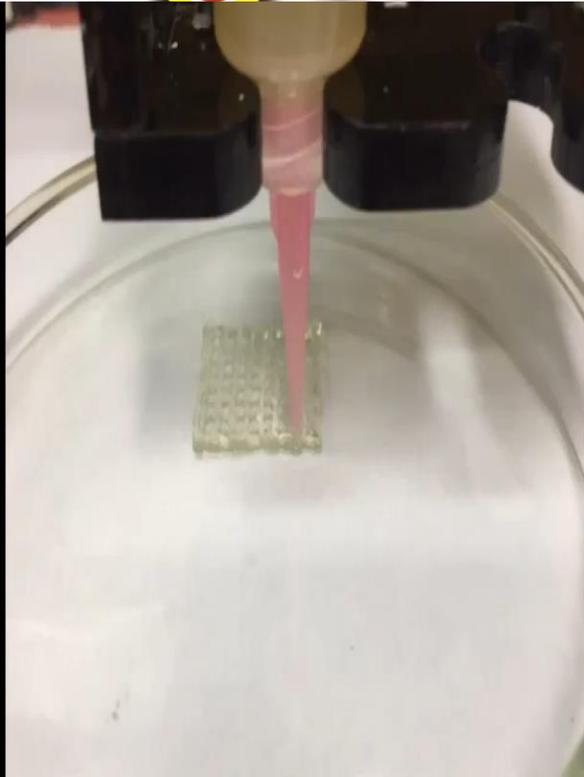
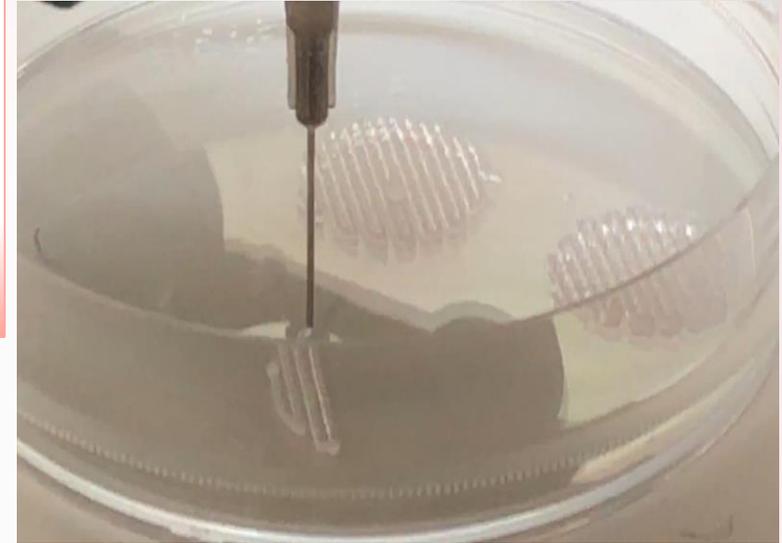
- PCL
- PLA
- PHB
- Biovidro
- B-TCP
- PCL + Biovidro
- PCL + Licopeno
- PCL +
- PHB + B-TCP
- PLLA
- PU
- HA



# Trabalhos desenvolvidos

## Hidrogéis

- Alginato
- Colágeno e Gelatina
- Agar
- Pectina
- Ácido Hialurônico
- Pluronic127





## Desafios Tecnológicos

BioCAD/Blueprint;  
Modelagem biológica/BioCAE;  
Software;  
Bioimpressora;  
Biorreator;  
Interoperabilidade;  
Escalabilidade.

## Desafios éticos e de regulamentação

Bioética;  
Regulamentação dos tecidos bioimpressos;  
Regulamentação da segurança dos protocolos de pesquisa.

## Desafios Biológicos

Biologia celular;  
Modelagem da MEC;  
Redes regulatórias funcionais  
Estímulos biológicos (fatores de transcrição, epigenética, microRNA...);  
Vascularização.

## Desafios Químicos, Físicos e de Materiais

Estímulos químicos para a proliferação e diferenciação celular;  
Biomateriais, materiais sintéticos e semi-sintéticos;  
Estímulos físicos para modelagem tecidual.

Dernowsek J.A, 2018  
Desafios da bioimpressão: Blog da biofabricação. Disponível em <https://www.biofabricacao.com/singlegle-post/2018/10/22/Desafios-da-Bioimpress%C3%A3o>.

# O uso da bioimpressão na Oftalmologia

## FULL PAPER

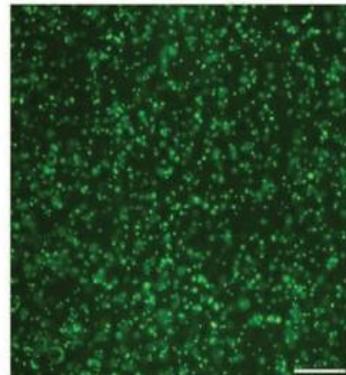
3D Bioprinted Corneal Endothelium

ADVANCED  
HEALTHCARE  
MATERIALS

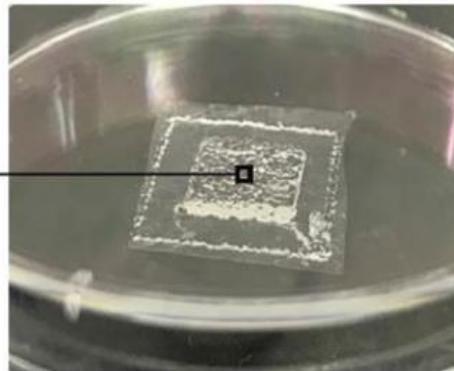
[www.advhealthmat.de](http://www.advhealthmat.de)

## Ex Vivo Functionality of 3D Bioprinted Corneal Endothelium Engineered with Ribonuclease 5-Overexpressing Human Corneal Endothelial Cells

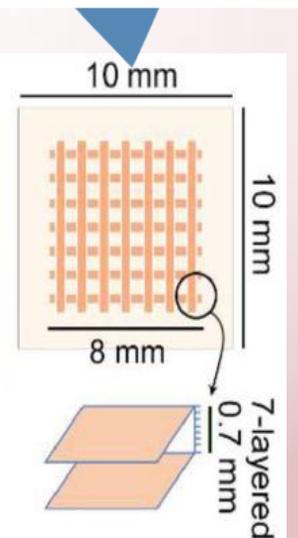
*Kyoung Woo Kim, Soo Jin Lee, Soo Hyun Park, and Jae Chan Kim\**



Live/Dead cell analysis



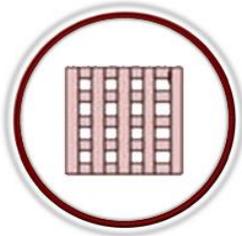
Cell seeding on lyophilized AM





# Bioimpressão de células produtoras de insulina

## Geometria 3D (CAD)



**Orientação dos filamentos:** 90°  
**Dimensão:** 4 camadas de 9mm de largura e comprimento e  
**Distância dos filamentos:** 3 mm

## Biotinta



**3% alginato**  
**9% Methilcelulose**  
**Células de ilhotas** pancreáticas de rato

## Bioimpressão



**BioScaffolder 3.1**  
**Diâmetro do bico:** 840  $\mu\text{m}$   
**Pressão exercida:** 40-50 kPa  
**Velocidade de deposição:** 10mm/s

## Estruturação da Biotinta



**Crosslinking após** a bioimpressão com cloreto de estrôncio por 10 minutos e lavado com 1ml de meio de cultura para remover os resíduos de SrCl<sub>2</sub>

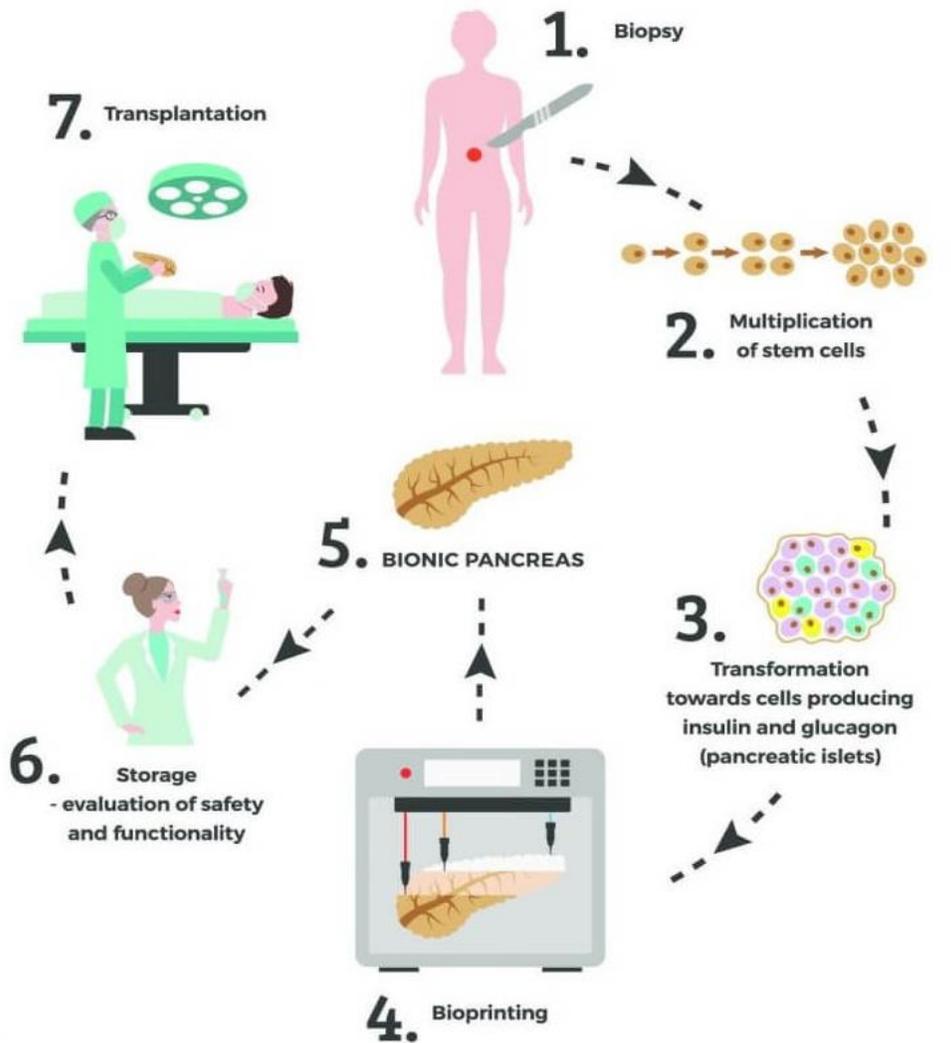
**Módulo de armazenamento** (E'): ~1000 Pa - uma medida da resposta elástica de um material -

## Maturação e Análise



**Cultura dos scaffolds** semeados durante 1, 4 e 7 dias  
**Caracterização dos scaffolds** sem Células - Captação e **Liberação de Glicose** e absorção de insulina  
**Caracterização da Sobrevivência** e Função das Ilhotas - MTT e DTZ Stainings.  
**Caracterização e sobrevivência** da funcionalidade das ilhotas - imunofluorescência  
**Análise da reação das ilhotas** à estimulação com glicose foi feita via ensaio GSIR.  
**Quantificação de DNA**  
....

# Bioimpressão de células produtoras de insulina



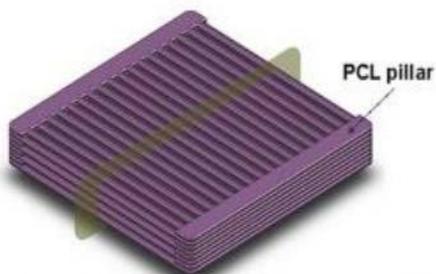
➤ O estudo demonstrou que o material composto por alginato e metilcelulose não prejudica a difusão de macromoléculas relevantes, tampouco a inclusão ou o processo prejudicam a morfologia ou a sobrevivência das células produtoras de insulina. O mais importante nesse estudo foi criar uma prova de conceito, **testada em ratos**, de que é possível projetar “construtos” de células pancreáticas por bioimpressão, permanecerem funcionais e continuarem a reagir à estimulação da glicose na produção de insulina.

Fonte: 3D Bioprinting of Functional Islets of Langerhans in an Alginate/Methylcellulose Hydrogel Blend. [Saiba mais aqui!](#)

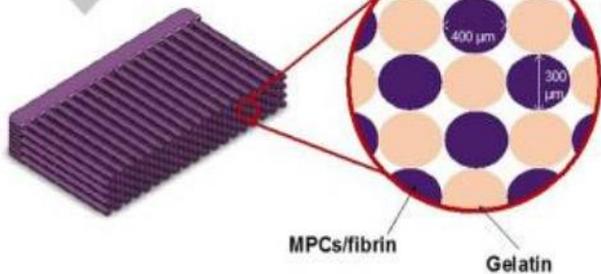
# Bioimpressão de músculo esquelético humano

- **Pesquisadores da Escola de Medicina Wake Forest**
- **Hidrogel misturado com células progenitoras do músculo humano (hMPC),**
- **Hidrogel de gelatina,**
- **Polímero sintético biocompatível e biodegradável para um suporte (PCL) externo.**

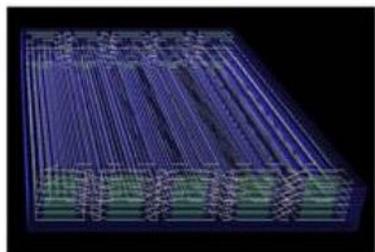
**A** Design of 3D CAD model



Cross-sectional view

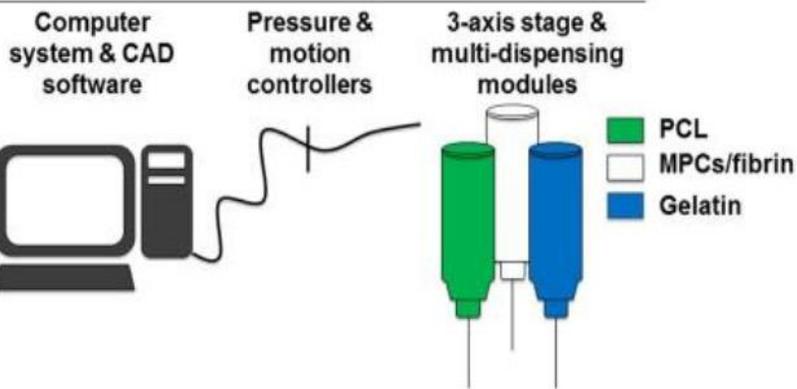


**B** Motion program generation



Green: PCL  
White: MPCs/fibrin  
Blue: gelatin

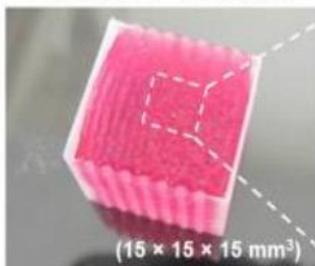
**C** 3D ITOP system



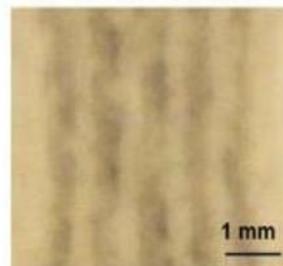
**D** Printing process



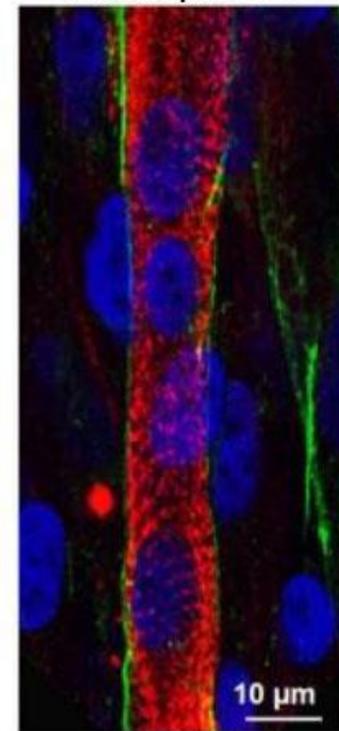
**E** Printed construct



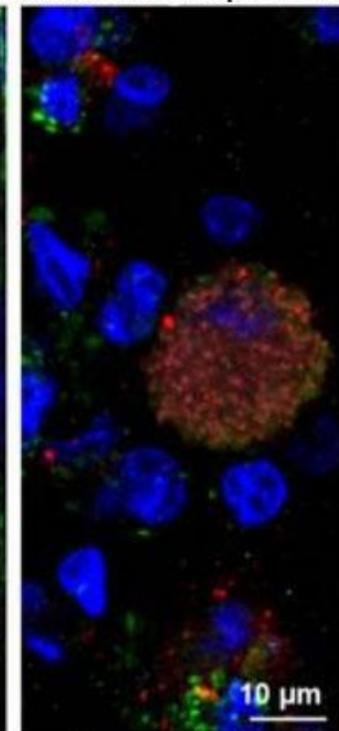
**F** Microchannel



Bioimpresso

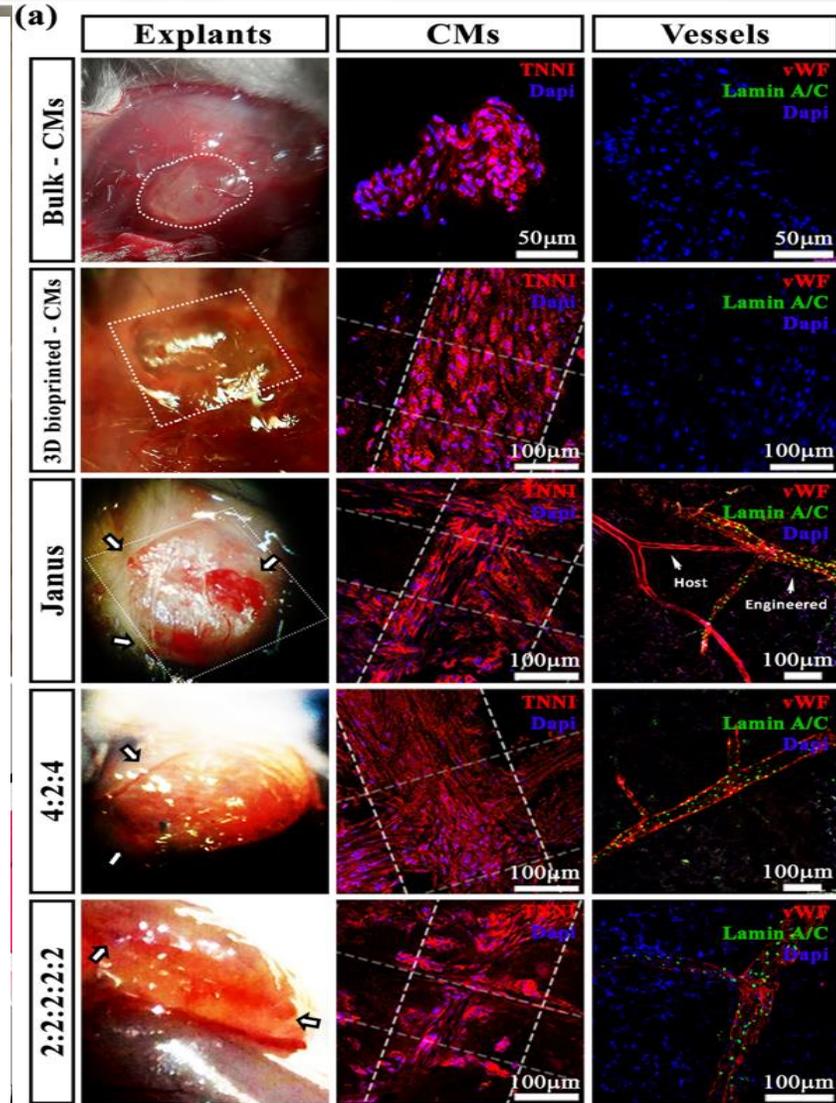
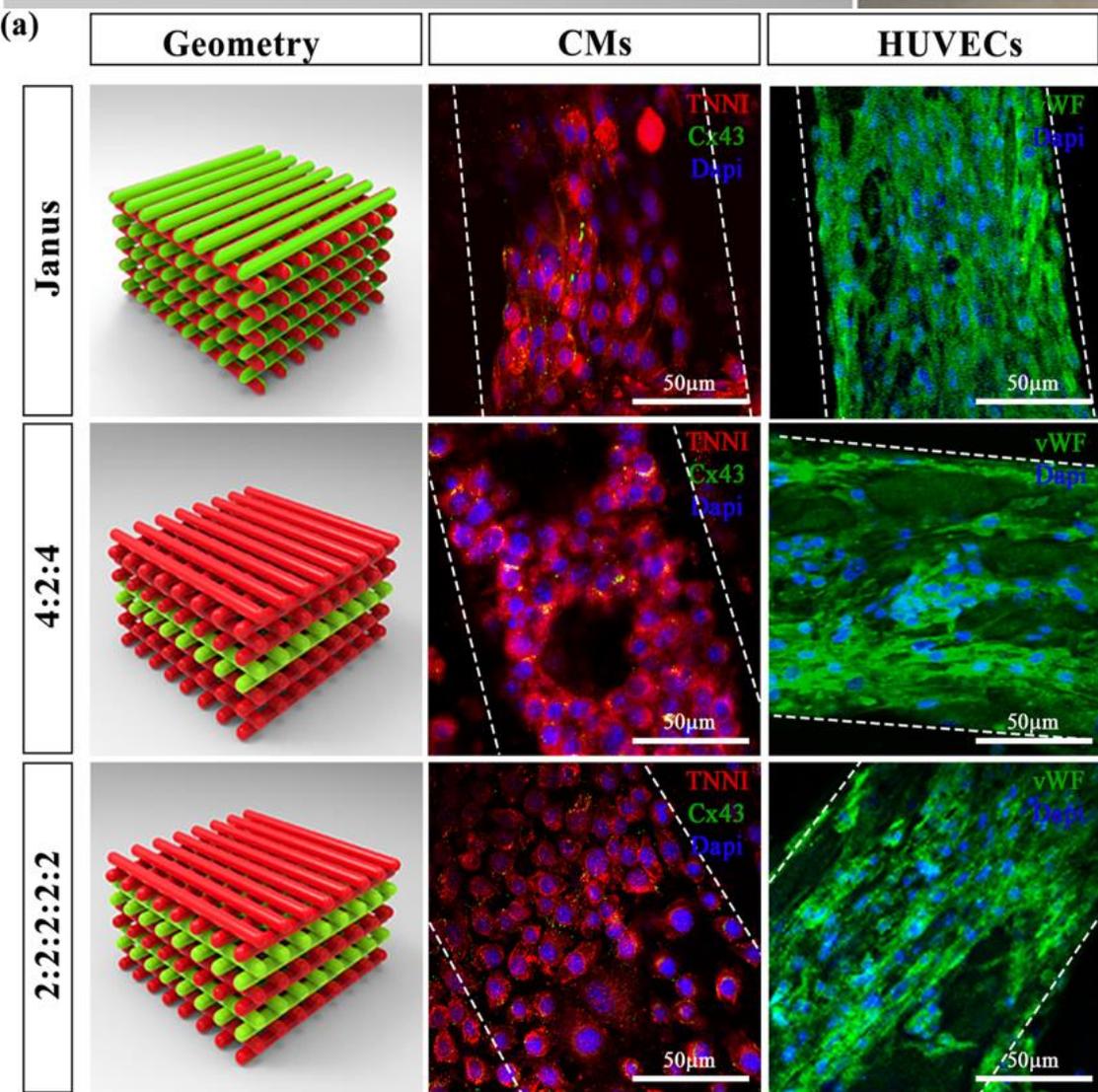


Não Bioimpresso



Laminin (green), α-SA (red), DAPI (blue)

# Bioimpressão multicelular usando microfluídica para a engenharia de tecido cardíaco vascularizado



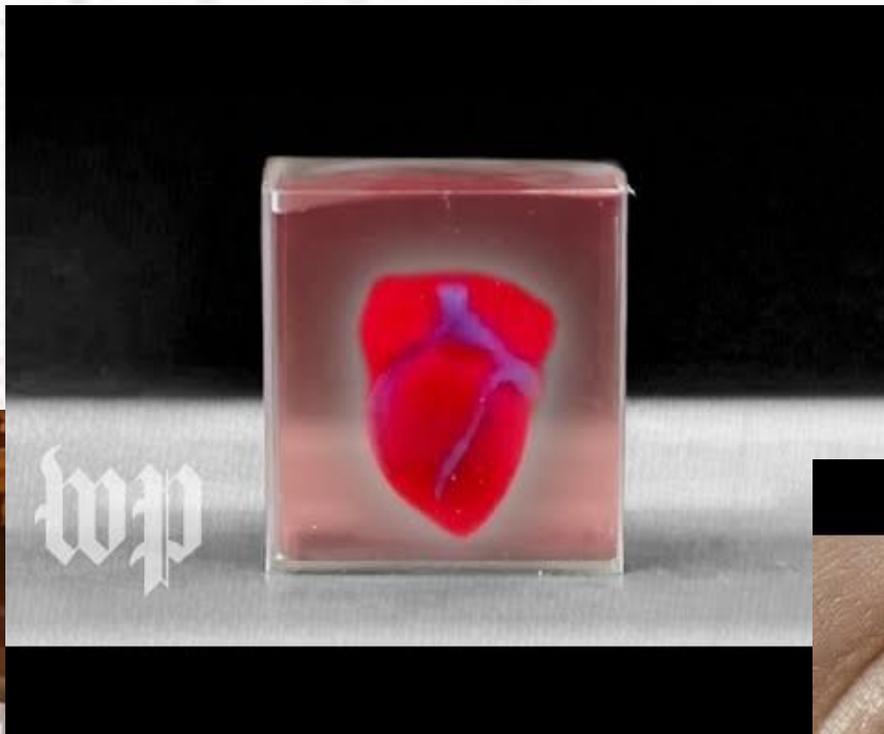
Construções heterogêneas e multicelulares, compostas de:

células endoteliais da veia umbilical humana (HUVECs)

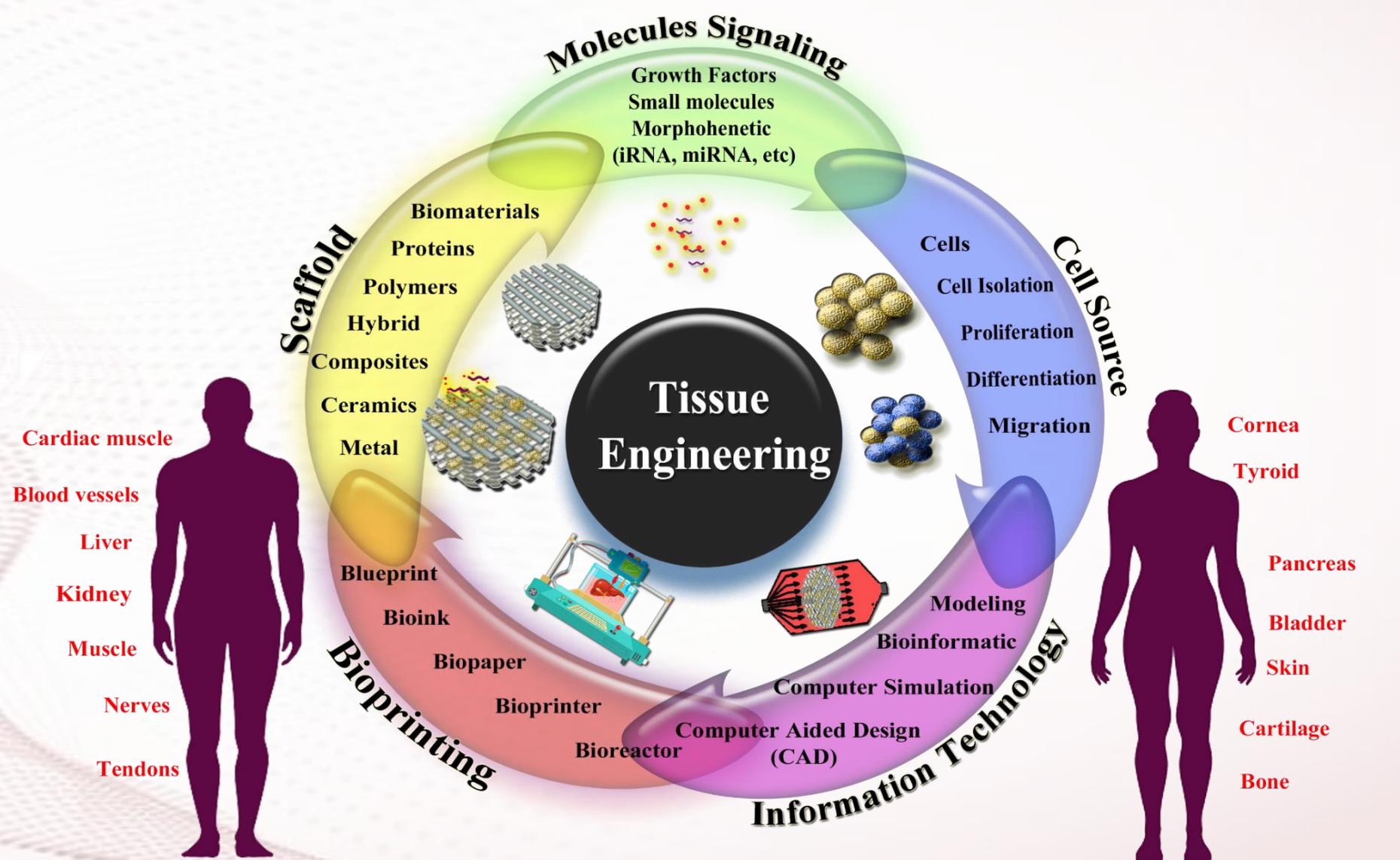
cardiomiócitos derivados de células pluripotentes induzidas (iPSC - CMs).

hidrogel contendo alginato e polietileno-glicol (PEG)

# Algumas aplicações em desenvolvimento



# Realidade x Futuro



# CAPACITAÇÃO EM BIOIMPRESSÃO

Por Dentro dos  
Desafios da  
Bioimpressão

**BIO**  
EdTech

04/09/2019 -  
CIETEC/SP  
8:30 - 12:00  
R\$ 250,00

Construa a  
sua  
Bioimpressora

**BIO**  
EdTech

04/09/2019 -  
CIETEC/SP  
13:30 - 18:00  
R\$ 450,00

Imersão em  
Bioimpressão

**BIO**  
EdTech

05/09/2019 -  
CIETEC/SP  
8:30 - 17:00  
R\$ 650,00

[www.bioedtech.online/cursos](http://www.bioedtech.online/cursos)

**Desconto para  
estudantes**

**Parcelamento  
em até 10x**

**Venha conhecer o mundo  
da bioimpressão em 2 dias -  
USP- São Paulo**

**Apoio: MERCK e Cietec**

# Obrigada pela atenção!!!



Centro de Tecnologia da  
Informação Renato Archer



**INCT - Regenera**

Instituto Nacional  
de Ciência e Tecnologia  
em Medicina Regenerativa



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO

1933

**BIO**  
**EdTech**  
**USP**

- Janaina Dernowsek, PhD – [www.biofabricacao.com](http://www.biofabricacao.com) e [www.bioedtech.com.br](http://www.bioedtech.com.br)
- ICB, INCT-Regenera, CTI Renato Archer e UNIFESP