

Imageamento, modelagem tridimensional e simulação computacional aplicados à biofabricação de tecidos.

Carlos Eduardo Tarateta F. Silva; Bruna Maria Manzini; Júlia A. Nogueira; Jorge V. L. da Silva

{cetsilva; bmanzini; julia.nogueira; jorge.silva}@cti.gov.br

**Núcleo de Tecnologias Tridimensionais – NT3D
Centro de Tecnologia e Informação Renato Archer –
CTI/Campinas/SP**

Abstract. *Computational modeling has been increasingly used as a way to assist in the development of biofabrication products, which have great potential for creating new therapies and substitutes for damaged tissues. In this context, the present article aims to build a computational model with the Finite Elements Method (Altair Hyperworks®) to obtain the stresses that MSCs spheroids are exposed, as a way to contribute to the study of osteogenesis. The results obtained through the developed model can be useful in the study of bone tissue differentiation, as they can be used in simulations of biological behavior.*

Key words: *Biofabrication; Tissue Engineering; Computational Model; Finite Elements Method; Osteogenesis.*

Resumo. *A modelagem computacional vem sendo cada vez mais utilizada como uma forma de auxiliar no desenvolvimento de produtos da biofabricação, que apresentam grande potencial para a criação de novas terapias e substitutos para tecidos danificados. Nesse contexto, o presente artigo visa a construção de um modelo computacional pelo Método dos Elementos Finitos (Altair Hyperworks®) para a obtenção das tensões que estão submetidos os esferóides teciduais compostos por células tronco Mesenquimais, contribuindo para o estudo dos processos de osteogênese. Os resultados obtidos através do modelo desenvolvido podem ser úteis no estudo da diferenciação de tecido ósseo, uma vez que poderão ser utilizados em simulações de comportamento biológico.*

Palavras-chave: *Biofabricação; Engenharia Tecidual; Modelagem Computacional; Método dos Elementos Finitos; Osteogênese.*

1. Introdução

As ferramentas de modelagem computacional já são amplamente utilizadas na área das engenharias, sendo mais recentemente utilizadas também como uma forma de auxiliar nos estudos de comportamento celular [1] e da resposta de estruturas biológicas à carregamentos mecânicos [2,3] e térmicos [4], por exemplo.

Através desses modelos que visam reproduzir *in silico* o comportamento de estruturas biológicas, é possível prever comportamentos, reduzir custos de laboratório, aumentar a reprodutibilidade e realizar análises estatísticas através da variação de parâmetros, permitindo inclusive o desenvolvimento de terapias personalizadas através de modelos virtuais do paciente, como é o caso dos chamados *Digital Twins* [5]. Assim, a modelagem computacional se apresenta como uma importante aliada no desenvolvimento de novas tecnologias na área das ciências médicas, como é o caso dos estudos mais atuais em biofabricação.

A biofabricação se trata de um conceito em constante evolução [6], sendo mais recentemente definida por Groll (2016) como a produção de forma automatizada de produtos biologicamente funcionais, compostos por células vivas, moléculas bioativas, biomateriais e agregados celulares, através de técnicas de Bioimpressão e *Bioassembly*, seguidas por processos de maturação [7]. Os produtos da biofabricação apresentam grande potencial de uso na área de medicina regenerativa, auxiliando no desenvolvimento de novas terapias e criando substitutos para tecidos danificados [8,9]. Esses produtos podem ser fabricados contando com o auxílio de uma estrutura composta de biomaterial, denominada *scaffold*, ou sem essa estrutura de auxílio, no caso da engenharia de tecidos *scaffoldless*, que visa realizar a biofabricação mimetizando as características estruturais da matriz extracelular. Uma forma de mimetizar as características da matriz extracelular é à partir de esferóides teciduais, que podem ser obtidos através de diversas técnicas [10]. Esses esferóides podem ser empilhados de forma a criar estruturas tridimensionais, em um processo denominado bioimpressão 3D [11], que utiliza técnicas de manufatura aditiva a fim de replicar estruturas biológicas em três dimensões.

Com isso, o projeto que em que está inserido esta pesquisa visa realizar um estudo do padrão de comportamento de células-tronco Mesenquimais estromais por meio de técnicas de modelagem biológica e simulação computacional, a fim de investigar os processos de sinalização que iniciam e conduzem eventos semelhantes à osteogênese, visando aplicações voltadas à área médica. Dentro desse contexto, a pesquisa a ser apresentada neste artigo visa a construção de um modelo computacional que será utilizado para a obtenção das tensões e deslocamentos que estão submetidos os esferóides teciduais compostos por células tronco Mesenquimais, a fim de utilizar esses resultados de forma integrada com softwares de simulação de comportamento biológico,

como uma forma de contribuir para o estudo da influência desses estímulos na diferenciação de tecido ósseo.

2. Materiais e Métodos

As simulações computacionais pelo método dos elementos finitos vêm sendo cada vez mais utilizadas para auxiliar no estudo de comportamentos biológicos, principalmente quando essas estruturas biológicas estão submetidas a esforços mecânicos ou térmicos. O método consiste na discretização da geometria a ser analisada em uma malha formada por elementos de geometria conhecida, como triângulos e quadrados (2D) e tetraedros ou hexaedros (3D), onde os cálculos das equações que descrevem o problema físico são realizados nos nós destes elementos [12].

Existem diversas ferramentas comerciais que realizam simulações pelo método dos elementos finitos, sendo que os softwares utilizados para a confecção da malha e para a análise são da Altair Hyperworks®.

A primeira etapa consiste na conceituação da geometria, que é formada por oito esferóides teciduais com dimensões de 200 μm de diâmetro cada. Esses esferóides foram empilhados como nos vértices de um cubo, considerando que eles apresentavam 10% de fusão [13] (180 μm entre centros), de modo a representar um fragmento de uma estrutura maior formada por esferóides empilhados. A escolha do diâmetro se dá pelo tamanho das células Mesenquimais, sendo esse o diâmetro de um esferóide com cerca de 3500 células Mesenquimais, segundo modelo de Murphy (2017) que relaciona o diâmetro do esferóide com o número de células Mesenquimais [14]. Essa geometria foi então construída no software Rhinoceros 3D®, conforme figura 1, a fim de ser utilizada para a construção da malha de elementos finitos.

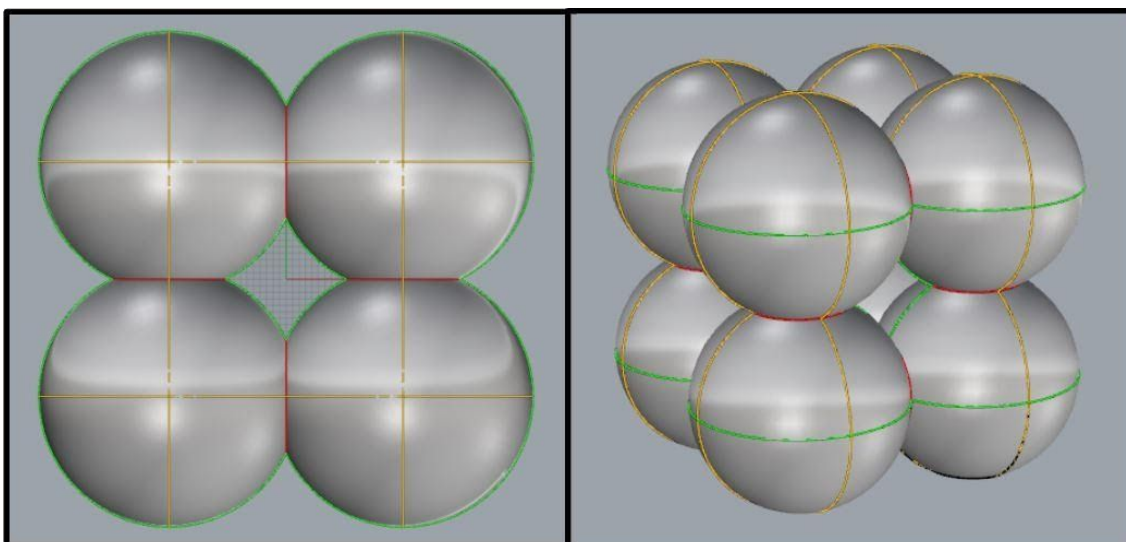


Figura 1. Geometria composta por oito esferóides

Depois de finalizada, a geometria foi discretizada em uma malha de elementos finitos através do software Altair HyperMesh®, onde primeiramente foi construída uma malha 2D, sendo essa malha refinada nos locais de maior interesse, que seriam as

regiões onde é aplicado o carregamento e as regiões de contato entre os esferóides (figura 2). Essa malha 2D foi então criada utilizando elementos *tria3* (de primeira ordem) com tamanho mínimo de 3 μm e máximo de 5 μm , sendo essa malha utilizada como base para a criação da malha 3D, composta por 784.014 elementos *tetra4*, também de primeira ordem.

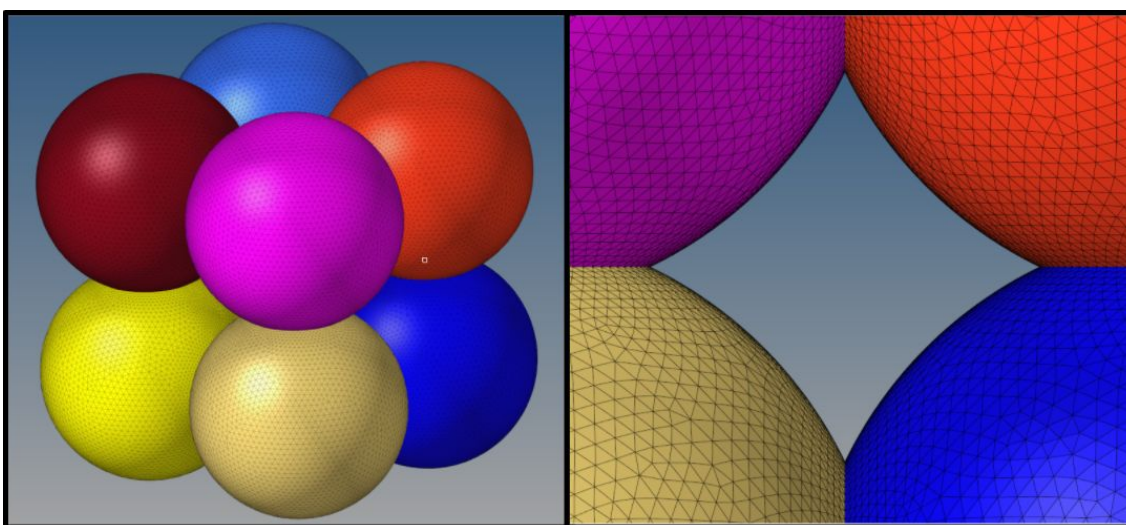


Figura 2. Malha de elementos finitos com refinamento nas regiões de interesse

Com a malha de elementos finitos finalizada, é preciso configurar a simulação com as propriedades mecânicas dos esferóides, com o carregamento a ser aplicado e com as devidas restrições. Nessa primeira parte do projeto o modelo de material a ser utilizado para os esferóides será o de sólido linear elástico, a fim de obter resultados preliminares e ajustar a simulação, sendo que para isso foi considerado o módulo de elasticidade das células Mesenquimais [15], e com coeficiente de Poisson de 0.49.

O carregamento ao qual os esferóides estão submetidos é representado por uma pressão uniforme e normal à face dos esferóides, com magnitude de 0,06 Pa, aplicado ao oitavo de esfera de cada um dos 8 esferóides na região de interstício, conforme figura 3a. Como a geometria utilizada representa um fragmento de uma estrutura maior, os esferóides foram engastados nos pontos de contato com os esferóides não representados na geometria, conforme figura 3b.

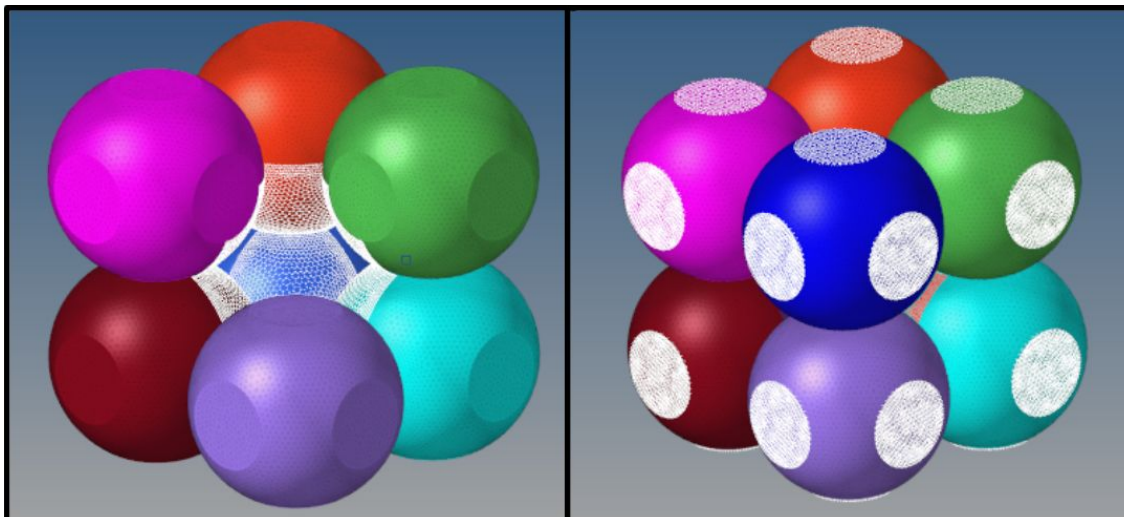


Figura 3. a) Pressão aplicada nos interstícios internos; b) Regiões engastadas

Por fim, foi estabelecido o contato entre os esferóides, considerando que não existe movimento relativo entre as faces em contato (contato do tipo *freeze*), de modo a obter como resultado justamente a tensão nas regiões de contato entre os esferóides representados. Com isso e configurando o modo de análise para linear estática, foi realizada a simulação no solver de elementos finitos Altair Optistruct®, seguido do pós processamento dos resultados no software Altair Hyperview®.

3. Resultados e Discussão

Através do modelo de elementos finitos desenvolvido, foi possível obter como resposta da simulação linear estática o campo de tensões principais (P1 major) e deslocamentos na estrutura simulada, sendo que o que se está buscando são as tensões nas regiões de fusão dos esferóides e o deslocamento máximo das regiões onde é aplicado o carregamento, a fim de avaliar o quanto esse carregamento deforma o esferóide.

As tensões máximas obtidas foram nas regiões de interface, onde foi registrada uma tensão principal máxima de 0,38 Pa, conforme representado na figura 4.

Já o deslocamento máximo obtido foi na região de aplicação do carregamento, sendo o valor máximo de 0,007 μm (figura 5). A validade desses valores obtidos para deslocamento e tensão serão posteriormente analisadas conforme for dado prosseguimento ao projeto.

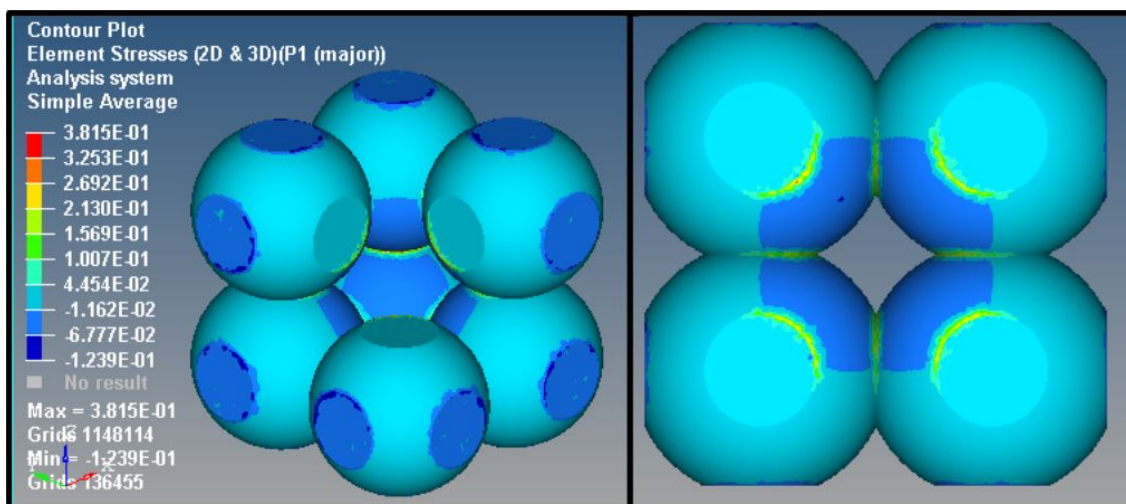


Figura 4. Resultados obtidos para tensão principal

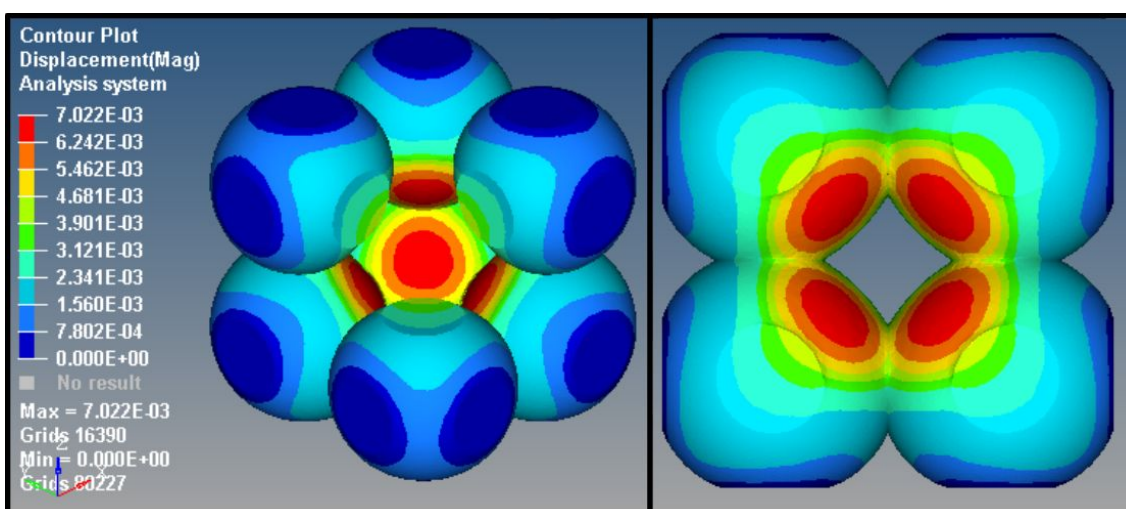


Figura 5. Resultados obtidos para deslocamento

4. Conclusão

Com os resultados obtidos durante esse período de projeto é possível notar que as ferramentas de simulação computacional pelo método dos elementos finitos podem ser úteis no estudo da diferenciação de células mesenquimais visando a formação de tecido ósseo, uma vez que esses resultados poderão ser utilizados posteriormente como estímulos mecânicos nas simulações de osteogênese.

Vale ressaltar que esse resultado ainda é preliminar, uma vez que o modelo de elementos finitos desenvolvido no *software* Altair Hypermesh® será aperfeiçoado em termos de propriedades mecânicas dos esferóides teciduais, incluindo um modelo viscoelástico, e em termos de condições de contorno, buscando mimetizar de forma mais precisa os estímulos que os esferóides estão submetidos, para posterior integração com o *software* de modelagem computacional biológica (CompuCell 3D®) e para tornar possível uma futura validação em laboratório.

5. Agradecimentos

Agradeço primeiramente ao CNPQ/PIBIC e sua comissão gestora pela bolsa de iniciação científica que permitiu a realização desse projeto, ao meu orientador pela contribuição para os estudos realizados, a toda equipe do NT3D/CTI Renato Archer pelo ambiente de trabalho, que é muito prazeroso e enriquecedor, e as minhas coorientadores, Julia Adami Nogueira e Bruna Maria Manzini pelo direcionamento do projeto e esclarecimento das dúvidas.

6. Referências

- [1] HIRASHIMA, T.; RENS, E. G.; MERKS, R. M. H. Cellular Potts modeling of complex multicellular behaviors in tissue morphogenesis. **Development Growth and Differentiation**, v. 59, n. 5, p. 329–339, 2017.
- [2] RIEGER, R.; AUREGAN, J. C.; HOC, T. Micro-finite-element method to assess elastic properties of trabecular bone at micro- and macroscopic level. **Morphologie**, v. 102, n. 336, p. 12–20, 2018.
- [3] REGINATO, V. F. et al. Characterization of residual stresses in veneering ceramics for prostheses with zirconia framework. **Brazilian Dental Journal**, v. 29, n. 4, p. 347–353, 2018.
- [4] GOMES, R. S. et al. The substitution of the implant and abutment for their analogs in mechanical studies: In vitro and in silico analysis. **Materials Science and Engineering C**, v. 75, p. 50–54, 2017.
- [5] FENG, Y. Create the Individualized Digital Twin for Noninvasive Precise Pulmonary Healthcare. **Significances of Bioengineering & Biosciences**, v. 1, n. 2, p. 26–30, 2018.
- [6] MORONI, L. et al. Biofabrication: A Guide to Technology and Terminology. **Trends in Biotechnology**, v. 36, n. 4, p. 384–402, 2018a.
- [7] GROLL, J. et al. Biofabrication: Reappraising the definition of an evolving field. **Biofabrication**, v. 8, n. 1, 2016.
- [8] RAVNIC, D. J.; LEBERFINGER, A. N.; OZBOLAT, I. T. Bioprinting and Cellular Therapies for Type 1 Diabetes. **Trends in Biotechnology**, v. 35, n. 11, p. 1025–1034, 2017.
- [9] MORONI, L. et al. Biofabrication strategies for 3D in vitro models and regenerative medicine. **Nature Reviews Materials**, v. 3, n. 5, p. 21–37, 2018b.
- [10] RYU, N.-E.; LEE, S.-H.; PARK, H. Spheroid Culture System Methods and Applications for Mesenchymal Stem Cells. **Cells**, v. 8, n. 12, p. 1620, 2019.

- [11] HONG, N. et al. 3D bioprinting and its in vivo applications. **Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials**, v. 106, n. 1, p. 444–459, 2018.
- [12] ZIENKIEWICZ, O. C.; TAYLOR, R. L. The Finite Element Method: Its Basis and Fundamentals. **Elsevier Butterworth-Heinemann**, v. 6, 2005.
- [13] TSAI, A.-C. et al. Compaction, Fusion, and Functional Activation of Three-Dimensional Human Mesenchymal Stem Cell Aggregate. **Tissue Engineering Part A**, v. 21, n. 9–10, p. 1705–1719, maio 2015.
- [14] MURPHY, K. C. et al. Measurement of oxygen tension within mesenchymal stem cell spheroids. **Journal of the Royal Society Interface**, v. 14, n. 127, 2017.
- [15] TAN, S. C. W. et al. Viscoelastic behaviour of human mesenchymal stem cells. **BMC Cell Biology**, v. 9, p. 5–11, 2008.