

Título: Bioimpressão coaxial 3D de túbulos renais para compor um modelo de rim-em-chip

Nome do pesquisador responsável e unidade do CNPEM:

Natan Roberto de Barros, LNBio, Laboratório de Engenharia de Tecidos

Introdução

O rim é um órgão vital altamente vascularizado, responsável pela filtração de moléculas e pela regulação do estado fisiológico, incluindo o equilíbrio de fluidos, a homeostase eletrolítica e a pressão arterial.¹ Sua função essencial na eliminação de resíduos metabólicos e na reabsorção de substâncias necessárias ao organismo destaca a importância de estudos voltados para a reprodução de suas estruturas e funcionalidades em modelos laboratoriais.

Nos últimos anos, avanços significativos na engenharia de tecidos possibilitaram o desenvolvimento de análogos renais, como túbulos renais artificiais e glomérulos bioengenheirados.² Esses modelos têm contribuído para a pesquisa em nefrotoxicidade, triagem de fármacos e modelagem de doenças renais, permitindo uma compreensão mais aprofundada da fisiologia e patologia renal. Além disso, esses avanços apresentam grande potencial para a medicina regenerativa, uma vez que a crescente demanda por transplantes renais e a escassez crônica de órgãos doadores evidenciam a necessidade de alternativas terapêuticas inovadoras.³

A bioengenharia de tecidos renais representa, portanto, uma área promissora para o desenvolvimento de modelos funcionais que possam substituir ou complementar abordagens tradicionais. Novas estratégias, como a bioimpressão 3D e a utilização de biomateriais avançados, vêm sendo exploradas para criar estruturas tridimensionais que mimetizam melhor os microambientes de diferentes órgãos e tecidos e suas interações celulares, promovendo soluções mais eficazes para pesquisa biomédica e aplicações clínicas.

Estado da arte

As estruturas funcionais do rim dependem de microambientes fluidodinâmicos, e diversas técnicas, como litografia suave, micromoldagem,⁴ fibras ocas⁵ e moldagem líquida,⁶ têm sido utilizadas para desenvolver estruturas renais considerando essas condições. Para replicar a complexa composição celular renal, foram criados organoides renais a partir de células-tronco pluripotentes humanas, mas a maioria das pesquisas falhou em produzir estruturas microtubulares com métodos 2D, limitando a reprodução das interações celulares renais.⁷ Além disso, a caracterização da composição celular desses organoides ainda é pouco explorada, restringindo suas aplicações in vitro e in vivo.

A bioimpressão 3D surge como uma técnica promissora para fabricar estruturas celulares tridimensionais funcionais,⁸ permitindo a deposição precisa de biomateriais e células em formatos predefinidos⁹. A bioimpressão coaxial 3D mostrou-se útil na produção direta de

estruturas ocas perfusáveis¹⁰, essenciais para a criação de túbulos renais funcionais. Métodos recentes permitiram a impressão de microcanais celulares e vasos sanguíneos.¹¹ No entanto, a fabricação de túbulos renais complexos, como glomérulos bilaminares ou túbulos proximais com vasos sanguíneos adjacentes, ainda é um desafio.¹²

Objetivos

Nosso objetivo geral de longo prazo é desenvolver um modelo microfluidodinâmico vascularizado de tecido tubular renal em um chip com potencial em estudos de toxicidade hepática, triagem de medicamentos e medicina regenerativa. Neste projeto de PIBIC, temos o objetivo de em 12 meses, criar uma biotinta híbrida baseada em colágeno tipo I e alginato bioinerte, garantindo suporte estrutural adequado para a bioimpressão coaxial 3D e encapsulação de células epiteliais do túbulo proximal renal (RPTECs) e células endoteliais vasculares (HUVECs).

Objetivos específicos para 12 meses de Projeto PIBIC:

- Desenvolver composições de biotinta híbrida baseada em colágeno tipo I e alginato bioinerte para recapitular a matriz extracelular e fornecer suporte estrutural adequado.
- Caracterizar mecanicamente e reologicamente diferentes composições de biotinta híbrida para garantir propriedades adequadas para a bioimpressão coaxial 3D e cultivo celular.
- Realizar testes de printabilidade de estruturas perfusáveis utilizando bioimpressão coaxial 3D para criar estruturas funcionais, garantindo sua viabilidade e integração celular.

Em cenário destes objetivos serem alcançados em tempo hábil, como prova de conceito, integraremos o modelo em um chip microfluídico para imitar a heterogeneidade celular. Testes de permeabilidade e reabsorção de albumina poderão validar a funcionalidade dos túbulos renais bioimpressos.

Metodologia

Preparo de biotinta híbrida: A biotinta híbrida será preparada combinando colágeno tipo I com alginato bioinerte, criando uma matriz que simula a matriz extracelular. A mistura será otimizada para obter viscosidade e propriedades mecânicas necessárias para a bioimpressão.

Exames mecânicos e reológicos de biotinta híbrida: Serão realizados testes de viscosidade e elasticidade para caracterizar as propriedades mecânicas da biotinta, garantindo características ideais para a bioimpressão coaxial 3D e para a manutenção da estrutura após a impressão.

Bioimpressão coaxial 3D: A bioimpressão coaxial 3D será utilizada para criar túbulos renais perfusáveis. Os túbulos serão impressos de forma precisa, garantindo que as estruturas imitem o ambiente microfluídico dos túbulos proximais renais.

Viabilidade celular: Serão realizados ensaios de viabilidade celular para avaliar a capacidade das células (RPTECs e HUVECs) de crescer e se manter viáveis dentro das biotintas.

Análise estatística: Os dados obtidos serão analisados estatisticamente utilizando testes apropriados para verificar a significância dos resultados, como ANOVA ou teste t, comparando diferentes condições experimentais e validando as conclusões experimentais.

Cronograma de atividades

Atividade/Mês	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Preparo de diferentes composições da biotinta	●	●										
Caracterização mecânica e reológica		●	●	●								
Ensaio de viabilidade celular				●	●	●	●					
Impressão de estruturas perfusáveis						●	●	●	●			
Análises finais e elaboração de relatórios								●	●	●	●	
Escrita de Resumo e Poster para Participação no Congresso de Estudantes do CNPEM (CEC)											●	●

Referências

- DesRochers, T. M., Palma, E. & Kaplan, D. L. Tissue-engineered kidney disease models. *Adv Drug Deliv Rev* **69–70**, 67–80 (2014).
- Kim, S. *et al.* Incidental risk for diabetes according to serum ferritin concentration in Korean men. *Clinica Chimica Acta* **451**, 165–169 (2015).
- Sochol, R. D., Gupta, N. R. & Bonventre, J. V. A Role for 3D Printing in Kidney-on-a-Chip Platforms. *Curr Transplant Rep* **3**, 82–92 (2016).
- Frohlich, E. M. *et al.* Topographically-patterned porous membranes in a microfluidic device as an in vitro model of renal reabsorptive barriers. *Lab Chip* **13**, 2311–2319 (2013).
- Jansen, J. *et al.* Bioengineered kidney tubules efficiently excrete uremic toxins. *Sci Rep* **6**, 26715 (2016).
- Mu, X., Zheng, W., Xiao, L., Zhang, W. & Jiang, X. Engineering a 3D vascular network in hydrogel for mimicking a nephron. *Lab Chip* **13**, 1612–1618 (2013).
- Wilmer, M. J. *et al.* Kidney-on-a-Chip Technology for Drug-Induced Nephrotoxicity Screening. *Trends Biotechnol* **34**, 156–170 (2016).
- Khademhosseini, A. & Langer, R. A decade of progress in tissue engineering. *Nat Protoc* **11**, 1775–1781 (2016).
- Park, J. H., Jang, J., Lee, J.-S. & Cho, D.-W. Three-Dimensional Printing of Tissue/Organ Analogues Containing Living Cells. *Ann Biomed Eng* **45**, 180–194 (2017).
- Ouyang, L., Highley, C. B., Sun, W. & Burdick, J. A. A Generalizable Strategy for the 3D Bioprinting of Hydrogels from Nonviscous Photo-crosslinkable Inks. *Advanced Materials* **29**, 1604983 (2017).
- Gao, G. *et al.* Tissue Engineered Bio-Blood-Vessels Constructed Using a Tissue-Specific Bioink and 3D Coaxial Cell Printing Technique: A Novel Therapy for Ischemic Disease. *Adv Funct Mater* **27**, 1700798 (2017).
- Homan, K. A. *et al.* Bioprinting of 3D Convuluted Renal Proximal Tubules on Perfusable Chips. *Sci Rep* **6**, 34845 (2016).