

08 a 11 de Outubro de 2018
Instituto Federal Fluminense
Búzios - RJ

ESTUDO DO EFEITO DOS PARÂMETROS DE PROJETO DE BICOS EXTRUSORES EM BIOIMPRESSÃO UTILIZANDO FLUIDODINÂMICA COMPUTACIONAL

Patrícia Muniz de Oliveira¹ – munizpatricia@outlook.com.br

Isabela Poley² – poley@ufmg.br

Estevam Barbosa Las Casas¹ – estevam@dees.ufmg.br

Marina Spyer Las Casas¹ – marinalas@yahoo.com.br

Janaina Dernowsek³ - janaina.dernowsek@cti.gov.br

¹ Grupo de Engenharia Biomecânica da UFMG - Belo Horizonte, MG, Brasil

² Laboratório de Bioengenharia da UFMG - Belo Horizonte, MG, Brasil.

³ CTI Renato Archer – Campinas, SP, Brasil.

Resumo. A demanda por doações de órgãos ainda é expressivamente maior que o número de doadores e o desenvolvimento de técnicas para biofabricar tecidos podem aliviar a crise de escassez de órgãos. A biofabricação de órgãos é abordada pela Engenharia de Tecidos e tem como objetivo a recuperação e regeneração de tecidos e órgãos. A bioimpressão pode gerar tecidos complexos a partir da deposição tridimensional de diferentes tipos de células e biomateriais. A regulação da tensão de cisalhamento é de fundamental importância para a viabilidade celular durante e após o processo de bioimpressão. Neste artigo, o processo de bioextrusão é analisado por meio de simulações de dinâmica de fluidos computacional, para diferentes geometrias do bico de impressão da bioextrusora.

Palavras-chave: Engenharia de Tecidos, Bioengenharia, Biofabricação, CFD.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui um grande sistema público de transplantes e o número de doadores de órgãos tem crescido nos últimos anos. Entretanto, a demanda por doações ainda é expressivamente maior e, atualmente, há cerca de 40 mil pessoas na fila de espera para doação de órgãos no Brasil (Ministério da Saúde, 2017). Ademais, os receptores enfrentam ainda como obstáculos o alto custo e a possibilidade de rejeições imunológicas a partir de transplante alogênico (HUANG *et al*, 2017). Muitas pesquisas têm gerado métodos para criar pele artificial e cartilagem, porém tecidos mais complexos e heterogêneos exigem estudos mais aprofundados (BAJAJ *et al*, 2014).

Técnicas de manufatura aditiva para biofabricar tecidos podem aliviar a crise de escassez de órgãos e são abordadas pela Engenharia de Tecidos (HUANG *et al*, 2017). Trata-se de uma área multidisciplinar, que tem como objetivo a recuperação e regeneração de tecidos e órgãos. Extenso campo de pesquisa para a Engenharia de Tecidos, a biofabricação consiste em técnicas e métodos para a produção de órgãos e tecidos, usando biomateriais e incorporando células. A impressão 3D (3DP – *Three dimensional Printing*) foi desenvolvida por Emanuel Sachs e Michael Cima no MIT (*Massachusetts Institute of Technology*). A técnica compreendia, primeiramente, a distribuição de uma camada uniforme de pó sobre a superfície de trabalho para, então, depositar de forma seletiva um material aglutinante (MOTA, 2008). A bioimpressão como uma tecnologia de biofabricação tridimensional pode alocar com precisão biomateriais carregados de células para construção de tecidos vivos complexos (HUANG *et al*, 2017).

As tecnologias mais amplamente adaptadas para a bioimpressão 3D são a impressão a jato de tinta, impressão por extrusão, impressão assistida a laser e estereolitografia (HUNG *et al*, 2017; MOTA, 2008; GAO e CUI, 2015). Tais processos permitem o emprego de biopolímeros, biocerâmicas e compósitos para aplicações em tecidos duros e em tecidos moles (MOTA, 2008).

A técnica de extrusão é a tecnologia de bioimpressão mais usada nos últimos anos (HUANG *et al*, 2017). Esse processo de bioimpressão permite altas densidades celulares com processamento mais suave (BAJAJ *et al*, 2014; GAO e CUI, 2015) e tem compatibilidade com diferentes tipos de materiais, com uma ampla gama de viscosidades (HUANG *et al*, 2017). Além disso, a viabilidade da sobrevivência celular após a deposição por extrusão é considerada alta, superior a 90% (SEOL *et al*, 2014).

Na bioimpressão por extrusão, a superfície ou o cabeçote de extrusão é movido de maneira direcionada, controlando a deposição espacial da biotinta por um bocal (BAJAJ *et al*, 2014). O operador pode controlar o procedimento de extrusão, a velocidade e o deslocamento espacial do cabeçote e da superfície de deposição por meio de um software de computador (HUANG *et al*, 2017). Através do bocal de extrusão, usando pressão pneumática ou bomba de seringa (Figura 1), depositam-se filamentos contínuos de hidrogel contendo células livres ou encapsuladas em esferoides e, controlando-se a pressão ou o deslocamento do pistão, ajusta-se a quantidade de hidrogel depositado (SEOL *et al*, 2014).

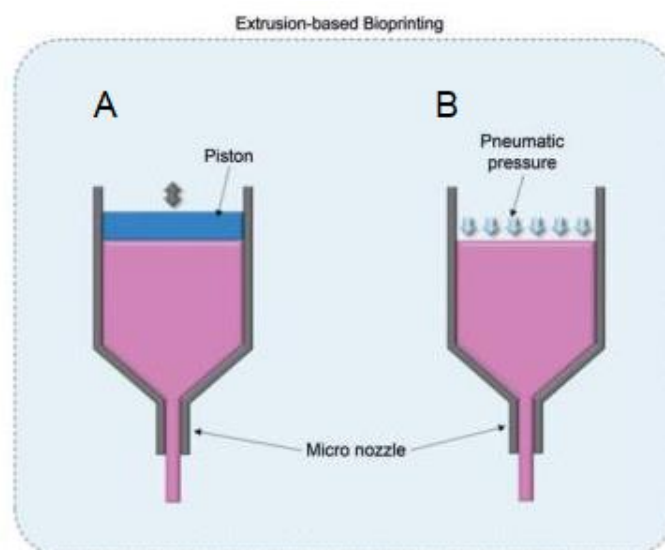


Figura 1 - Técnicas de bioimpressão baseadas em extrusão (A) pistão ou (B) pressão pneumática (adaptada de SEOL *et al*, 2014).

O processo de biofabricação pode ser realizado ainda por meio da extrusão de um biomaterial termoplástico através de uma fieira (MOTA, 2008). Segundo Huang *et al* (2017), a bioplotagem pode ejetar materiais como filamentos contínuos à temperatura ambiente ou fisiológica. Entretanto, a velocidade de impressão rápida pode fornecer altas tensões de cisalhamento, devido ao gradiente de velocidade do fluido na agulha fina. Se as tensões forem excessivas e o material contiver células encapsuladas, as membranas das células podem ficar sobrecarregadas e se romper, de modo que as células podem não sobreviver ao processo. A viabilidade celular varia com o processo de biofabricação empregado, bem como com as técnicas de manipulação celular, os tipos de células e parâmetros do processo, como a pressão de impressão, diâmetro da agulha, comprimento da agulha e viscosidade do meio de distribuição (LI *et al*, 2015; BLAESER *et al*, 2016).

2. OBJETIVOS

Por meio de simulações de dinâmica computacional de fluidos realizadas com software comercial (CFD Fluent®, ANSYS), objetiva-se analisar diferentes geometrias projetadas para o bico de extrusão de uma bioimpressora. Variando-se o ângulo de convergência, o comprimento, o diâmetro de entrada e o diâmetro de saída do bocal, busca-se investigar as tensões de cisalhamento causadas pela passagem da biotinta pelo bocal estreito.

3. METODOLOGIA

O escoamento da biotinta pelo bocal da bioextrusora apresenta simetria radial, portanto, é considerado um escoamento axissimétrico, possibilitando a modelagem bidimensional. Dessa forma, diferentes modelos bidimensionais de geometrias de bicos cônicos foram modelados no Rhinoceros® 5.0 (McNeel North America, Seattle, WA), variando o ângulo de convergência, comprimento, diâmetro de entrada e diâmetro de saída (Figura 2). Estes dados estão apresentados na Tabela 1.

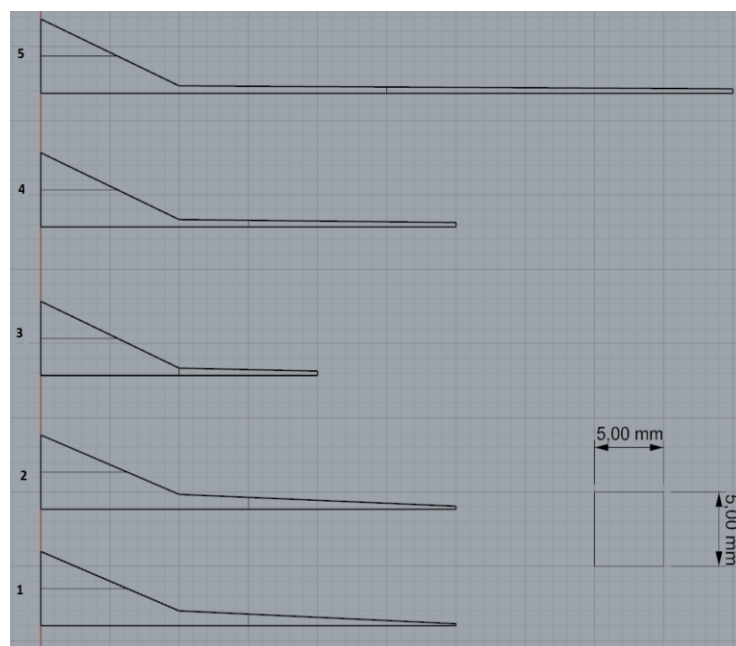


Figura 2 - Estrutura geométrica 2D de um bico de bioimpressão.

Tabela 1 - Dados dos bicos de impressão.

Geometria	ângulo de convergência (needle hub) [°]	ângulo de convergência (shaft) [°]	comprimento (needle hub) [mm]	comprimento (shaft) [mm]	diâmetro (entrada) [mm]	diâmetro (saída) [mm]
1	43,60	4,98	10,0	20,0	2,00	0,26
2	43,60	4,55	10,0	20,0	2,00	0,41
3	48,46	2,29	10,0	10,0	1,00	0,60
4	48,46	1,15	10,0	20,0	1,00	0,60
5	48,46	0,57	10,0	40,0	1,00	0,60

Simulações do processo de extrusão foram realizadas utilizando o ANSYS FLUENT® 18.2 (ANSYS, Inc., Canonsburg, PA). Para obtenção das propriedades do fluido extrudado, considerou-se o trabalho de Dharmadasa (2016), cujo biomaterial utilizado consiste em celulose nanofibrilada e alginato, que exhibe o comportamento de um fluido não-Newtoniano. Esta biotinta foi referenciada como *Ink6040* e modelada como um fluido com densidade igual a 998,2 kg.m⁻³. O modelo *Power-Law* de viscosidade para fluidos não-newtonianos é o que melhor descreve o comportamento viscoso da biotinta *Ink6040*, dada por

$$\eta = k \cdot \dot{\gamma}^{n-1} e^{T_0/T} \quad (1)$$

onde k é o índice de consistência, igual a 109,73 Pa.s, e n é o índice de comportamento, que indica o quanto o fluido se desvia do modelo newtoniano, e é igual a 0,154. Dharmadasa (2016) assumiu a viscosidade da biotinta *Ink6040* como independente de temperatura, portanto $T_0 = 0$. Para simulação computacional, foi necessário ainda indicar os limites superior e inferior da viscosidade da biotinta, considerada por Dharmadasa como $\eta_{max} = 62$ 200 Pa.s e $\eta_{min} = 8,94 \times 10^{-4}$ Pa.s.

Adotou-se o escoamento laminar para a biotinta e as condições de contorno foram definidas como vazão mássica na entrada do bocal e pressão na saída. Com base na literatura (YEO *et al*, 2016; JIA *et al*, 2016; DUBBIN *et al*, 2017; GÖHL *et al*, 2018), determinou-se o valor de 50 microlitros por minuto para a vazão volumétrica da biotinta. O dado de entrada no ANSYS FLUENT® é a vazão mássica, que corresponde a $8,3183 \times 10^{-7}$ kg/s. A pressão de saída foi definida como 0 Pa (zero), por estar em contato com o ambiente, submetida à pressão atmosférica.

A demonstração de independência de malha é condição necessária para a validade de um resultado. Empregou-se, neste trabalho, o método da malha adaptativa para o refinamento, a partir do gradiente da derivada da taxa de deformação do fluido. A região de contato do fluido com a parede do bocal é a área de maior interesse, por apresentar maiores tensões de cisalhamento. Para garantir maior qualidade no refinamento da malha nesta região, aplicou-se o comando *inflation*, com três camadas em média, e uma taxa de crescimento igual a 1,1. A qualidade ortogonal foi utilizada como referência para avaliar a malha gerada e buscou-se garantir valores mínimos acima de 0,3.

4. RESULTADOS

As tensões cisalhantes médias e máximas na parede do bocal foram obtidas a partir das simulações e os resultados organizados nas tabelas abaixo, de acordo com a geometria.

A primeira geometria analisada tende a apresentar tensão de cisalhamento média (*wall shear*) igual 113 Pa e valores máximos entre 330 e 355 Pa (Tabela 2).

Tabela 2 - Resultados obtidos para a geometria 1.

Numero de elementos	<i>wall shear</i> [Pa]	valor máximo <i>wall shear</i>
37251	105,020	331,587
149004	112,919	350,680
596016	112,930	353,621
1487621	113,450	342,821
2806250	113,335	345,849

O segundo bocal analisado tende a apresentar tensão de cisalhamento média igual 130 Pa e valores máximos entre 265 e 275 Pa (Tabela 3).

Tabela 3 - Resultados obtidos para a geometria 2.

Numero de elementos	<i>wall shear</i> [Pa]	valor máximo <i>wall shear</i>
83152	105,662	273,999
160657	118,338	269,438
231840	131,000	267,487
561711	129,553	267,653
1453125	129,718	268,451

A geometria 3 tende a apresentar tensão de cisalhamento média igual 105 Pa e valores máximos entre 220 e 260 Pa (Tabela 4).

Tabela 4 - Resultados obtidos para a geometria 3.

Numero de elementos	<i>wall shear</i> [Pa]	valor máximo <i>wall shear</i>
52078	108,4190	222,736
208312	112,4850	238,509
587365	112,5240	250,400
833248	112,7880	255,671
1355216	112,9794	248,600

A geometria 4 tende a apresentar tensão de cisalhamento média, aproximadamente, igual 120 Pa e valores máximos entre 220 e 265 Pa (Tabela 5).

Tabela 5 - Resultados obtidos para a geometria 4.

Numero de elementos	<i>wall shear</i> [Pa]	valor máximo <i>wall shear</i>
61206	114,4650	221,533
153264	119,0760	238,338
354297	119,1630	250,627
613584	119,2030	251,846
1789956	119,5280	264,507

O quinto bocal analisado tende a apresentar tensão de cisalhamento média igual a, aproximadamente, 138 Pa e valores máximos entre 220 e 270 Pa (Tabela 6).

Tabela 6 - Resultados obtidos para a geometria 5.

Numero de elementos	<i>wall shear</i> [Pa]	valor máximo <i>wall shear</i>
73341	131,5910	225,772
189012	137,4550	241,818
423453	137,5970	254,487
726792	137,7440	255,579
1383915	138,0360	267,460

Comparados os valores de tensão de cisalhamento media obtida através das simulações computacional para os bicos 1 e 2 observou-se que o aumento no diâmetro de saída levou a uma maior tensão de cisalhamento e comparando os bicos 3, 4 e 5 observou-se que o aumento do comprimento (*shaft*) também levou a um aumento da tensão cisalhante nos bicos de extrusão.

Blaeser *et al* (2016) investigaram os efeitos em curto prazo e possíveis efeitos em longo prazo da tensão de cisalhamento induzida em células-tronco mesenquimais primárias humana, durante o processo de bioimpressão. Concluíram que, com o aumento da tensão de cisalhamento, a viabilidade celular imediatamente após a bioimpressão diminuiu significativamente. Tensões cisalhantes abaixo de 4 kPa conferiram viabilidade celular satisfatória, da ordem de 94%. O crescimento de células expostas a baixas tensões de cisalhamento, isto é, inferiores a 5 kPa, não foi afetado pelo processo de bioimpressão. Por outro lado, o crescimento celular foi fortemente afetado por níveis mais elevados de tensão de cisalhamento. Eles indicam também que níveis moderados de tensão de cisalhamento podem até estimular a proliferação celular, enquanto esse efeito é revertido quando certo limiar de estresse é excedido.

5. CONCLUSÃO

Tendo em vista os resultados obtidos a partir dos métodos fluidodinâmicos computacionais, para as características da biotinta em questão e para as geometrias analisadas, esse processo de bioimpressão por extrusão não oferece prejuízo para a viabilidade celular. Como as tensões cisalhantes médias apresentadas foram pequenas, isto é, muito inferiores a 4 kPa, é possível propor trabalhos com vazões ainda maiores e optar por agulhas mais finas, que conferem maior resolução ao tecido.

REFERÊNCIAS

- BAJAJ, Piyush; SCHWELLER, Ryan; KHADEMHOSEINI, Ali; WEST, Jennifer; BASHIR, Rashid. 3D Biofabrication Strategies for Tissue Engineering and Regenerative Medicine. *Annu Rev BiomedEng*, 2014..
- BLAESER, Andreas et al. Controlling Shear Stress in 3D Bioprinting is a Key Factor to Balance Printing Resolution and Stem Cell Integrity. *Advanced Healthcare Materials*, 2016.
- DHARMADASA, Varuna. *Investigation of cell-viability in the bioprinting process*. Degree Project in Mechanical Engineering, Kth Royal Institute. Stockholm, 2016.
- DUBBIN, Karen; TABET, Anthony; HEILSHORN, Sarah. Quantitative criteria to benchmark new and existing bio-inks for cell compatibility. IOP Publishing, *Biofabrication*, 2017.
- GAO, Guifang; CUI, Xiaofeng. Three-dimensional bioprinting in tissue engineering and regenerative medicine. *Biotechnology Letters*, vol. 37, n. 11, 2015.

- GÖHL, J.; MARKSTEDT, K.; MARK, A.; HÅKANSSON, K.; GATENHOLM, P.; EDELVIK, F. Simulations of 3D bioprinting: predicting bioprintability of nanofibrillar inks. IOP Publishing, *Biofabrication*, 2018.
- HUANG, Ying; ZHANG, Xiao-Fei; GAO, Guifang; YONEZAWA, Tomo; CUI, Xiaofeng. 3D bioprinting and the current applications in tissue engineering. *Biotechnology Journal*, 2017.
- JIA, W.; GUNGOR-OZKERIM, P.; ZHANG, Y.; YUE, K.; ZHU, K.; LIU, W.; PI, Q.; BYAMBAA, B.; DOKMECI, M.; SHIN, S.; KHADEMHOSEINI, A. Direct 3D bioprinting of perfusable vascular constructs using a blend bioink. *Biomaterials*, vol. 106 pa. 58-68. Elsevier, 2016.
- MOTA, Carlos. *Sistema de Bioextrusão para a Engenharia de Tecidos*. Dissertação (Mestrado) – em Engenharia Mecânica, Universidade de Aveiro, 2008.
- SEOL, Y. J.; KANG, H. W.; LEE, S. J.; ATALA, A.; YOO, J. J. Bioprinting technology and its applications. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, pp. 1-7, 2014.
- TRANSPLANTES de órgãos: uma luta contra o tempo para salvar vidas. Ministério da Saúde, Governo do Brasil, 2017. Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/editoria/saude/2017/09/transplantes-de-orgaos-uma-luta-contra-o-tempo-para-salvar-vidas>>. Acesso em 13 de jul. de 2018.
- YEO, MyungGu; HA, JongHan; LEE, HyeongJin; KIM, GeunHyung. Fabrication of hASCs-laden structures using extrusion-based cell printing supplemented with an electric field. *Acta Biomaterialia*, vol. 38, p. 33-43. Elsevier, 2016.

APÊNDICE A – Resultados Numéricos

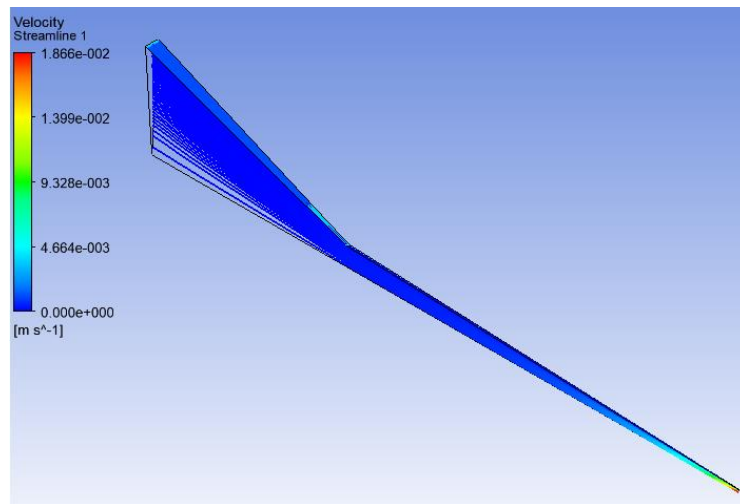


Figura 3 - Geometria 1: vista isométrica: escoamento do fluido e tensão cisalhante na parede.

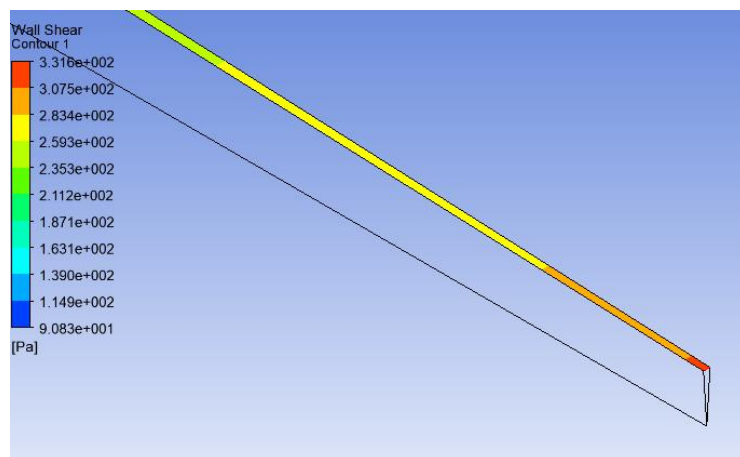


Figura 4 - Geometria 1: detalhe tensão cisalhante na parede.

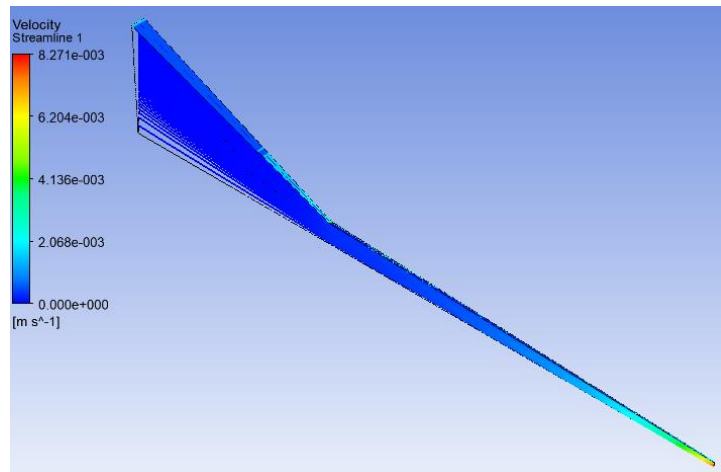


Figura 5 - Geometria 2: vista isométrica: escoamento do fluido e tensão cisalhante na parede.

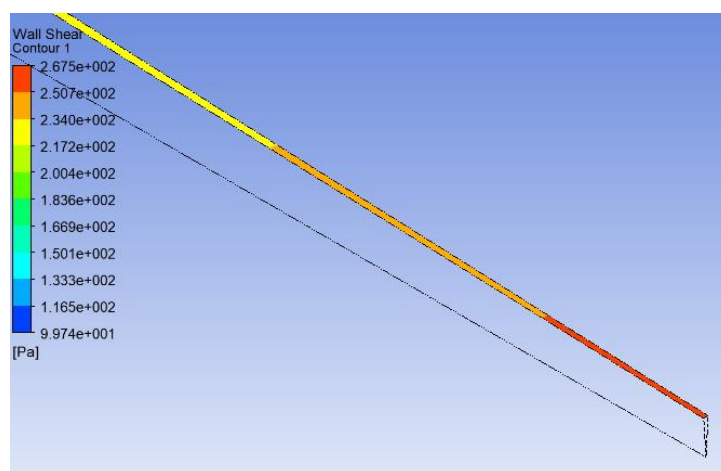


Figura 6 – Geometria 2: detalhe da tensão cisalhante na parede.

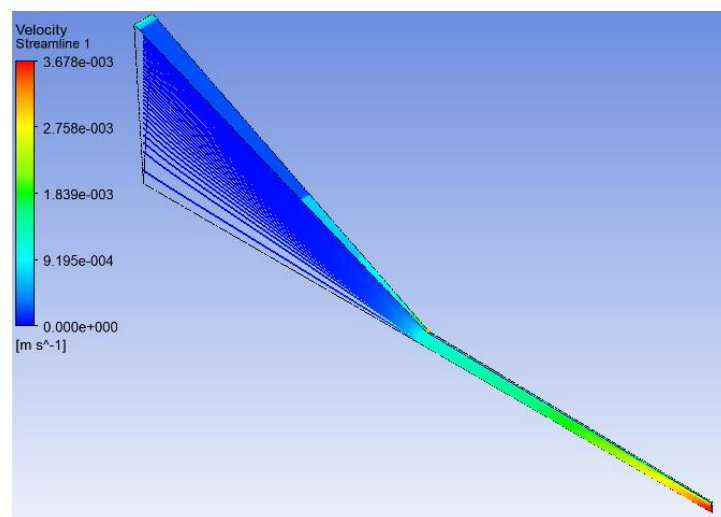


Figura 7 - Geometria 3: vista isométrica: escoamento do fluido e tensão cisalhante na parede

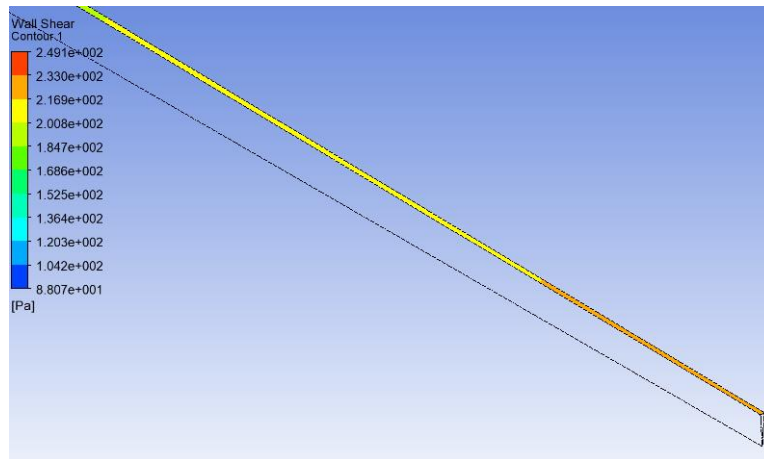


Figura 8 - Geometria 3: tensão cisalhante na parede.

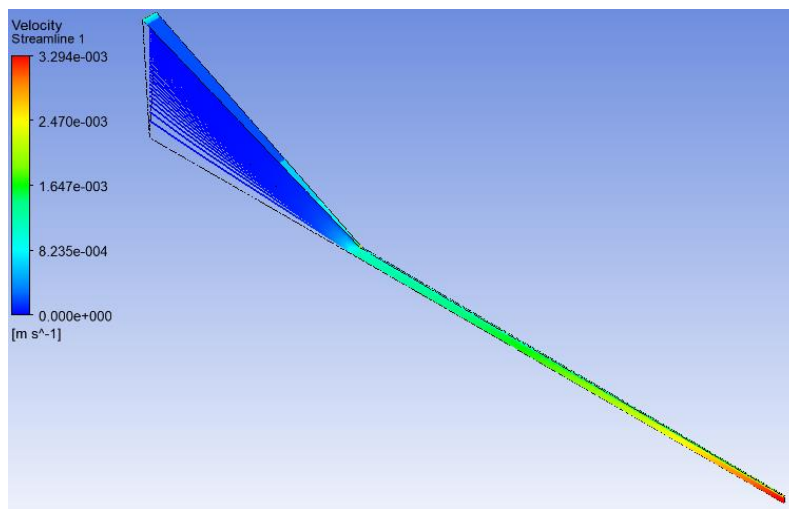


Figura 9 - Geometria 4: vista isométrica: escoamento do fluido e tensão cisalhante na parede

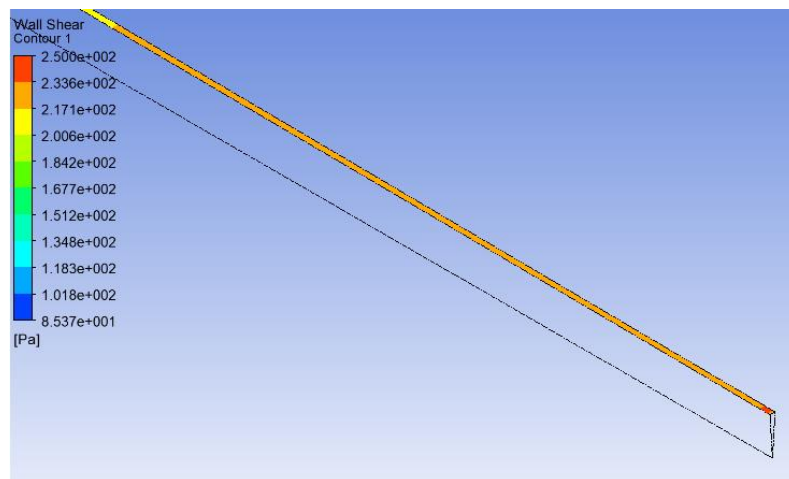


Figura 10 - Geometria 4: tensão cisalhante na parede.

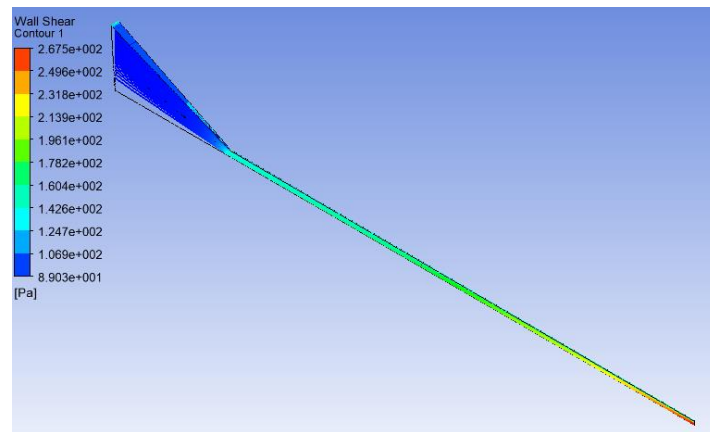


Figura 11 - Geometria 5: vista isométrica: escoamento do fluido e tensão cisalhante na parede.

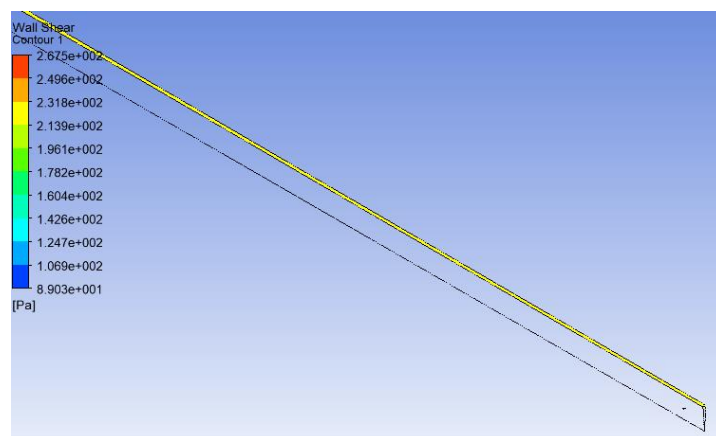


Figura 12 - Geometria 5: tensão cisalhante na parede.

STUDY OF THE EFFECT OF THE PROJECT PARAMETERS OF EXTRUSOR NOZZLES IN BIOIMPRESSION USING COMPUTATIONAL FLUIDODYNAMICS

Patrícia Muniz de Oliveira¹ – munizpatricia@outlook.com.br

Isabela Poley² – poley@ufmg.br

Estevam Barbosa Las Casas¹ – estevam.lascasas@gmail.com

Marina Las Casas¹ – marinalas@yahoo.com.br

Janaina Dernowsek³ - janaina.dernowsek@cti.gov.br

¹ Biomechanical Engineering Group of UFMG - Belo Horizonte, MG, Brazil

² Bioengineering Laboratory at UFMG - Belo Horizonte, MG, Brazil.

³ CTI Renato Archer – Campinas, SP, Brasil.

Abstract. *The demand for organ donations is still significantly greater than the number of donors. The development of techniques for biofabricating tissues can reduce the crisis of organ shortage. The biofabrication of organs is approached by Tissue Engineering and objective is the recovery and regeneration of tissues and organs. Bioprinting can generate complex tissues from the three-dimensional deposition of different cell types and biomaterials. The regulation of shear stress has fundamental importance for cell viability during and after the bioprinting process. In this article, the bioextrusion process is analyzed by computational fluid dynamics simulations, for different geometries of bioextruder nozzle.*

Keywords: *Tissue Engineering, Bioengineering, Biofabrication, CFD.*