

Pele artificial

Substituto cutâneo poderá ser usado como enxerto no tratamento de queimaduras e de lesões graves

Yuri Vasconcelos


Cerca de um milhão de pessoas com queimaduras são registradas por ano no país. Desse total, 10% buscam atendimento hospitalar e 2.500 pacientes morrem. São os acidentes com fogo a segunda causa de morte na infância no Brasil e nos Estados Unidos. Por isso, a criação em laboratório de substitutos de pele para uso como enxerto tem sido um importante foco de pesquisa nos últimos 30 anos. Em vários países cientistas tentam desenvolver uma espécie de pele artificial que possa ser aplicada com sucesso em pessoas com lesões graves. Aqui no Brasil, vale destacar o trabalho feito por uma equipe de pesquisadores da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), que provou em ensaios laboratoriais a eficácia de um substituto cutâneo tridimensional tendo na composição uma substância extraída de uma árvore nativa do país, a copaibeira (*Copaifera langsdorffii*). Desenvolvido ao longo do doutorado da bióloga Ana Luíza Garcia Millás, do Departamento de Engenharia de Materiais e Bioprocessos da Faculdade de Engenharia Química da Unicamp, com bolsa da FAPESP, o estudo ganhou em setembro o primeiro lugar no prêmio de inovação

do 8º Encontro Nacional de Inovação em Fármacos e Medicamentos promovido pelo Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento em Fármacos e Medicamentos em conjunto com a Sociedade Brasileira Pró-Inovação Tecnológica.

“O tratamento de queimaduras e lesões cutâneas extensas e graves é um desafio para a medicina regenerativa. Existem algumas alternativas para a substituição da pele, mas nenhuma delas atende a 100% da demanda e das necessidades para uma boa cicatrização. Nosso objetivo é criar uma pele artificial que possa ser absorvível pelo organismo e solucionar problemas crônicos como úlceras, escaras profundas e queimaduras de terceiro grau”, diz Ana Luíza. “Queremos desenvolver um substituto cutâneo 3D, que, além do papel reparador, tenha também função regenerativa, estética e facilite a cicatrização.”

A nova pele artificial será produzida a partir de uma solução feita com polímero absorvível PLGA – sigla para poli (ácido láctico-co-glicólico) –, óleo-resina de copaíba e um solvente. Muito usado na fabricação de implantes, o PLGA é gradualmente degradado e absorvido pelo organismo do paciente. Depois de pronta, a solução de polímero é trans-

Tronco da copaibeira: matéria-prima para óleo-resina que facilita a regeneração de queimaduras



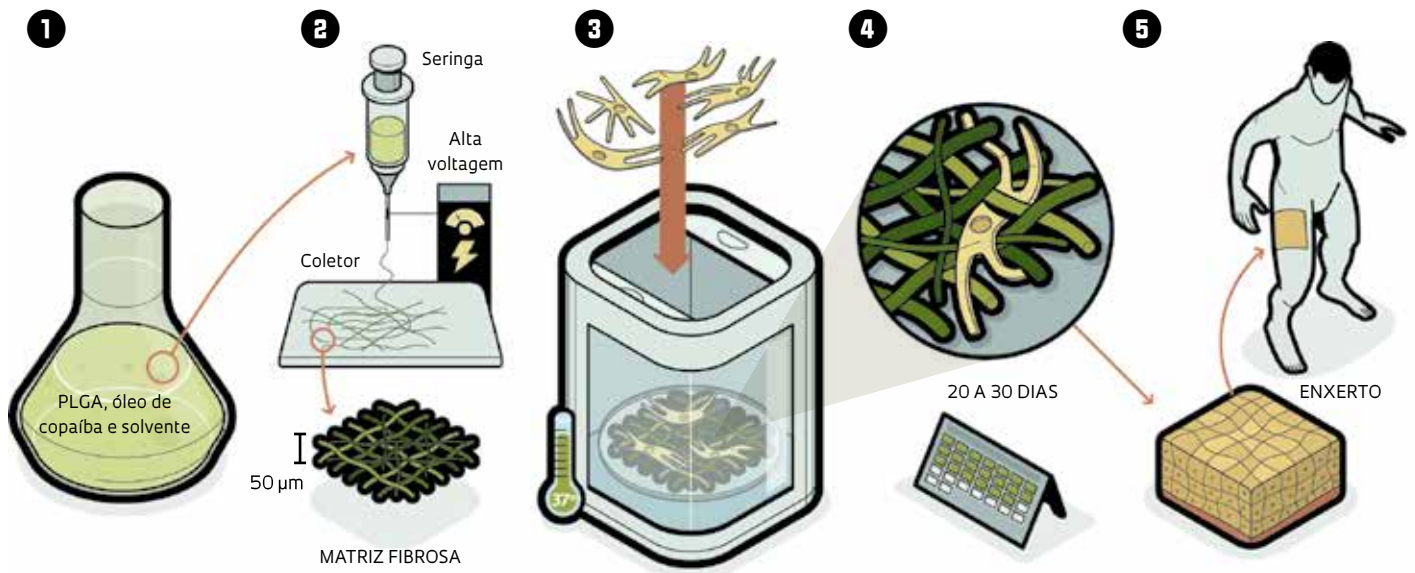
1 e 3 Equipamento para
testar papel na Suzano

2 Licor negro usado
para extração de lignina

4 Químico Sérgio
Saraiva faz pesquisas
em laboratório de P&D
da empresa

Enxerto sintético

Conheça as principais etapas do desenvolvimento do produto que poderá ser usado em implantes na pele



SOLUÇÃO POLIMÉRICA

O primeiro passo é a preparação de uma solução formada por *pellets* do polímero biorreabsorvível poli(ácido láctico-co-glicólico), conhecido simplesmente como PLGA, óleo-resina de copaíba e um solvente

ELETRIFICAÇÃO

A solução polimérica é colocada em uma seringa e transformada em fio por meio da técnica de eletrofiação. O resultado é uma matriz fibrosa (ou *scaffold*), formada por filamentos. O *scaffold* fibroso polimérico é esterilizado com raios gama ou ultravioletas

CULTIVO CELULAR

Numa estufa a 37 graus Celsius e que permite troca gasosa, células do paciente responsáveis pela síntese do colágeno, denominadas fibroblastos, são colocadas sobre o *scaffold*. Depois de se fixar no substrato, elas crescem, proliferam e se diferenciam

CRESCIMENTO

O tamanho do poro da matriz fibrosa permite que os fibroblastos migrem e proliferem dentro dela, ligando-se uns aos outros e crescendo em camadas que formam uma estrutura tridimensional. Esse processo leva de 20 a 30 dias

IMPLANTE

Finalmente, a pele artificial (ou substituto de pele) formada pelo conjunto *scaffold* polimérico e células dérmicas está pronta para ser implantada em pacientes com lesões cutâneas graves, como queimaduras de terceiro grau, úlceras e escaras

FONTE ANA LUIZA GARCIA MILLÁS / UNICAMP

formada em uma fibra por uma técnica conhecida como eletrofiação. A estrutura resultante desse processo, também chamado de *scaffold*, servirá de suporte ou de uma armação celular tridimensional, mimetizando a arquitetura da pele. Paralelamente, fibroblastos, que são tipos de células da derme, a parte mais profunda da pele, são retirados por biopsia do paciente queimado. Essas células são cultivadas sobre a estrutura fibrosa que, após alguns dias, é implantada no paciente.

De acordo com Benedicto de Campos Vidal, professor emérito do Instituto de Biologia da Unicamp e especialista em colágeno, os resultados *in vitro* alcançados até o momento são bem promissores e permitiram chegar a uma importante constatação: as células estão aderindo, proliferando, se diferenciando e, aparentemente, produzindo colágeno, proteína fundamental no processo de cicatrização. “Tudo indica que os

fibroblastos [células da derme] estão resultando em uma matriz de colágeno. Isso é fundamental para o sucesso da pesquisa”, diz Vidal. A nova estrutura celular tem como função dar suporte para que a epiderme, a parte mais superficial da pele, possa proliferar. Além de trabalhar com células do próprio paciente, Ana Luiza pretende utilizar também fibroblastos provenientes de terceiros. “A vantagem de usar células retiradas de outras pessoas é a possibilidade de produzir em larga escala para um banco de pele. O ponto negativo é que aumentam as chances de rejeição.”

Um aspecto relevante da pesquisa é o emprego da técnica de eletrofiação, conhecida em inglês como *electrospinning*, que tem atraído interesse no campo da engenharia de tecidos pela facilidade em produzir fibras ultrafinas e com alta diferença entre superfície e volume sem a necessidade de uma instrumentação cara e complexa. A técnica,

aplicável a uma grande variedade de polímeros naturais ou sintéticos, também se destaca por permitir o controle de diâmetro, porosidade e topografia dos filamentos. Ela também aumenta a eficiência no transporte de nutrientes entre a matriz de fibras e o ambiente externo.

A incorporação no substituto cutâneo de uma substância natural pouco estudada e com comprovadas propriedades terapêuticas é outra inovação da pesquisa. Usado para fins medicinais desde o século XVI, o óleo-resina de copaíba atua como agente cicatrizante, analgésico, anti-inflamatório e antimicrobiano. “Esse é um aspecto inovador do trabalho, juntamente com o uso de um polímero para a produção da matriz a ser aplicada sobre a lesão”, afirma a dermatologista Beatriz Puzzi, coordenadora do Laboratório de Cultura de Células de Pele da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp e coorientadora do doutorado de Ana Luiza. A incorporação do óleo de copaíba à matriz tem como objetivo funcionalizá-lo, facilitando a regeneração de queimaduras. A doutoranda da Unicamp explica que a substância retirada do tronco da árvore recebe o nome de óleo-resina por ser constituída por aproximadamente 45% de óleos essenciais voláteis e 55% de resina.

IMPRESSORA DE PELE

Testes pré-clínicos, em animais, e clínicos, em humanos, não foram realizados até o momento, mas o grupo já vislumbra a possibilidade de produzir o material em escala maior, usando impressoras 3D digitais em combinação com a técnica de eletrofiação. A ideia de utilizar essas impressoras surgiu da necessidade de escalonar a produção do material e das exigências de manuseio da estrutura para o implante. “Iniciamos alguns testes que combinam as duas técnicas, impressão 3D e eletrofiação. Pode ser uma alternativa porque as matrizes são extremamente frágeis e difíceis de manusear”, diz Ana Luiza. “Os ensaios *in vitro* já mostraram que o material é biocompatível e tem grande potencial. Acredito que os testes clínicos possam ser iniciados dentro de dois anos e, se tudo der certo, em cinco anos poderá ser iniciada a comercialização.”

A inovação surgida na Unicamp guarda semelhanças com dois produtos norte-americanos das empresas Organogenesis, dona do Apligraf, e Forticell Bioscience, com o Orcel. Ambas utilizam

colágeno bovino e fibroblastos humanos. A pesquisa de Ana Luiza é uma evolução de um estudo iniciado durante seu mestrado, em 2010, intitulado “Instalação de tecnologia de *electrospinning* para a produção e caracterização de nanofibras de celulose incorporadas com óleo natural”. Esse trabalho levou à elaboração de uma patente que defende o uso de fibras produzidas pela tecnologia de eletrofiação e incorporadas com óleos essenciais não só para uso como pele artificial ou curativos, mas também como filtros, tecidos e embalagens para alimentos e cosméticos. O desenvolvimento do substituto cutâneo contou com a participação de uma equipe formada pelos engenheiros químicos Edison Bittencourt, professor da Faculdade de Engenharia Química da Unicamp e orientador do doutorado de Ana Luiza, e João Vinícios Silveira, além dos professores Maria Beatriz Puzzi e Benedicto Vidal, também da Unicamp.

Parte do desenvolvimento da pele artificial foi realizada no exterior. Em 2012, Ana Luiza foi financiada na pós-graduação pelo programa de bolsas mobilidade internacional do banco Santander, e fez um programa sanduíche, intercalando parte dos estudos na Inglaterra. “Fui orientada pelo cientista Bob Stevens, professor da Universidade Nottingham Trent e pesquisador colaborador da *The Electrospinning Company*. Essa empresa usa a plataforma de *electrospinning* para desenvolver biomateriais fibrosos para a área de medicina regenerativa. No período que passei na empresa, decidi qual polímero usar para o propósito que buscava, estabeleci todas as condições das soluções e do equipamento de eletrofiação para a produção dos *scaffolds* e realizei testes *in vitro* preliminares usando fibroblastos de pulmão.” Em 2013, Ana Luiza fez novo sanduíche, agora no âmbito do programa Ciências sem Fronteiras, na Universidade Cornell, nos Estados Unidos. ■

Projeto

Desenvolvimento de *scaffolds* bioativos incorporados com óleos vegetais para regeneração de tecido cutâneo a partir da tecnologia de eletrofiação (nº 2012/09110-0); Modalidade Bolsa no País – Regular – Doutorado; Pesquisador responsável Edison Bittencourt (Unicamp); Bolsista Ana Luiza Garcia Millás (Unicamp); Investimento R\$ 116.615,19 (FAPESP).

Artigo científico

Yusuf, M. *et al.* Platinum blue staining of cells grown in electrospun scaffolds. *Biotechniques*. v. 57, n. 3, p. 137-41. set. 2014.

Os ensaios *in vitro* mostraram que o material é biocompatível. O próximo passo são os testes clínicos em humanos