

HIDROGÉIS DE CARBOXIMETILCELULOSE/AMIDO IMPRESSOS EM 3D COMO SUBSTRATOS FUNCIONAIS PARA USO NO CULTIVO CELULAR

MATHEUS DA SILVA GULARTE¹; ANDRESSA NÖRNBERG BAPTISTA²;
ANDRÉ R. FAJARDO³

¹Programa de Pós-graduação em Química (UFPEL) – omatheusguarte@gmail.com

²Universidade de São Paulo (USP) – andressanornberg@outlook.com.br

³Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – andre.fajardo@ufpel.edu.br

1. INTRODUÇÃO

Os hidrogéis são, por definição, materiais poliméricos reticulados que têm a capacidade de reter grandes quantidades de água em sua estrutura mesmo sob pressão. Esses materiais são formados por uma rede tridimensional (3D) de polímeros hidrofílicos que interagem com as moléculas de água por meio de ligações não covalentes (CHAI; JIAO; YU, 2017). Devido à essas características, os hidrogéis são amplamente utilizados em diversas aplicações em diferentes áreas do conhecimento, (medicina, agricultura, alimentos, indústrias de cosméticos, entre outras). Por apresentarem estruturas e as propriedades que podem mimetizar aquelas encontradas nos tecidos biológicos, vários tipos de hidrogéis, são adequados e atraentes para uso em aplicações biomédicas (BASHIR et al., 2020).

Hidrogéis podem ser sintetizados a partir de polímeros naturais e sintéticos, utilizando técnicas como reticulação física e química. Recentemente, a impressão 3D (3DP) tem sido aplicada para fabricar hidrogéis com alta precisão, tornando-os ideais para criar estruturas personalizadas, como *scaffolds*, usados no cultivo celular ou em modelos de órgãos para fins de pesquisa (MALLAKPOUR; TUKHANI; HUSSAIN, 2021).

Um dos principais desafios na 3DP de hidrogéis é a formulação de biotintas adequadas. O uso de polissacarídeos, como a carboximetilcelulose (CMC), tem crescido por sua biocompatibilidade e sustentabilidade, sendo ideais para processos de impressão por extrusão. A CMC, solúvel em água, permite criar estruturas com padrões detalhados e biocompatíveis, favorecendo seu uso em aplicações médicas (BUTLER et al., 2020).

No entanto, alguns desafios permanecem, como o controle da estrutura do material impresso e a resolução de impressão. Melhorias nas características biológicas dos hidrogéis também são necessárias para expandir suas aplicações. Este trabalho propõe o uso de uma biotinta composta por CMC e amido (St), reticulada com ácido cítrico (AC), para imprimir hidrogéis destinados ao cultivo celular. A combinação entre esses polímeros oferece boa compatibilidade e propriedades físico-químicas adequadas para a produção e aplicação dos hidrogéis (Štiglic et al., 2022).

Assim, este trabalho propõe o uso de uma biotinta composta por misturas de CMC e amido (St) como uma alternativa para a impressão 3D de hidrogéis destinados a *scaffolds* para cultivo celular. A boa compatibilidade entre a celulose modificada e o St, juntamente com a possibilidade de reticulação por AC, oferece viabilidade tanto para a produção quanto para a aplicação dos hidrogéis. Além disso, o plasma rico em plaquetas (PRP), utilizado como fonte de fatores de crescimento, foi incorporado aos hidrogéis como uma estratégia para melhorar sua atividade biológica.

2. METODOLOGIA

Preparo das biotintas CMC/St: Dispersões aquosas de CMC/St a 6,5% (m/v) foram preparadas manualmente, misturando os polímeros com 10 mL de água em um almofariz. As misturas foram então submetidas a um tratamento térmico a 120 °C por 20 minutos. Após o resfriamento, as biotintas estéreis foram aditivadas com AC, utilizado como reticulante, para a etapa subsequente de impressão.

Impressão dos hidrogéis: As biotintas CMC/St estéreis imediatamente após a incorporação do AC foram depositadas em seringas de impressão de 5 mL e extrusadas a 22 °C através de uma agulha cônica 22G (0,41 mm de diâmetro interno) a uma taxa de alimentação de 127 % e velocidade de deposição de 5 % em relação ao projeto. Os hidrogéis foram fabricados em formato cilíndrico, com 6 camadas, medindo 15,62 mm de diâmetro e 3,48 mm de altura. Essas impressões foram realizadas em um padrão hachurado de 90°, utilizando uma impressora 3D GENESIS (3DBS, Brasil). Imediatamente após a impressão, os hidrogéis foram congelados a -20 °C em um freezer e liofilizados por 24 h à -55 °C. Os hidrogéis liofilizados foram então reticulados por tratamento térmico a 120 °C por 7 min e armazenados à temperatura ambiente.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Preparo e Impressão dos Hidrogéis: A biotinta foi formulada com CMC e St, polímeros biocompatíveis, utilizando AC como reticulante para melhorar as propriedades mecânicas e reológicas. A avaliação das propriedades reológicas da biotinta CMC/St, tanto com quanto sem AC, mostrou que elas possuem viscosidade suficiente para garantir a fluidez necessária durante o processo de extrusão (Fig. 1). Além disso, a presença do reticulante contribuiu para aumentar a estabilidade do material, resultando em uma impressão mais robusta e precisa. Essas propriedades são fundamentais para garantir a viabilidade da 3DP de hidrogéis com estrutura porosa adequada para cultivo celular.

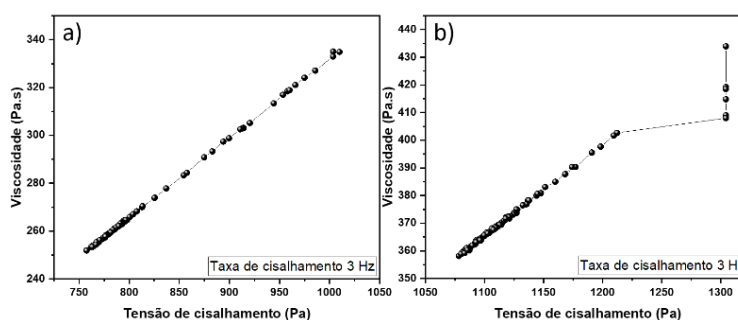


Figura 1: Dados de viscosidade em relação à tensão de cisalhamento para a biotinta sem AC (0%) (a) e com 15% (m/m) (b) de AC, realizada a 22°C, sob uma taxa de cisalhamento de 3 Hz.

A 3DP dos hidrogéis foi realizada com base em um design cilíndrico utilizando uma impressora 3D de extrusão. O material foi depositado camada por camada, controlando a taxa de extrusão e a velocidade de deposição. Após a etapa de impressão, os materiais fabricados foram liofilizados, visando preservar sua estrutura 3D enquanto a água era removida. Posteriormente, os hidrogéis foram reticulados para aumentar sua resistência mecânica. O AC foi selecionado como

um agente de reticulação, considerado seguro e ecologicamente correto, capaz de modular a integridade do hidrogéis (ŠTIGLIC et al., 2022). Esse processo permitiu a criação de *scaffolds* com padrões estruturais precisos e alta fidelidade de impressão, adequados para estudos de cultivo celular.

Caracterização Estrutural e Funcional dos Hidrogéis: A análise por MEV revela a morfologia porosa da superfície dos hidrogéis CMC/St, evidenciando a presença de poros duplos antes e após a reticulação, bem como após a incorporação do PRP, o que é essencial para sua aplicação em cultivo celular (ZASZCZYŃSKA et al., 2021). Na Figura 2c,c', pode-se observar o efeito do PRP na estrutura porosa do hidrogel CMC/St. O hidrogel CMC/St-PRP apresentou uma leve redução na porosidade superficial em comparação ao CMC/St, atribuída ao intumescimento dos filamentos durante a imersão na solução de PRP utilizada no preparo. Apesar disso, o CMC/St-PRP manteve uma morfologia com microporos uniformemente distribuídos, favorecendo seu uso como *scaffold* biomédico.

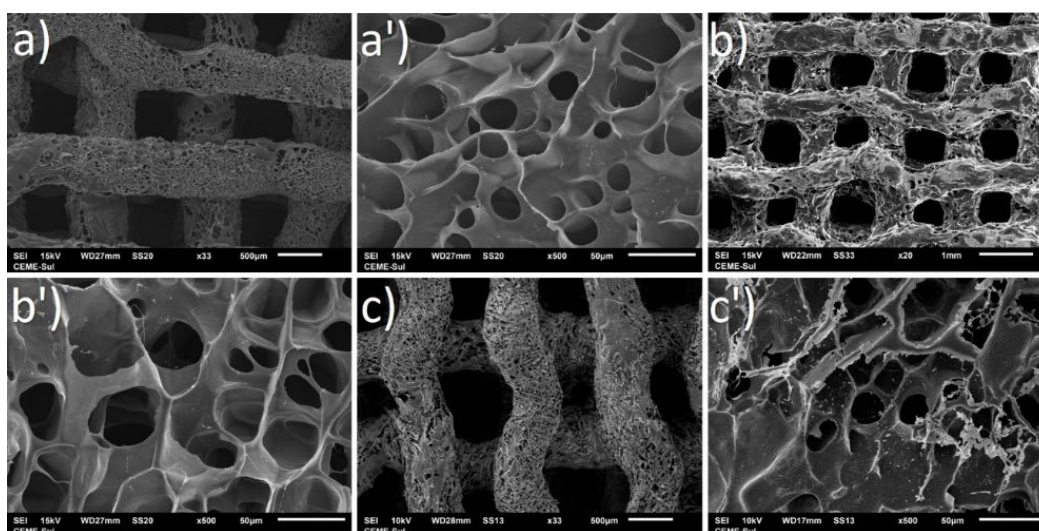


Figura 2: : Imagens obtidas por MEV mostrando a superfície e a parte interna dos hidrogéis CMC/St Lio (a, a'), CMC/St (b, b') e CMC/St-PRP (c, c'), respectivamente.

A espectroscopia de FTIR dos hidrogéis CMC/St, antes e depois da reticulação, revelou a manutenção das bandas dos grupos --COO^- em 1592, 1416 e 1324 cm^{-1} e das bandas de --COOH em 1730 e 1243 cm^{-1} , provenientes da CMC. A reticulação, mediada pelo AC, formou ligações covalentes diésteres entre os grupos carboxila do AC e as hidroxilas dos polissacarídeos. O espectro do hidrogel reticulado apresentou uma diminuição relativa de 25 % na intensidade da banda referente ao estiramento O-H de hidroxilas em aproximadamente 3433 cm^{-1} . Essa mudança foi confirmada avaliando a relação entre transmitância da banda em 3433 cm^{-1} e a transmitância da banda de referência em 898 cm^{-1} (A_{898}) correspondente às ligações glicosídicas $\beta_{(1,4)}$ (CAPANEMA et al., 2018). Um aumento na banda de 1242 cm^{-1} foi associado às ligações de ésteres formadas durante o processo.

Além disso, a presença do PRP foi confirmada pelas bandas de amida I e II em 1660 e 1550 cm^{-1} , e um alargamento da banda entre 3300–3500 cm^{-1} , relacionado aos grupos N-H. Observou-se ainda um aumento nas intensidades das bandas em 3000–2800 cm^{-1} , atribuídas aos grupos CH_2 e CH_3 dos aminoácidos presentes no PRP. Essas mudanças refletem as interações entre a matriz do hidrogel e o PRP, favorecidas por ligações de hidrogênio (BRAGA et al., 2020).

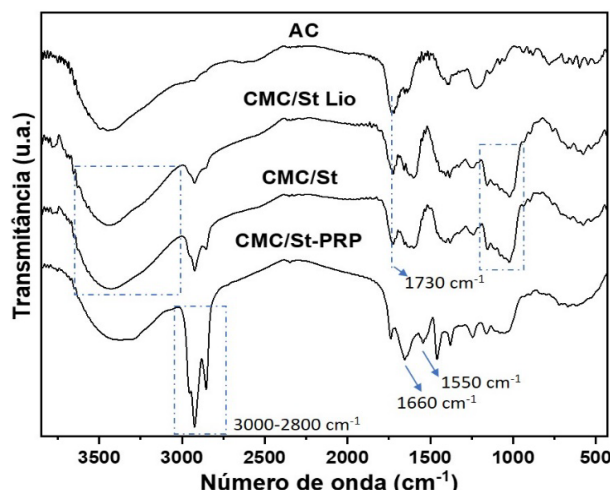


Figura 3: Espectros de FTIR dos (b) hidrogéis CMC/St Lio, CMC/St e CMC/St-PRP.

4. CONCLUSÕES

As análises realizadas confirmaram o potencial dos hidrogéis CMC/St para aplicações biomédicas, especialmente como scaffolds para cultivo celular. A preparação da biotinta mostrou-se eficiente, com boa reologia e adequada para impressão 3D, permitindo a produção de *scaffolds* com estruturas precisas e porosas. A análise estrutural por MEV revelou uma morfologia com poros interconectados, adequados para a difusão de nutrientes e adesão celular. A caracterização química por FTIR confirmou com eficiência a reticulação entre os grupos hidroxila da CMC e do St com o AC, além de evidenciar a incorporação do PRP, o que pode contribuir para a atividade biológica dos hidrogéis.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BASHIR, S. et al. Fundamental Concepts of Hydrogels: Synthesis, Properties, and Their Applications. **Polymers**, v. 12, n. 11, p. 2702, 16 nov. 2020.
- BRAGA, S. F. et al. Bioactive fibrin scaffolds for use in musculoskeletal regenerative medicine. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 63, 2020.
- BUTLER, H. M. et al. Optimization of starch- and chitosan-based bio-inks for 3D bioprinting of scaffolds for neural cell growth. **Materialia**, v. 12, n. May, 2020.
- CAPANEMA, N. S. V. et al. Superabsorbent crosslinked carboxymethyl cellulose-PEG hydrogels for potential wound dressing applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 106, p. 1218–1234, 2018.
- CHAI, Q.; JIAO, Y.; YU, X. Hydrogels for biomedical applications: Their characteristics and the mechanisms behind them. **Gels**, v. 3, n. 1, 2017.
- MALLAKPOUR, S.; TUKHANI, M.; HUSSAIN, C. M. Recent advancements in 3D bioprinting technology of carboxymethyl cellulose-based hydrogels: Utilization in tissue engineering. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 292, p. 102415, 2021.
- ŠTIGLIC, A. D. et al. Organic acid cross-linked 3D printed cellulose nanocomposite bioscaffolds with controlled porosity, mechanical strength, and biocompatibility. **iScience**, v. 25, n. 5, p. 104263, maio 2022.
- ZASZCZYŃSKA, A. et al. Advances in 3D Printing for Tissue Engineering. **Materials**, v. 14, n. 12, p. 3149, 8 jun. 2021.