

Impressão tridimensional em Cirurgia Plástica Reconstructiva e Maxilofacial

Ana Sofia Marques Dias dos Santos

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Medicina
(mestrado integrado)

Orientador: Doutor Nelson Fernando Gavina Teixeira
Co-orientador: Doutor Rui Tiago Fonseca Rainho

Fevereiro de 2024

Folha em branco

Declaração de Integridade

Eu, Ana Sofia Marques Dias dos Santos, que abaixo assino, estudante com o número de inscrição 41980 de Medicina da Faculdade de Ciências da Saúde, declaro ter desenvolvido o presente trabalho e elaborado o presente texto em total consonância com o **Código de Integridades da Universidade da Beira Interior**.

Mais concretamente afirmo não ter incorrido em qualquer das variedades de Fraude Académica, e que aqui declaro conhecer, que em particular atendi à exigida referenciação de frases, extratos, imagens e outras formas de trabalho intelectual, e assumindo assim na íntegra as responsabilidades da autoria.

Universidade da Beira Interior, Covilhã 21 /02 /2024

A handwritten signature in black ink that reads "Ana Sofia Santos". The signature is written in a cursive, flowing style.

(assinatura conforme Cartão de Cidadão ou preferencialmente
assinatura digital no documento original se naquele mesmo formato)

Folha em branco

Agradecimentos

Aos meus pais, Jorge e Margarida, que me acompanharam incansavelmente ao longo destes anos sem nunca duvidarem de mim e por me permitirem continuar a formação e educação que não lhes foi possível. À minha mãe, pelo apoio incondicional, exemplar de persistência, resiliência e luta, por acreditar em mim todos os dias e por estar sempre presente.

Ao meu irmão, Pedro por ser um exemplo a seguir e por me fazer querer ir sempre mais longe.

Um agradecimento especial ao meu orientador, Doutor Nelson Fernando Gavina Teixeira, e co-orientador, Doutor Rui Tiago Fonseca Rainho, por terem aceite os desafios e pela orientação, disponibilidade, paciência e apoio perante a realização desta dissertação.

Aos meus amigos da Covilhã que ajudaram a levar todos estes anos de forma mais leve e alegre, por todos os momentos e memórias que proporcionaram e por todo o apoio dado. Sem vocês seria tudo mais difícil.

Folha em branco

Resumo

A cirurgia plástica e reconstructiva é uma especialidade cirúrgica dedicada à restauração da forma, função e aparência de partes do corpo afetadas por lesões traumáticas, defeitos congénitos e doenças ou intervenções cirúrgicas anteriores. Através de diversas técnicas e cirurgias de transporte de tecidos ou órgãos, é possível reconstruir estruturas humanas, como pele, músculos e ossos, melhorando não só a qualidade de vida, como também a autoestima dos pacientes.

Destacando-se neste contexto, a cirurgia maxilofacial desempenha um papel fundamental na correção de deformidades craniofaciais com impacto funcional e estético significativo após traumas, tumores ou anomalias congénitas. Estas intervenções apresentam também especial impacto psicológico e emocional nos indivíduos afetados.

A reconstrução tecidual é um desafio complexo. Opções atuais enfrentam desafios relacionados à morbidade do doador, disponibilidade limitada de material e complexidade do procedimento.

Neste cenário, surge a bioimpressão tridimensional como técnica promissora de engenharia tecidual. Esta tecnologia permite a personalização completa da engenharia tecidual, criando tecidos ou órgãos com a mesma forma e estrutura da anatomia do próprio paciente. A utilização de biomateriais, células e material genético do próprio reduz o risco de rejeição aguda e facilita a integração a longo prazo do produto final no organismo.

Apesar da bioimpressão tridimensional ainda se encontrar numa fase inicial, usada predominantemente para fins de pesquisa, o seu potencial de evoluir para a produção de tecidos heterogéneos para uso clínico é considerável. O principal objetivo desta monografia centra-se na realização de uma revisão da literatura científica dos últimos anos, focada na aplicação da bioimpressão tridimensional na cirurgia plástica reconstructiva, com especial ênfase na cirurgia maxilofacial. A análise abrange os materiais utilizados, as aplicações possíveis e os desafios e vantagens apresentadas por esta tecnologia.

Palavras-chave

“Bioimpressão tridimensional”; “Impressão tridimensional”; “cirurgia reconstructiva”; “cirurgia maxilofacial”

Folha em branco

Abstract

Plastic and reconstructive surgery is a surgical specialty dedicated to restoring the form, function and appearance of parts of the body affected by traumatic injuries, congenital defects, diseases or previous surgical interventions. Through various techniques and surgeries to transport tissues or organs, it is possible to reconstruct human structures such as skin, muscles and bones, improving not only quality of life but also the patients' self-esteem.

Standing out this context, maxillofacial surgery plays a fundamental role in correcting craniofacial deformities with a significant functional and aesthetic impact following trauma, tumors or congenital anomalies. These interventions also have a special psychological and emotional impact on the individuals affected.

Tissue reconstruction is a complex challenge. Current options face challenges related to donor morbidity, limited material availability and procedure complexity.

In this scenario, three-dimensional bioprinting emerges as a promising tissue engineering technique. This technology allows for complete customization of tissue engineering, creating tissues or organs with the same shape and structure as the patient's own anatomy. The use of the patient's own genetic material, biomaterials and cells reduces the risk of acute rejection and facilitates the long-term integration of the organ into the body.

Although three-dimensional bioprinting is still at an early stage, predominantly used for research, its potential for evolution into the production of heterogeneous tissues is considerable. The main aim of this monograph focuses on conducting a literature review of recent years, with focus on the application of three-dimensional bioprinting in reconstructive plastic surgery, with special emphasis on maxillofacial surgery. The analysis covers the materials used, the possible applications and the challenges and advantages presented by this technology.

Key words

“Three-dimensional bioprinting”; “Three-dimensional printing”; “reconstructive surgery”; “maxillofacial surgery”

Folha em branco

Índice

Agradecimentos	v
Resumo	vii
Palavras-chave	vii
Abstract	ix
Key words	ix
Índice	xi
Lista de Figuras	xiii
Lista de Tabelas	xv
Lista de acrónimos	xvii
1. Introdução	1
2. Objetivos	3
3. Metodologia	5
4. Cirurgia plástica e reconstructiva	7
5. Impressão Tridimensional	11
5.1. Materiais	11
5.2. Planeamento Cirúrgico	25
5.3. Da impressão tridimensional à bioimpressão tridimensional	26
6. Bioimpressão Tridimensional	27
6.1 Conceito	28
6.2. Método	28
6.2.1. Impressão direta.....	31
6.2.2 Impressão por resistência	33
6.2.3. Critérios de seleção do método	35
6.3. Aplicações	36
6.3.1. Reconstrução esquelética	36
6.3.2. Revestimento cutâneo de feridas e queimaduras	37
6.3.3 Rede Vasculuar e Endotelial	38

6.4. Aplicações e vantagens	39
6.5. Limites	40
6.6. Perspetivas futuras	41
7. Conclusão	43
8. Referências Bibliográficas	45

Lista de Figuras

Figura 1: Estrutura óssea de PCL com material de enxerto ósseo fresado parcialmente aplicado.....	18
Figura 2: Colocação de Integra com pasta de anfotericina no dorso do pé após desbridamento de infecção fúngica invasiva.....	19
Figura 3: Planeamento pré-cirúrgico com modelos 3D.....	19
Figura 4: Uso intraoperatório de materiais de osteossíntese previamente selecionados e moldados no processo pré-cirúrgico.....	20
Figura 5: Guia híbrida.....	20
Figura 6: Guia de titânio.....	20
Figura 7: Guia de nylon.....	21
Figura 8: Fotopolímero.....	21
Figura 9: Implante auricular de polietileno para criança de 7 anos.....	21
Figura 10: Implante Radel polifenilsulfona.....	22
Figura 11: Colocação de implante PEEK específico de paciente.....	22
Figura 12: Métodos de bioimpressão.....	34

Folha em branco

Lista de Tabelas

Tabela 1: Materiais Biocompatíveis utilizados em engenharia tecidual.....23

Folha em branco

Lista de acrónimos

3D	Tridimensional
CAD/CAM	Sistema de Design e Fabrico Computadorizado
CaP	Fosfato de cálcio
CaS	Sulfato de cálcio
DMD	Dispositivo de Microespelhos Digital
ECM	Matriz Extracelular
ESCs	Células estaminais embrionárias
HA	Ácido hialurônico
iPSCs	Células estaminais pluripotentes induzidas
MSCs	Células estaminais mesenquimais
ORIF	Redução aberta com fixação interna
PAAm	Poliacrilamida
PCL	Poli-caprolactona
PPSU	Polifenilsulfona
RGD	Arginina-glicina-ácido aspártico
RM	Ressonância Magnética
STL	Estereolitográfico
TC	Tomografia Computadorizada
TCP	Fosfato tricálcico
VSP	Planeamento Cirúrgico Virtual

Folha em branco

1. Introdução

A cirurgia plástica e reconstrutiva é a especialidade cirúrgica que visa restaurar a forma, função e aparência de uma parte do corpo afetada por lesões traumáticas, defeitos congênitos, doenças ou intervenções cirúrgicas anteriores. Com recurso a diferentes técnicas e cirurgia de transporte de tecidos ou órgãos, é possível reconstruir estruturas humanas, como pele, músculos e ossos, de maneira a melhorar não apenas a qualidade de vida, como também a autoestima dos pacientes. No entanto, problemas de infeção, dor e deformidade na região dadora são fatores limitantes e que levam à continua procura de soluções reconstrutivas. (1)

A cirurgia maxilofacial assume uma posição de destaque no âmbito da cirurgia plástica reconstrutiva dada a sua prevalência na correção de deformidades craniofaciais com elevado impacto funcional e estético após traumas, tumores ou anomalias congénitas, e significativo impacto psicológico e emocional nos indivíduos afetados. (2,3) A abordagem conjunta de reconstrução de tecidos moles e ósseos é frequentemente adotada para garantir resultados abrangentes. (2)

A reconstrução tecidular é um desafio complexo. Opções de tratamento atuais para reconstrução de órgãos e tecidos caem sobre a obtenção de tecido do próprio, do transplante de tecido cadáver, com recurso a xenoenxertos, aloenxertos, osso autólogo e retalhos ósseos vascularizados. (4,5)

A reparação de tecidos compostos engloba elementos diversos, com objetivos variados. Alcançar estabilidade não é suficiente, já que o crescimento futuro e o risco de sobrecorreção são variáveis a ser consideradas. (5,6) Apesar das vantagens dos enxertos ósseos autólogos, a escassez de dadores e a imunossupressão podem criar riscos persistentes. Assim, este ramo enfrenta desafios relacionados à morbidade do dador, disponibilidade limitada de material, complexidade de procedimento e necessidade de esculpir manualmente enxertos para a adaptação anatomicamente correta ao defeito. (4,7–9) Estes limites levantam a questão sobre a possibilidade de existirem novas abordagens que superem os desafios das técnicas existentes e apoiam a necessidade de obtenção de novos substitutos biológicos. (4)

Surge assim a ideia da impressão 3D e a sua crescente utilidade neste ramo da medicina. (9) Desde a criação de modelos 3D para treino e planeamento cirúrgico, à produção de implantes e próteses personalizadas, a sua implementação bem-sucedida tem o potencial de não apenas auxiliar no diagnóstico como também de ajudar na educação do paciente. (10–12)

Nasce então, da impressão tridimensional, a bioimpressão tridimensional, prometendo a personalização total da engenharia tecidual: criar tecidos ou órgãos, de forma e estrutura igual à anatomia do próprio paciente, com recurso a biomateriais, células e material genético deste, contornando assim o risco de rejeição aguda e facilitando a integração a longo prazo do órgão no recipiente. O intuito baseia-se, então, na criação de um órgão que seja verdadeiramente do paciente. (7,8,13)

Esta técnica tem aplicação multifacetada no setor da saúde, no entanto, ainda se encontra na sua infância devido à sua capacidade de produzir apenas tecido homogéneo simples. Posto isto, é atualmente usada maioritariamente em pesquisa em detrimento da aplicação clínica. No entanto, é grande o potencial de evolução para a futura produção de tecidos heterogéneos. (13–15)

2. Objetivos

O objetivo principal desta monografia é realizar uma revisão da literatura científica, publicada nos últimos anos, sobre a utilização da tecnologia de bioimpressão tridimensional e de impressão tridimensional na cirurgia plástica reconstructiva, com especial foco na cirurgia maxilofacial. Desta forma, procurou-se perceber quais os materiais usados, as aplicações possíveis destas tecnologias no âmbito da cirurgia plástica reconstructiva e maxilofacial e quais as vantagens e desafios apresentados pelas mesmas.

Folha em branco

3. Metodologia

Para a realização desta dissertação foi feita uma revisão da literatura referente ao tema em questão, recorrendo à plataforma PubMed e Google Scholar. A pesquisa foi efetuada entre fevereiro de 2023 e agosto de 2023 e foram usadas as seguintes palavras-chave (e respectivas associações): “three-dimensional bio-printing”, “three-dimensional printing”, “reconstructive surgery” e “maxilofacial surgery”. Os artigos foram selecionados tendo em conta a pertinência do seu conteúdo, a data da sua publicação (apenas foram incluídos artigos desde o ano de 2011, com exceção de dois artigos que datam 2005 e 2006, de modo a abranger conhecimentos mais recentes) e os que são redigidos em inglês.

Folha em branco

4. Cirurgia plástica e reconstructiva

Atualmente, a cirurgia plástica e reconstructiva emprega uma variedade de métodos para restaurar a função e a estética do corpo humano. Enxertos autólogos, aloenxertos e xenoenxertos representam abordagens fundamentais, envolvendo a transferência de tecidos do próprio paciente, de doadores da mesma espécie, ou de espécies diferentes. Na reconstrução, os retalhos desempenham um papel vital, podendo ser locais, regionais ou distantes, dependendo da extensão do defeito. A escolha entre estas técnicas é guiada pela natureza do caso e dos objetivos específicos, destacando-se a importância da experiência cirúrgica e a compreensão profunda das características individuais do paciente.

Aloenxertos são tecidos ou órgãos provenientes de um indivíduo utilizados para transplantar num outro indivíduo, da mesma espécie. O uso de tecido de cadáver permite usar tecidos provenientes de doadores falecidos. Podem incluir diversos tipos de tecido, como pele, osso, tendões, válvulas cardíacas, entre outros. Ao contrário do que acontece com os enxertos autólogos (obtidos do próprio paciente), os aloenxertos podem apresentar riscos adicionais de reações imunológicas e transmissão de doenças. Para minimizar estes riscos é crucial que os tecidos provenientes dos doadores passem por rigorosos processos de triagem, testes e preparação para garantir a segurança adequada para o paciente que os vai receber. (4)

Xenoenxertos referem-se a enxertos de tecidos ou órgãos transplantados de uma espécie para outra, ou seja, de animais para humanos. Têm sido explorados como possível solução para a escassez de órgãos para transplante, visto que a exigência por órgãos humanos excede frequentemente a oferta disponível. Não obstante, os xenoenxertos apresentam também desafios relacionados com a rejeição imunológica, acrescentando o risco de infeção por transmissão de vírus e outras infeções provenientes dos animais doadores, as diferenças entre espécies em termos de anatomia e fisiologia que criam barreiras anatomofisiológicas para a adaptação dos tecidos transplantados, para além de levantarem ainda questões éticas e de segurança significativas. (4)

Os retalhos consistem em tecidos ou órgãos transplantados ou movidos de uma parte do corpo do próprio, para outra. Esta técnica é frequentemente usada na cirurgia plástica reconstructiva para corrigir defeitos de tecidos. Existem diferentes tipos de retalhos, cada um com as suas características específicas:

- Retalhos de rotação, são movidos de uma área adjacente ao defeito. Pode recorrer-se à rotação do tecido em torno do eixo vascular, preservando desta forma o suprimento sanguíneo original.
- Retalhos pediculados, mantêm uma base vascular intacta enquanto são movidos para cobrir o defeito. Podem ser usados para cobrir áreas de maior dimensão.
- Retalhos livres, em que são completamente separados da área dadora e são de seguida transferidos para a área recetora com a reconexão microcirúrgica dos vasos sanguíneos. Esta técnica permite a cobertura de defeitos extensos.

A escolha de que tipo de retalho usar depende da localização e extensão do defeito, das características do paciente e da preferência do cirurgião. A sua principal finalidade reside no fornecimento de tecido vascularizado para a área a reconstruir, promovendo a cicatrização adequada e minimizando o risco de complicações. (16)

Apesar de os xenoenxertos e aloenxertos exigirem processos adicionais para reduzir a imunorreacção e o risco de infeção, carecem de viabilidade celular e biocompatibilidade quando comparados ao enxerto autólogo. No entanto, a limitação da disponibilidade de material e a sequela da região dadora para a obtenção do enxerto restringem a aplicação generalizada do autólogo, apesar das suas excelentes propriedades de compatibilidade. (5)

No campo da reconstrução mandibular, lesões patológicas, traumas e infeções, são as principais causas de defeitos mandibulares que requerem recessão parcial e reconstrução óssea. Placas de titânio são utilizadas para reconstruções temporárias, enquanto retalhos ósseos vascularizados são comuns para reconstruções mais precisas. (17)

O osso é um tecido dinâmico e vascularizado que se consegue cicatrizar a ele próprio e remodelar sem deixar cicatriz, mas, em casos de defeitos ósseos de tamanho crítico, a substituição óssea ou intervenção cirúrgica torna-se, muitas vezes, necessária. (13) No entanto, o fornecimento limitado de retalhos ósseos vascularizados, com longos períodos de espera para correspondência de enxertos, resulta em danos significativos às superfícies articulares adjacentes e ao ambiente global da articulação, além de causar dor, sofrimento e perda de tempo laboral e, conseqüentemente, salarial. (18)

No caso de defeitos mandibulares de grande dimensão, superiores a 6 cm de perda segmentar total, a utilização de retalhos ósseos vascularizados torna-se essencial para uma reconstrução adequada. Além disso, defeitos de grandes dimensões geralmente envolvem perda ou retração dos tecidos moles envolventes, como pele, mucosa oral e músculo, exigindo abordagens de reconstrução de tecido composto. Até à atualidade, o retalho livre ósteocutâneo-vascularizado de perónio tem sido considerado como o gold standard para a reconstrução de tecido mandibular devido às suas propriedades osteoindutivas e

osteocondutivas, força mecânica, potencial para crescimento contínuo, biocompatibilidade e baixo risco de falência, apesar das suas limitações no que toca à morbidade do dador. (3,5,8,19)

Em todos os procedimentos da cirurgia plástica e reconstructiva, a vascularização representa um dos obstáculos primordiais. Desempenha um papel crucial ao garantir a nutrição e oxigenação adequadas para as células dos tecidos transplantados. A ausência de um suprimento sanguíneo eficaz pode resultar na privação desses elementos vitais, levando à morte celular e, conseqüentemente, ao insucesso do enxerto.

A sobrevivência e a integração bem-sucedida de enxertos e implantes dependem da rápida formação de uma rede vascular funcional. Essa rede facilita a conexão eficiente com os vasos sanguíneos do hospedeiro, promovendo a viabilidade do tecido transplantado.

Em procedimentos de reconstrução, onde grandes volumes de tecido são transferidos, a falta de vascularização adequada pode levar à necrose dos tecidos periféricos do enxerto. A função dos tecidos transplantados, como músculos, pele ou órgãos, está intrinsecamente ligada à presença de uma rede vascular funcional. A ausência desta rede pode comprometer a função e a estética desejadas, levando a uma textura irregular ou coloração anormal dos tecidos.

Além disso, a presença de uma rede vascular bem estabelecida contribui para acelerar o tempo de cicatrização e recuperação pós-cirúrgica. A sua ausência pode prolongar significativamente o processo de cicatrização, aumentando o risco de complicações.

A impressão tridimensional surge, portanto, como uma alternativa promissora para superar as limitações das técnicas tradicionais da cirurgia plástica e reconstructiva. (3,5,19)

Folha em branco

5. Impressão Tridimensional

5.1. Materiais

Materiais naturais, sintéticos ou híbridos são alternativas viáveis aos enxertos autólogos tradicionais. (14)

O uso de materiais para regeneração tecidual é promissor, no entanto, estes materiais necessitam de cumprir características específicas para alcançar a regeneração viável do tecido. Biocompatibilidade, porosidade, morfologia, interconectividade e biodegradabilidade são algumas das características mecânicas específicas que influenciam o crescimento e o manuseamento adequado do produto final e que se devem equiparar ao máximo aos tecidos reais do corpo. (8,20)

A investigação de vários tipos de materiais, incluindo polímeros, cerâmicas, bioplásticos sintéticos ou naturais, proteínas, biomoléculas, células vivas e fatores de crescimento, para o desenvolvimento de matrizes avançadas na impressão tridimensional é contínua e está em constante evolução. (21)

Atualmente, os biomateriais abrangem uma diversidade de substâncias, desde hidrogéis delicados e estáveis para as células até inserções sólidas de metal, metal sólido ou argila, incluindo termoplásticos e metais. Devido às suas notáveis propriedades mecânicas, esses materiais têm sido amplamente empregados no campo da bioimpressão como elementos de suporte para o desenvolvimento de estruturas orgânicas, frequentemente impressos antes da expansão das partes naturais. Um exemplo é a poli-caprolactona (PCL – fig. 1), uma substância polimérica avançada comumente usada na construção de estruturas de bioimpressão. A PCL, um poliéster biodegradável, é frequentemente escolhida devido à sua capacidade de se decompor no corpo ao longo do tempo, para além de ter uma temperatura de dissolução relativamente baixa de 60°C. Embora seja utilizada em dispositivos e construções de longa duração, a sua permissividade ambígua às células, devido ao conteúdo hidrofóbico, resulta numa falta de locais de agrupamento de péptidos que orientariam claramente as células, influenciando assim o tecido. Para superar esta limitação, a PCL é frequentemente combinada com outros materiais funcionais, como hidrogéis, que oferecem locais de ligação, resultando em estruturas híbridas mais complexas. (22)

Os hidrogéis desempenham um papel essencial, proporcionando um substrato biocompatível que pode ser modulado para atender às necessidades específicas de tecidos de menor rigidez. Estes hidrogéis, compostos por cadeias poliméricas ou péptidos, são

quimicamente combinados ou derivados de fontes naturais e ligados por uma rede macromolecular. Enquanto os polímeros geralmente são hidrofílicos na sua concepção, formando hidrogéis quando a cadeia polimérica incha com o calor, os hidrogéis podem preservar uma variedade versátil de valores de módulo, regulados cientificamente pela espessura da reticulação e concentração do polímero. Isto reflete o módulo flexível de tecidos mais delicados do corpo, excetuando tecidos mais rígidos, como ossos e dentes. (22)

Os polímeros fabricados oferecem controlo preciso sobre suas propriedades sintéticas e físicas, permitindo controlo exato do peso molecular, coleções funcionais e hidrofobicidade/hidrofiliabilidade. Exemplos incluem o polietileno glicol e a poliacrilamida (PAAm). (22)

O colágeno, o material mais comumente usado em aplicações de cultura de células e tecidos, destaca-se por ser o fator da matriz extracelular (ECM) mais abundante na maioria dos tecidos. Utilizando colágeno tipo I, materiais de superfície e géis são fabricados para revestir superfícies e condições de cultura celular. Os filamentos de colágeno contêm aminoácidos como arginina-glicina-ácido aspártico (RGD), que proporcionam padrões que favorecem a replicação e multiplicação celular através da integrina-RGD autoritária. Apesar dos avanços orgânicos significativos proporcionados pelas estruturas de colágeno, grelhas 100% colágeno podem não ser as ideais. (22)

O ácido hialurônico (HA), um glicosaminoglicano hidrofílico não sulfatado, consiste em grupos dissacáridos de recuperação. Demonstra uma aplicação promissora na medicina regenerativa. A HA não modificado é já atualmente empregue em procedimentos médicos, como terapia para articulações danificadas e artrite. No entanto, a modificação da mistura em HA melhora sua utilidade, fornecendo um biomaterial versátil que pode ser interligado através de um hidrogel ou combinado com outros fatores bioativos. Hidrogéis de HA, formados por modificações com feixes de metacrilato ligados às cadeias de HA, têm sido utilizados em diversas aplicações, incluindo na cicatrização de lesões cutâneas e corneanas, assim como na bioimpressão para construção de modelos vasculares. (22)

A gelatina, uma mistura de estruturas peptídicas à base de colágeno, pode ser decomposta em arranjos fluidos neutros de pH, mantendo a capacidade de formar géis quando reticulada hidrofobicamente a baixas temperaturas. No entanto, a gelatina requer ajustes adicionais, métodos de reticulação seletivos ou mistura com outras proteínas ou polímeros para ter uma boa execução em estruturas vivas. A gelatina-fibrinogênio reticulada com glutaraldeído foi utilizada para estabelecer redes dérmicas in vitro, indicando qualidades essenciais na reparação de feridas. (22)

O alginato, um polissacárido natural proveniente de algas marinhas, é frequentemente utilizado em aplicações medicinais regenerativas devido à sua rápida capacidade de formar hidrogéis através de uma troca iônica de partículas de sódio-cálcio. (22)

A reconstrução craniofacial e mandibular é uma área em constante evolução, impulsionada pela necessidade de tratar defeitos ósseos causados por diversos fatores, sobretudo pós-traumas. Para garantir o sucesso da reconstrução óssea, é essencial utilizar materiais que sejam biocompatíveis, imprimíveis, condutores e indutores ósseos, que sejam resistentes a infecção, forneçam suporte mecânico adequado e que orientem o crescimento celular e a vascularização. Uma combinação entre força mecânica, resiliência e biocompatibilidade é essencial para o sucesso de uma reconstrução. Materiais como biocerâmicas, hidrogéis, polímeros e os seus compostos têm mostrado sucesso como matrizes craniofaciais, proporcionando propriedades mecânicas semelhantes às dos ossos e cartilagens craniofaciais. (5,14,22,23)

Substitutos sintéticos comuns para enxertos ósseos incluem fosfato de cálcio (CaP) e compostos de sulfato de cálcio (CaS). As cerâmicas e cimentos de CaP, sendo osteocondutores, promovem a formação óssea ao atuarem como matriz para células osteogênicas formarem novo osso. Apesar de sua fragilidade e baixa resistência à tração, oferecem suporte estrutural e, principalmente, resistência à compressão. O fosfato tricálcico (TCP) é um composto de CaP comumente utilizado, apresentando uma estrutura semelhante à do osso trabecular humano. (24)

Os compostos de sulfato de cálcio (CaS) representam uma alternativa totalmente reabsorvível para enxertos ósseos osteocondutores. Disponíveis na forma de cimento e pastilhas, estes materiais têm a capacidade de se dissolver in vivo em 30-60 dias, à medida que os osteoblastos se fixam ao enxerto. Demonstraram eficácia no preenchimento de defeitos pós-traumáticos e defeitos ósseos metafisários após reduções de fraturas. No entanto, não são recomendados em situações que exijam suporte estrutural. O CaS injetável mostrou-se seguro e eficaz no tratamento de fraturas do planalto tibial e fraturas do calcâneo durante a ORIF (redução aberta com fixação interna), embora esteja associado a complicações persistentes de drenagem serosa da ferida devido à resposta inflamatória à reabsorção do composto de CaS. (24)

As limitações na engenharia tecidual podem ser agrupadas em três categorias: material, fabrico e vascularização. A seleção adequada de materiais é crucial e depende das propriedades desejadas. (14)

Cerâmicas tridimensionalmente impressas promovem a osteogênese e criam um ambiente bioativo para a proliferação celular. Polímeros são a escolha preferida devido à maior

capacidade de impressão, mas carecem de interação celular adequada. Hidrogéis apresentam desafios na otimização da concentração de polímero para equilibrar propriedades mecânicas e proliferação celular. (14)

Quando falamos das tintas usadas na impressão 3D em particular, os termos "tintas biológicas" e "tintas biomateriais" são frequentemente utilizados de forma intercambiável, no entanto, a sua distinção reside no componente celular. Uma tinta biológica é caracterizada pelo seu arranjo tridimensional sobre ou dentro de hidrogéis. Em contrapartida, o termo "tinta biomaterial" é aplicado aos precursores de hidrogéis ou formulações aquosas de polímeros que podem conter fatores biológicos, e são utilizados para uma subsequente sementeira de células ou para estudos in vivo. (4)

As tintas biológicas podem ser classificadas em quatro categorias distintas, cada uma desempenhando funções específicas. As tintas biológicas estruturais proporcionam suporte à adesão, proliferação e diferenciação celular, replicando a matriz extracelular durante a multiplicação celular e preservando a integridade mecânica da estrutura. Por outro lado, as tintas de sacrifício são materiais temporários removíveis, que criam espaços vazios ou canais internos nas estruturas 3D impressas. As tintas de suporte consistem em materiais não biológicos com boa resistência mecânica, destinados a resistir a cargas e a oferecer suporte mecânico a materiais mais moles ou a estruturas complexas durante o processo de impressão. As tintas funcionais emitem sinais mecânicos, bioquímicos e elétricos para influenciar o comportamento celular após a impressão. No fundo, tintas de sacrifício e de suporte são, tecnicamente, tintas biomateriais em vez de tintas biológicas. (4)

A funcionalidade do tecido ou órgão resultante da impressão 3D depende crucialmente das propriedades reológicas, mecânicas e biológicas da tinta biológica. A compreensão destas diferentes classes de tintas biológicas é essencial para o desenvolvimento contínuo e refinamento da impressão tridimensional, contribuindo para avanços significativos na engenharia de tecidos e medicina regenerativa. (4)

A transição de tecidos impressos tridimensionalmente, mecanicamente fracos, para tecido cirúrgico- e clinicamente relevante é um passo crucial no processo de pós-impressão. Isto pode ser alcançado tanto in vitro, ao longo de alguns meses, como in vivo por meio da implantação do tecido. (8,11)

A bioimpressão 3D tem sido amplamente explorada na criação de tecido cutâneo, visando melhorar a recuperação e o crescimento da pele. No entanto, apesar dos avanços, alguns desafios persistem. A pele, sendo um tecido complexo com várias células e estruturas funcionais, apresenta limitações, incluindo a restrição da espessura devido à falta de vascularização essencial para o fornecimento de nutrientes e oxigênio às células.

Adicionalmente, questões como morbidade do paciente, baixa aderência ao tecido circundante e altos custos de fabrico precisam de ser superadas. (25)

Os substitutos de pele desempenham um papel crucial, cobrindo feridas temporariamente para evitar desidratação e manter a humidade, facilitando assim o processo de cicatrização. Alguns desses substitutos estimulam o hospedeiro a produzir citocinas e fatores de crescimento, promovendo a recuperação das feridas. Entre eles, a membrana bilaminada, composta por malha de nylon revestida com péptidos derivados de colágeno porcino tipo I, destaca-se, assim como o silicone semipermeável. (25)

Produtos como Transcyte e Apligraf incorporam fibroblastos e queratinócitos alogénicos neonatais, proporcionando uma abordagem composta e sofisticada, particularmente eficaz no tratamento de úlceras crónicas. O Dermagraft, uma estrutura dérmica viva criopreservada, estimula a cicatrização de lesões crónicas, como úlceras do pé diabético, através do crescimento de tecido fibrovascular. Além disso, a Aloderm, feita a partir de pele de cadáver humano, age como enxerto dérmico, atuando como modelo para regeneração dérmica. O Integra (fig. 2), um substituto de pele sintético, é amplamente aceite em queimaduras, apresentando uma estrutura bilaminar de colágeno bovino reticulado e glicosaminoglicanos com membrana de silicone. (25)

As culturas de queratinócitos são uma prática estabelecida há mais de 20 anos, com sistemas inovadores, como suspensões e folhas de cola de fibrina, buscando otimizar a aplicação de queratinócitos autólogos em cultura. Estes avanços, embora promissores, ressaltam a importância contínua da pesquisa para superar desafios e aprimorar a eficácia destes métodos na regeneração e substituição de tecidos cutâneos. (25)

Nos últimos 10 anos, a impressão tridimensional tem vindo a ser amplamente utilizada na fabricação de próteses faciais, incluindo narizes, orelhas, olhos e faces prostéticas. Esta abordagem tem demonstrado resultados superiores tanto em termos estéticos como funcionais, quando comparada com próteses tradicionais. (17,26,27)

Também a relação profissional-paciente pode ser simplificada de forma notável com a aplicação da impressão tridimensional. Antes mesmo do procedimento cirúrgico, modelos tridimensionais precisos podem ser criados a partir da anatomia específica do paciente. Isto permite que o cirurgião apresente visualmente ao paciente como será o resultado esperado após a cirurgia, personalizando a abordagem de acordo com as características únicas de cada paciente. Estes modelos não só aumentam a confiança do paciente, como também reduzem a incerteza, garantindo um consentimento informado mais sólido. (9,17,19,26–33)

A tecnologia de impressão tridimensional oferece uma precisão extraordinária na criação de modelos anatómicos. Estes modelos são capazes de capturar detalhes minuciosos,

incluindo vasos sanguíneos, nervos e tecidos circundantes, o que os torna particularmente relevantes na cirurgia plástica reconstructiva, onde a restauração da forma e função é fundamental. A partir dos ditos modelos, os cirurgiões podem explorar diferentes abordagens cirúrgicas, antecipando desafios e otimizando o plano cirúrgico para obter os melhores resultados possíveis. (fig. 3 e fig. 4) (17)

Durante o procedimento cirúrgico, a impressão tridimensional continua a desempenhar um papel crucial. Os modelos tridimensionais, criados com precisão a partir dos dados do paciente, podem servir como ferramentas de navegação em tempo real. Os cirurgiões podem utilizá-los para guiar a disseção, a reconstituição de tecidos e a colocação de implantes. Esta assistência durante a cirurgia aumenta a precisão e a eficiência do procedimento, minimizando o risco de complicações e a necessidade de correções futuras. (9,17,19,26,31,32)

A utilização desta técnica não só aprimora a precisão, como também pode reduzir significativamente o tempo cirúrgico. Isto beneficia o paciente reduzindo a exposição a anestesia e a cirurgia prolongada, para além de otimizar também a utilização de recursos hospitalares. (3,9,27,34,35)

A impressão tridimensional tem revolucionado a reconstrução craniomaxilofacial, oferecendo quatro categorias principais de uso que redefinem a precisão e a eficácia dos procedimentos atuais. (3,12,17,27)

A utilização de modelos de contorno ocupa uma posição crucial de entre as ditas categorias. Ao reproduzir fielmente a anatomia óssea específica do paciente, tornam-se ferramentas indispensáveis para a criação de equipamentos feitos à medida. São exemplos as placas para reconstrução do pavimento da orbita e reconstruções mandibulares. (9) Deste modo conseguem garantir a simetria e a adaptação perfeita dos equipamentos ao espaço anatómico. (12)

Na reconstrução mandibular tradicional, as placas de osteossíntese são moldadas durante o tempo da cirurgia para se fazer o ajuste ao contorno ósseo do paciente. Esta técnica pode levar a problemas de sobremoldagem e falha de encaixe passivo, aumentando o risco de fraturas de fadiga. Uma solução promissora passa pelo uso de planeamento cirúrgico computadorizado e impressão tridimensional para criar guias de corte para enxertos e guias de molde para auxiliar quer as osteotomias quer a osteossíntese propriamente ditas, durante a intervenção cirúrgica. (5) As guias fazem uso do espaço ósseo do paciente para imprimir modelos específicos, projetados para encaixar precisamente em segmentos selecionados de osso durante a cirurgia. São particularmente populares na reconstrução mandibular, permitindo osteotomias precisas e o posicionamento adequado do maxilar,

reduzindo erros humanos. A disponibilidade do modelo permite a moldagem prévia das placas, que são posteriormente esterilizadas e fixadas no paciente e assegurar a orientação para cortes e furos mais precisos, tornando-se importantes aliados dos procedimentos. (5,7,9,12,17,26,34,36) Deste modo, elimina-se a necessidade de medições intraoperatórias e tecnologias de navegação em tempo real, proporcionando aos cirurgiões confiança na reprodução fiel do planejamento cirúrgico virtual (VSP) pré-operatório. (9,17,19,26,29–32)

As opções de guia VSP proporcionam flexibilidade de design, com perfis mais baixos para melhorar a visibilidade e o acesso cirúrgico, apresentando resistência e rigidez aprimoradas. (37)

As guias híbridas VSP (fig. 5), com registo oclusal preciso de nylon para uma colocação cuidadosa, combinam a resistência e a rigidez de guias de corte e a perfuração em titânio. Guias de titânio (fig. 6), 20 vezes mais fortes, possibilitam a personalização, maior visualização e perfil mais baixo, facilitando a colocação em áreas com exposição limitada. Por outro lado, as guias de nylon (fig. 7), 88% mais resistentes, oferecem suporte adicional às forças mecânicas, melhorando a visibilidade nas áreas de exposição limitada. (37)

O fotopolímero (fig. 8) oferece suporte às cirurgias pré-planeadas, auxiliando na marcação específica do paciente, posicionamento do implante e decisões de osteotomia no bloco operatório. (37)

Enquanto as guias são representação exata das estruturas reais do paciente, os moldes extrapolam essa ideia. São essencialmente réplicas das configurações pós-operatórias virtuais da estrutura do paciente. Proporcionam uma visão tangível do resultado desejado, permitindo a orientação e o planejamento adequado por parte dos cirurgiões. (12)

Implantes são objetos impressos tridimensionalmente concebidos para serem implantados diretamente no paciente. Podem ainda atuar como moldes para outros materiais, expandindo as suas possibilidades terapêuticas ao oferecer uma solução personalizada e consequentemente de encaixe perfeito. (12)

Atualmente, já se encontram disponíveis no mercado, implantes de diferentes materiais, incluindo MEDPOR (implante de polietileno poroso - fig. 9), PEEK (implante de polieterecetona) e titânio. A escolha destes materiais é adaptada à localização anatômica específica em causa e à preferência do cirurgião. Destacam-se as placas personalizadas, projetadas individualmente para se adequar a cada paciente.

O Radel PPSU (Polifenilsulfona) (fig. 10) é um material amorfo de grau médico utilizado em instrumentos, como espaçadores de implantes experimentais em artrodeses da coluna vertebral. Este material é capaz de absorver impactos elevados e apresenta resistência às

elevadas temperaturas a que é submetido durante o processo de esterilização, sendo adequado para aplicações em que o contacto com fluidos corporais e tecidos é reduzido a menos de 24 horas. Como vantagens apresenta uma rápida e económica produção, às quais se acrescentam as suas características de leveza, durabilidade, reutilização, biocompatibilidade, esterilidade e disponibilidade em diversas cores.

A impressão 3D em PEEK (fig. 11) destaca-se pela sua rapidez em comparação aos processos tradicionais de fresagem/modelagem, sendo ideal para implantes na coluna vertebral, craniomaxilofaciais e torácicos. Essa abordagem oferece uma produção económica, reduzindo o desperdício e proporcionando rapidez, fornece um produto leve, eliminando ainda a sensibilidade à temperatura para maior conforto do paciente. As suas características incluem biocompatibilidade, esterilidade e propriedades mecânicas duráveis semelhantes às do osso, além de resistência à radiação térmica e ionizante.

A liga de titânio destaca-se pela sua elevada resistência, baixo peso e excelente biocompatibilidade, sendo aplicada em diversas áreas, como, por exemplo, aplicações industriais, implantes médicos, ferramentas e dispositivos médicos e próteses dentárias.



Figura 1: Estrutura óssea de PCL com material de enxerto ósseo fresado parcialmente aplicado. (38)



Figura 2: Colocação de Integra com pasta de anfotericina no dorso do pé após desbridamento de infecção fúngica invasiva (39)



Figura 3: Planeamento pré-cirúrgico com modelos 3D (18)

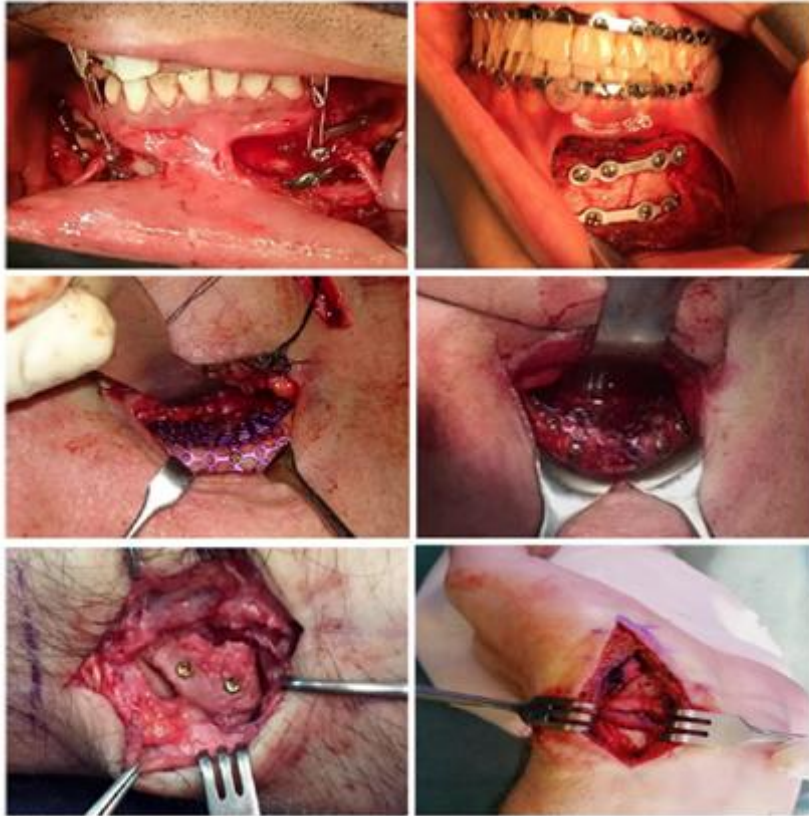


Figura 4: Uso intraoperatório de materiais de osteossíntese previamente selecionados e moldados no processo pré-cirúrgico (18)

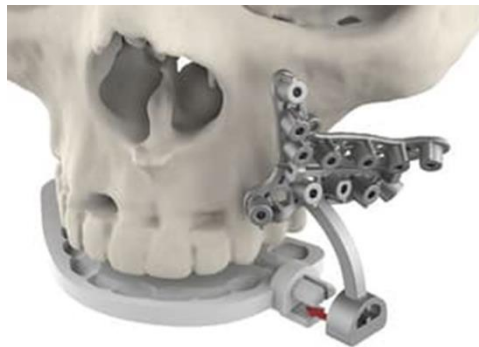


Figura 5: Guia híbrida (37)



Figura 6: Guia de titânio (37)



Figura 7: Guia de nylon (37)



Figura 8: Fotopolímero (37)

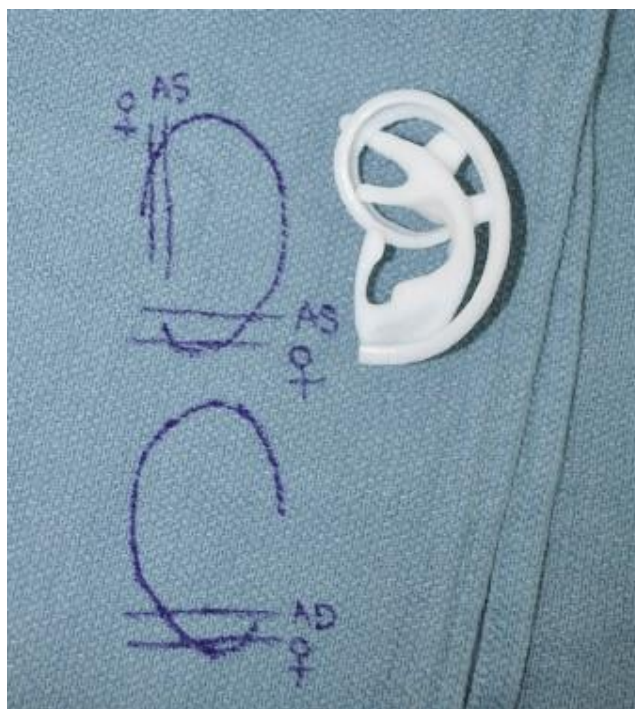


Figura 9: implante auricular de polietileno para criança de 7 anos. O tamanho do implante foi personalizado para o que se prevê que seja a orelha adulta de acordo com as características da orelha normal contralateral, desenhadas na parte esquerda da imagem juntamente com as características da orelha da mãe, desenhadas inferiormente. (40)



Figura 10: Implante Radel polifenilsulfona (41)

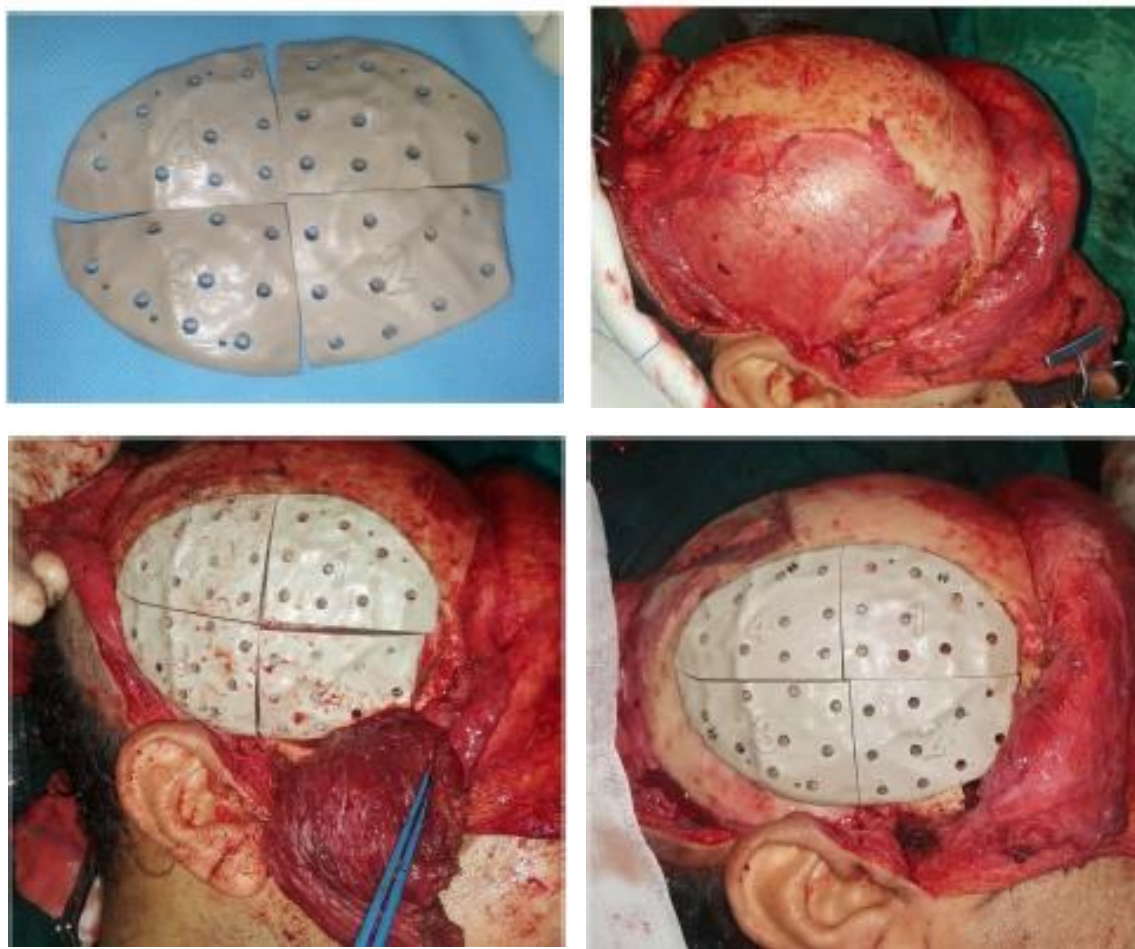


Figura 11: colocação de implante PEEK específico de paciente (42)

Tabela 1: Materiais Biocompatíveis utilizados em engenharia tecidual

Naturais	Poli-caprolactona (PCL)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Poliéster biodegradável ▪ Decompõe-se no corpo ao longo do tempo ▪ Utilizado em dispositivos e construções de longa duração ▪ Frequentemente combinado com outros materiais funcionais, como hidrogéis <ul style="list-style-type: none"> ○ Devido ao conteúdo hidrofóbico, resulta numa falta de locais de agrupamento de péptidos que orientariam claramente as células, influenciando assim o tecido 	
	Hidrogéis	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Substrato biocompatível com capacidade de ser modulado para atender às necessidades específicas de tecidos de menor rigidez ▪ Compostos por cadeias poliméricas ou péptidos ▪ Módulo flexível de tecidos mais delicados do corpo 	
	Colágeno	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Usado em aplicações de cultura de células e tecidos ▪ Favorecem a replicação e multiplicação celular <ul style="list-style-type: none"> ○ Grelhas 100% colágeno podem não ser as ideais 	
	Ácido Hialurônico (HA)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Glicosaminoglicano hidrofílico não sulfatado ▪ Usado em terapia para articulações danificadas e artrite ▪ Fornece um biomaterial versátil que pode ser interligado através de um hidrogel ou combinado com outros fatores bioativos ▪ Utilizado na cicatrização de lesões cutâneas e corneanas ▪ Empregue na bioimpressão para construção de modelos vasculares 	
	Gelatina	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Mistura de estruturas peptídicas à base de colágeno ▪ Usada para estabelecer redes dérmicas in vitro, indicando qualidades essenciais na reparação de feridas <ul style="list-style-type: none"> ○ Requer ajustes adicionais, métodos de reticulação seletivos ou mistura com outras proteínas ou polímeros para ter uma boa execução em estruturas vivas 	
	Alginato	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Polissacárido natural proveniente de algas marinhas ▪ Rápida capacidade de formar hidrogéis 	
Sintéticos	Substitutos ósseos	Cerâmicas e cimentos de CaP	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Osteocondutores ▪ Promovem a formação óssea ▪ Atuam como matriz para células osteogênicas formarem novo osso ▪ Oferecem suporte estrutural e resistência à compressão <ul style="list-style-type: none"> ○ Fragilidade e baixa resistência à tração
		Compostos de CaS	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Alternativa totalmente reabsorvível para enxertos ósseos osteocondutores

Substitutos cutâneos		<ul style="list-style-type: none"> ▪ Capacidade de se dissolver in vivo em 30-60 dias ▪ Preenchimento de defeitos pós-traumáticos e defeitos ósseos metafisários após reduções de fraturas ▪ Tratamento de fraturas do planalto tibial e fraturas do calcâneo durante a ORIF <ul style="list-style-type: none"> ○ Não são recomendados em situações que exijam suporte estrutural ○ Associado a complicações persistentes de drenagem serosa da ferida
	Radel PPSU (Polifenilsulfona)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Material amorfo de grau médico ▪ Utilizado em instrumentos, como espaçadores de implantes experimentais em artrodeses da coluna vertebral ▪ Capaz de absorver impactos elevados ▪ Resistência às elevadas temperaturas a que é submetido durante o processo de esterilização ▪ Adequado para aplicações em que o contacto com fluidos corporais e tecidos é <24 horas ▪ Produção rápida e económica ▪ Leveza, durabilidade, reutilização, biocompatibilidade, esterilidade e disponibilidade em diversas cores
	PEEK (Polieterecetona)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Rápida impressão em comparação aos processos tradicionais de fresagem/modelagem ▪ Ideal para implantes na coluna vertebral, craniomaxilofaciais e torácicos ▪ Produção económica ▪ Produto leve ▪ Elimina a sensibilidade à temperatura para maior conforto do paciente ▪ Biocompatibilidade, esterilidade, propriedades mecânicas duráveis semelhantes às do osso e resistência à radiação térmica e ionizante
	Titânio	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Elevada resistência, baixo peso e excelente biocompatibilidade ▪ Aplicada em diversas áreas: industriais, implantes médicos, ferramentas e dispositivos médicos e próteses dentárias
	Transcyte e Apligraf	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Incorporam fibroblastos e queratinócitos alogénicos neonatais ▪ Tratamento de úlceras crónicas
	Dermagraft	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Estrutura dérmica viva criopreservada ▪ Estimula a cicatrização de lesões crónicas através do crescimento de tecido fibrovascular
	Aloderm	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Feita a partir de pele de cadáver humano ▪ Age como enxerto dérmico

		<ul style="list-style-type: none"> ▪ Atua como modelo para regeneração dérmica
	Integra	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Substituto de pele sintético ▪ Amplamente aceite em queimaduras ▪ Apresenta estrutura bilaminar de colágeno bovino reticulado e glicosaminoglicanos com membrana de silicone
	Culturas de queratinócitos	<ul style="list-style-type: none"> • Buscam otimizar a aplicação de queratinócitos autólogos em cultura

5.2. Planejamento Cirúrgico

O processo de impressão consiste em três etapas principais: pré-processamento, processamento e pós-processamento. Primeiro são adquiridas imagens do tecido ou órgão por meio de Tomografia Computadorizada (TC), Ressonância Magnética (RM) e técnicas de ultrassom. A reconstrução tridimensional é realizada a partir dessas imagens. Durante esta etapa, é também necessário projetar a arquitetura interna, incluindo poros e canais, de forma a permitir a fixação de células, proliferação, fluxo de nutrientes e maturação do tecido. (9,13)

Após a obtenção das imagens, os modelos tridimensionais são convertidos em arquivos no formato estereolitográfico (STL), compatíveis com a maioria das impressoras tridimensionais comerciais, impressos no material desejado e esterilizados para aplicação. (13)

A esterilização destes modelos impressos torna-se, por vezes, problemática, e a ocorrência de erros nas várias etapas do processo podem afetar as dimensões e os detalhes anatômicos dos protótipos. Este processo demora, geralmente, cerca de 1 a 3 semanas a produzir guias de corte prontas a utilizar, no entanto, o período pode alargar-se até 2 meses quando falamos no caso de, por exemplo, próteses da articulação temporária mandibular. (7,8,15,33,34)

5.3. Da impressão tridimensional à bioimpressão tridimensional

A impressão tridimensional pode ser usada para preencher grandes defeitos tecidulares, abrindo caminho para tratamentos futuros através da produção de matrizes bioimpressas incorporadas com células estaminais. (5,9,17,31,43) Num cenário de diminuição de dadores de órgãos devido à redução de mortes acidentais, e de carência de materiais biocompatíveis com características ótimas para incorporação no organismo, a bioimpressão tridimensional pode atuar como uma solução viável, alinhada para o objetivo comum da medicina de oferecer tratamento personalizado. (7,26)

6. Bioimpressão Tridimensional

A bioimpressão é atualmente considerada como o melhor método de biofabricação, permitindo alcançar a porosidade, geometria e interconectividade desejadas em estruturas complexas. Esta tecnologia é já amplamente reconhecida como uma das maiores evoluções biomédicas dos próximos 20 anos. Oferece reprodutibilidade apreciável e controlo preciso automatizado sobre as estruturas fabricadas. (7,14)

Embora o termo “impressão 3D” seja frequentemente usado de forma intercambiável, este difere da bioimpressão tridimensional em termos de material utilizado e potencial de impressão. Na bioimpressão tridimensional, o foco está na criação de estruturas biológicas carregadas de células vivas. Isto implica a impressão quer de células isoladas, quer de agregados densos celulares. Em contraste, a impressão 3D tradicional centra-se na fabricação de objetos tridimensionais sem a presença de células vivas. (14)

A abordagem predominante no emprego de tecnologias de fabrico aditivo na engenharia de tecidos envolve a sementeira de células na matriz porosa após a impressão, usando tintas de biomateriais. No entanto, esta abordagem apresenta uma limitação crucial: resulta frequentemente numa distribuição não homogénea da densidade celular, concentrando as células principalmente nas margens da estrutura. Esta heterogeneidade de densidade celular pode provocar gradientes de oxigénio inadequados do perímetro para o núcleo da construção, prejudicando tanto o crescimento como a proliferação celular. A técnica de bioimpressão surge como alternativa para superar esta limitação, garantindo uma distribuição homogénea das células na estrutura impressa. (4)

Apesar de ser uma nova e inovadora tecnologia de engenharia tecidual, acarreta com ela diversos desafios ao longo do processo de fabrico tecidual. Os obstáculos começam com a identificação de materiais biodegradáveis e biomiméticos que permitam uma rápida fixação e proliferação celular, passando pela necessidade de conseguir uma vascularização adequada ao nível de uma única célula. Torna-se também complexa a modelação de tecidos heterocelulares, assim como a manutenção da viabilidade celular e funcionalidade a longo prazo do tecido ou órgão resultante posteriormente ao processo de impressão, até que a remodelação e regeneração estejam concluídas. (4)

Apesar de os passos envolvidos no processo de bioimpressão serem semelhantes aos da impressão tridimensional tradicional, torna-se necessário um controlo mais rigoroso dos parâmetros de impressão para garantir tanto a consistência adequada da tinta como a sobrevivência das células durante o processo. (10)

Portanto, a bioimpressão tridimensional representa um ramo evolutivo da impressão 3D tradicional, com a capacidade de criar estruturas biológicas funcionais, mas também apresenta desafios específicos devido à necessidade de trabalhar com biomateriais e células vivas.

6.1 Conceito

A bioimpressão tridimensional é um processo de fabrico aditivo que utiliza uma bioimpressora para dispensar tinta biológica, composta por células vivas, materiais biológicos e bioquímicos, de forma espacialmente controlada. Este processo é realizado com a ajuda de um sistema de Design e Fabrico Computadorizado (CAD/CAM), baseado em imagens médicas do doente em causa. (2,10) Surge então o potencial revolucionário de fabrico de estruturas biológicas com a capacidade de replicar fielmente as características nano-, micro- e macroscópicas do tecido nativo. Os microambientes tridimensionais criados favorecem as interações celulares ideais para a adesão, proliferação e diferenciação, fundamentais para a regeneração tecidual, permitindo a biofabricação de estruturas teciduais multicelulares fisiologicamente relevantes. Assume, portanto, ponto de interesse maior quando comparado às técnicas de engenharia tecidual atuais. (10,11,44)

Esta abordagem inovadora tem o potencial de revolucionar a medicina regenerativa e cirurgia plástica reconstructiva, eliminando a necessidade de recolha de tecido autólogo, reduzindo a comorbilidade da região dadora e permitindo a criação de estruturas tecidulares complexas e funcionais em laboratório. (11)

6.2. Método

A necessidade de lidar com a heterogeneidade de biomateriais e células usadas na pesquisa atual vem trazer uma complexidade adicional à bioimpressão tridimensional. Como resultado, não existem plataformas de hardware ou software padronizados para a bioimpressão. (11)

A tinta biológica ideal para a bioimpressão deve possuir propriedades químicas, mecânicas, reológicas e biológicas adequadas, garantindo a precisão funcional e estrutural dos tecidos e órgãos bioimpressos. (14) Moléculas bioativas, como fatores de crescimento (por exemplo, VEGF, BMP, FGF e IGF-1), podem ser incorporadas para promover a angiogénese e a

diferenciação tecidual. (2) A incorporação de fármacos antibacterianos ou anticancerígenos nas matrizes também se comporta como uma abordagem promissora. (8,14)

A combinação de diferentes estratégias de tintas biológicas permite superar as limitações individuais dos materiais de bioimpressão. Ingredientes como a gelatina, o fibrinogénio, o ácido hialurónico e o glicerol são usados para otimizar as propriedades da tinta e proteger as células durante o processo de impressão. (1,41)

Recentemente, novos estudos têm explorado biomateriais de origem marinha como uma alternativa económica e livre de riscos de doenças transmissíveis, oferecendo excelente biocompatibilidade para engenharia tecidual. (20)

No processamento, as células primárias do paciente são colhidas, cultivadas e expandidas ex-vivo. São posteriormente suspensas em tintas biológicas adequadas, que mimetizam as propriedades do tecido pretendido. Esta tinta, carregada de células, é utilizada pela bioimpressora para criar o tecido ou órgão tridimensional de acordo com o modelo tridimensional. (13) A precisão da impressão tridimensional está intrinsecamente ligada à qualidade das imagens de tomografia computadorizada (TC), na qual é essencial uma fina espessura de corte (1-2 mm). (17)

A seleção das células utilizadas em bioimpressões é um aspeto crucial, oferecendo a opção entre células primárias funcionais e células estaminais. Esta escolha deve considerar o tecido ou órgão específico em questão. Células primárias atuam como uma escolha sólida para bioimpressão de tecidos individuais, especialmente no método de bioimpressão por extrusão, uma vez que as células estaminais podem reagir mais intensamente a estímulos ambientais. A passagem forçada de células estaminais por canais estreitos de agulhas durante a bioimpressão por extrusão pode resultar em efeitos adversos na integridade da membrana, capacidade de diferenciação e taxa de proliferação. Em contraste, para tecidos ou órgãos complexos, as células estaminais surgem como uma escolha mais adequada. Isso deve-se à necessidade de incorporar diferentes tipos celulares em diversas tintas de biomateriais, o que aumenta a complexidade do processo de impressão. A variedade de células exigida para tecidos mais complexos aumenta o potencial para erros durante a fase de bioimpressão. Assim, a escolha entre células primárias e células estaminais é estratégica e dependerá da aplicação específica, visando otimizar a eficiência e precisão do processo de bioimpressão. (4)

A escolha das células estaminais desempenha um papel importante na reconstrução tecidual. Células estaminais mesenquimais (MSCs) são frequentemente preferidas devido à sua facilidade de colheita e custo-eficácia. Podem ser diferenciadas em diversos tecidos,

incluindo osso e cartilagem, o que se torna vantajoso para a reconstrução do tecido composto. Por outro lado, células estaminais embrionárias (ESCs) têm maior potencial de diferenciação, mas enfrentam desafios éticos e imunológicos, enquanto células estaminais pluripotentes induzidas (iPSCs) levantam preocupações de tumorigênese. (5,14)

Apesar das limitações, torna-se vantajosa a capacidade de moldar tanto a arquitetura tridimensional interna como a externa de sistemas de matrizes. Esta predefinição da arquitetura desejada da matriz possibilita a formação de matrizes altamente específicas para pacientes, potencia a impressão de múltiplos materiais para a criação de matrizes e capacita algum controle do comportamento celular e da resposta mecânica da estrutura final. (14) Permite ainda a criação de estruturas com dimensões de poros ideais (100-300 micrómetros) para promover a osteogênese e angiogênese, facilitando a formação tecidual adequada. (1,2)

Uma notável vantagem desta tecnologia passa também pela possibilidade de eliminação da necessidade de suporte durante a impressão. Durante o processo, um pó não vinculado serve de suporte, o qual poderá ser reutilizado, minimizando não só o desperdício como também os custos de produção. (33)

É essencial garantir a preservação de um número suficiente de células vivas após o processo de impressão, a fim de alcançar uma densidade celular adequada. Durante o procedimento, são aplicadas forças às células, o que pode resultar em algum grau de necrose celular. Este desafio torna-se especialmente mais pronunciado quando se utilizam hidrogéis com elevado teor de polímero como base para a tinta biológica, devido às forças intensas e ao stress exercido sobre as células encapsuladas. A densidade celular assume um papel crucial na determinação da estratégia de impressão mais eficaz, uma vez que diversas técnicas de bioimpressão apresentam resultados variados em termos de viabilidade celular. Portanto, o entendimento e a gestão cuidadosa da densidade celular são aspectos fundamentais para otimizar o sucesso do processo de bioimpressão e garantir a funcionalidade e vitalidade dos tecidos ou órgãos impressos. (4)

O pós-processamento envolve, portanto, a maturação do objeto resultante dentro de uma incubadora sob condições específicas. Somente após este processo poderá o tecido ou órgão resultante ser transplantado no paciente ou usado em modelos in-vitro para testes farmacológicos. (13)

Apesar dos esforços direcionados à criação e transferência de tecidos de maiores dimensões no corpo, a vascularização do tecido permanece o principal fator limitante, encontrando-se, de momento, restringida a agregados celulares de pequenas dimensões (poucos mm³), sendo dependente da difusão de nutrientes a que é capaz. (45)

Tecnologias de bioimpressão tridimensional são classificadas com base no método de impressão utilizado (fig. 12). Existem duas principais categorias: tecnologia de impressão direta, na qual os biomateriais são transferidos por contacto direto, e tecnologia de impressão por resistência, onde a estrutura é formada remotamente por polimerização seletiva. (11)

Na bioimpressão tridimensional de impressão direta, os biomateriais são depositados diretamente na estrutura desejada. Isto pode ser realizado por meio de técnicas de extrusão ou guiadas por laser. Por outro lado, a tecnologia de impressão por resistência envolve a formação da estrutura de maneira remota, onde os biomateriais desejados são polimerizados seletivamente. Esta abordagem pode ser implementada usando métodos de jato de tinta ou estereolitografia. (5,11,13,43)

Esta classificação baseada no método de impressão ajuda a determinar qual das tecnologias é mais adequada para uma aplicação específica na bioimpressão tridimensional, oferecendo flexibilidade e escolhas variadas para atender às necessidades de fabrico de tecidos e órgãos tridimensionais. (11)

6.2.1. Impressão direta

6.2.1.1 *Bioimpressão baseada na extrusão*

A tecnologia mais usada para bioimpressão in vitro é baseada na extrusão, consistindo na distribuição de tinta biológica viscosa a partir de um injetor. (11,13,43) Após a impressão, os componentes podem ser solidificados física ou quimicamente, camada a camada, tornando esta técnica mais lenta que as restantes. No entanto, consegue-se alcançar boa viabilidade celular mesmo estando sujeita a forças externas e a temperaturas relativamente elevadas. (11)

A principal vantagem desta técnica resume-se na sua escalabilidade, permitindo a impressão de tecido em escala humana, o que não é possível com outros métodos. Além disso, a capacidade de impressão com tintas altamente viscosas e concentrações celulares comparáveis às dos tecidos nativos compreende-se como outra vantagem. (13,43)

Não obstante, dita escalabilidade vem à custa da resolução. A impressão baseada na extrusão apresenta resolução inferior quando comparada com as restantes técnicas. Para ultrapassar esta limitação, seria necessário a redução do diâmetro do injetor, o que poderia resultar em forças de cisalhamento que prejudicariam as células. A obstrução do injetor

torna-se um problema inerente a esta técnica, e a necessidade de tintas com propriedades de redução do cisalhamento limita o número de opções que podem ser utilizadas. Portanto, embora a bioimpressão por extrusão seja altamente escalável, é importante considerar as suas limitações de resolução e requisitos específicos de tintas ao escolher a tecnologia adequada para as aplicações de bioimpressão. (11,13)

6.2.1.2. Bioimpressão guiada por laser

A bioimpressão guiada por laser utiliza a energia de luz laser para padronizar tinta biológica carregada de células num arranjo tridimensional, como o auxílio de design e fabrico computadorizados (CAD/DAM). Esta abordagem oferece uma elevada resolução e reprodutibilidade, tornando-a viável para aplicações biomédicas. (11,13)

Uma das principais vantagens desta técnica prende-se no facto de ser livre de contacto, resultando em elevada viabilidade pós-impressão. Além disso, por não envolver um injetor, é compatível com uma ampla gama de viscosidades de biomateriais e evita os problemas de obstrução frequentemente associados às técnicas baseadas na extrusão. (11,13)

A bioimpressão guiada por laser tem a capacidade de imprimir uma única célula por gota, suporta suspensões de elevada densidade celular e baixa viscosidade, proporcionando assim uma elevada capacidade de resolução. No entanto, surgem preocupações com a exposição das células à radiação laser, mesmo quando se utiliza laser de baixa potência ou camadas de sacrifício, o que pode levar a danos celulares fotónicos. Para mais, o uso de metais como camadas absorventes de energia laser pode apresentar problemas de citotoxicidade induzida por nanopartículas metálicas, limitando a sua aplicação. (11,13)

Esta técnica é especialmente adequada para tecidos de uma única camada celular, e em particular, para a criação de tecidos como vasos sanguíneos e substitutos cutâneos. No entanto, produtos impressos a partir desta técnica podem não fornecer a força mecânica necessária para suportar a carga funcional da mandíbula, limitação importante a considerar em aplicações específicas. Portanto, enquanto a bioimpressão baseada em laser oferece vantagens notáveis em termos de resolução e versatilidade, também apresenta desafios relacionados à segurança celular e força mecânica em certas aplicações biomédicas. (5)

6.2.2 Impressão por resistência

6.2.2.1. *Bioimpressão por jato de tinta*

A bioimpressão por jato é uma técnica que utiliza microgotas de células para a rápida impressão de estruturas de elevada resolução. Neste processo, tintas biológicas carregadas de células são injetadas através de um injetor diretamente num substrato sob a forma de gotas. (11,13)

Apesar da sua elevada capacidade de resolução, da sua rapidez, baixo custo e capacidade de introduzir gradientes de concentração celular, a bioimpressão por jato apresenta alguns desafios. A viabilidade celular pode ser comprometida devido às elevadas temperaturas e pressões durante o processo de impressão, para além do risco de obstrução do injetor causada pela agregação celular, levando a baixa densidade celular nos tecidos produzidos. Além disso, esta técnica é mais adequada para tintas de baixa viscosidade, o que exige um passo adicional de reticulação para garantir a estabilidade estrutural na impressão. (11,13)

A impressão por jato tem sido considerada promissora para a criação de tecidos complexos, devido à sua capacidade de combinar diversos tipos celulares e às investigações em curso para aumentar as concentrações celulares. É indicada para estrutura delicadas que não exigem elevada força, como por exemplo músculos, ligamentos, vasos sanguíneos e cartilagens. No entanto, não seria apropriada para aplicações que envolvam a reconstrução da mandíbula, devido às suas limitações e aos requisitos específicos deste tipo de impressão. (5)

6.2.2.2. *Estereolitografia*

A estereolitografia pode ser dividida em duas modalidades. Na primeira, a fonte de luz laser é controlada por computador e move-se de acordo com a estrutura pretendida em cada camada do objeto tridimensional. A segunda modalidade envolve um Dispositivo de Microespelhos Digital (DMD), no qual vários milhares de microespelhos podem ser controlados para refletir a luz num padrão espacial específico, polimerizando desta forma toda uma camada ao mesmo tempo. (11,13)

No fundo, esta tecnologia usa a irradiação de luz laser, especialmente controlada, para solidificar um padrão bidimensional estratificado por fotopolimerização seletiva num

reservatório de tinta biológica. Isto permite a liberdade de design de polímeros e a construção de implantes específicos para o paciente. (20)

A estereolitografia oferece a mais alta resolução de todas as técnicas de bioimpressão e é livre de injetor, eliminando desta forma os problemas relacionados com a obstrução e permitindo o uso de tintas biológicas com elevadas concentrações celulares. No entanto, as suas principais desvantagens incluem a falta de resinas biocompatíveis, com propriedades específicas de processamento estereolitográfico, o uso de fotoiniciadores e radicais citotóxicos, a incapacidade de criar gradientes composicionais e propriedades mecânicas fracas em resinas fotopolimerizáveis. Além disso, esta técnica é geralmente de elevado custo e envolve a exposição das células a radiação ultravioleta, apresentando riscos potenciais à viabilidade celular e ao DNA. Portanto, a escolha desta técnica deve considerar as suas vantagens e limitações específicas para cada aplicação. (11,13,20,31)

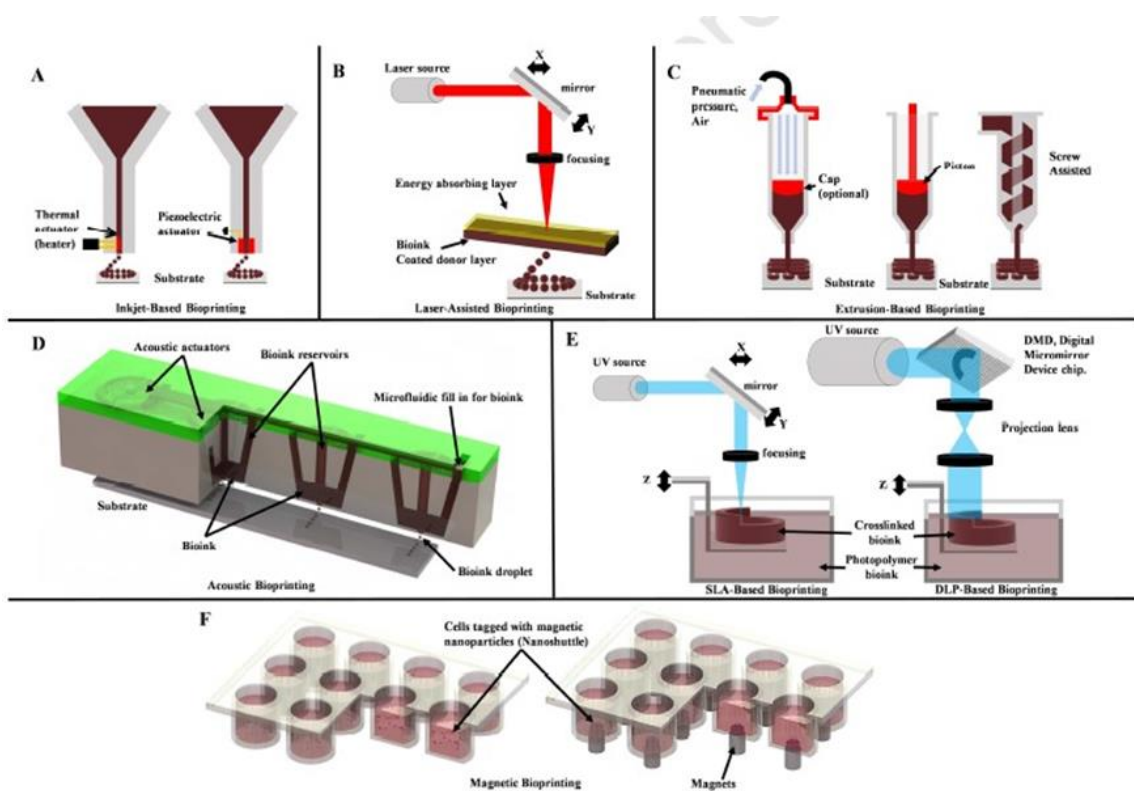


Figura 12: Métodos de bioimpressão (4)

6.2.3. Critérios de seleção do método

A seleção da técnica de bioimpressão tridimensional é um passo crucial no desenvolvimento de tecidos e órgãos funcionais. Essa escolha depende de vários fatores, incluindo a dimensão do produto tecidual, a sensibilidade do posicionamento celular, biomaterial e biomolecular utilizados, bem como a resolução desejada da impressão. (11)

Nenhum método único pode ser usado de forma isolada para alcançar o objetivo de imprimir um órgão ou tecido completamente funcional. As técnicas de laser e estereolitografia oferecem a mais alta resolução, mas têm limitações de escalabilidade. Por outro lado, a técnica de gotas pode ser utilizada para padronizar com precisão células e plataformas de cultura, mas ainda não consegue imprimir na escala humana. A técnica de extrusão, embora tenha a menor resolução, apresenta potencial para impressão em escala humana. (13)

Posto isto, torna-se imperativo o desenvolvimento de sistemas híbridos de bioimpressão que combinem as vantagens desses métodos para alcançar a bioimpressão de tecidos funcionalmente relevantes. (13)

A escolha da estrutura tradicional do tecido impresso geralmente envolve uma forma sólida, mas porosa, com uma suspensão celular. Os poros desempenham um papel crucial, permitindo a infiltração de células e nutrientes, além da remoção de resíduos. A dimensão dos poros também afeta a migração celular e a fixação ao longo das estruturas. (2,11,21)

Falando de arquitetura tecidual, são diversas as abordagens possíveis de se tomar. Pode-se ir buscar o biomimetismo, onde a micro- ou macroarquitetura tecidual imita a do tecido funcional nativo desde o início. Outra abordagem é a padronização de células e biomoléculas em estruturas bioativas de suporte para promover a automontagem tecidual embriogénica. Uma terceira opção passa pela biopadronização, que visa a reprodução dos menores componentes estruturais e funcionais, criando miniblocos de tecido que podem ser montados por biomimetismo ou auto-síntese. (11)

Além da escolha da técnica de bioimpressão, o sucesso da matriz também é influenciado pela escolha da tinta biológica. A tinta biológica consiste na combinação de um meio de impressão inerte com células vivas. Para ser eficaz, a tinta biológica deve ter a capacidade de ser impressa, possuir alta integridade mecânica, estabilidade, ser insolúvel no meio de cultura celular, não ser tóxica e não causar reações imunológicas. É ainda importante que essa tinta mantenha a sua força e integridade para aplicação in vivo. (2,18)

As tintas biológicas podem ser classificadas em abordagens baseadas em matrizes celulares e abordagens baseadas em células livres de matriz. No primeiro, a tinta biológica consiste em biomaterial e células vivas, permitindo o desenvolvimento de estruturas teciduais tridimensionais à medida que o biomaterial da matriz se degrada. No segundo método, as células vivas são impressas diretamente, mimetizando o crescimento embriogénico normal. (46)

No fundo, uma matriz craniofacial ideal deve ser uma estrutura carregada de células, biocompatível e com estrutura adequada para suportar o crescimento de tecido, garantindo também uma força mecânica adequada. Esta abordagem integrada abrange desde a escolha da técnica de bioimpressão até a seleção da tinta biológica, visando a criação de tecidos funcionais fisiologicamente relevantes. (43)

6.3. Aplicações

6.3.1. Reconstrução esquelética

O tecido ósseo é o tipo de tecido duro mais comumente investigado na área da bioimpressão 3D. O desafio central nesta área passa por conseguir fabricar tecido ósseo com resistência mecânica comparável à do osso nativo. A construção precisa do tecido ósseo deve ser interconectivamente porosa para permitir vascularização e proliferação celular. (45)

Até ao momento, as células estaminais mesenquimais são as mais usadas na bioimpressão de tecido ósseo. (43) Para tratar grandes defeitos maxilofaciais, é comum combinar células pluripotentes com matrizes biológicas, muitas vezes adicionando componentes bioativos para promover a proliferação e diferenciação de células estaminais. (1,2)

Além disso, a bioimpressão oferece a capacidade única de desenvolver células de cartilagem com estruturas complexas que mimetizam a cartilagem nativa. Para enfrentar os desafios e a crescente procura por enxertos ósseos viáveis, a engenharia de tecido ósseo tem como objetivo combinar matriz biocompatível, células osteogénicas, sinais morfogénicos e vascularização adequada para suportar o crescimento de tecido. (18)

A técnica de extrusão tem alcançado sucesso notável na bioimpressão de tecido ósseo e cartilagem. A engenharia de tecido cartilaginoso por meio da bioimpressão tridimensional tem recebido atenção crescente, devido à capacidade limitada de auto-regeneração da cartilagem. Com a limitação dos sistemas de hidrogel de componente único, há um interesse

crescente em materiais biocompatíveis com boas capacidades mecânicas e biológicas para a engenharia de tecido cartilaginoso. (20)

Atualmente, ainda não existem ensaios clínicos em humanos que utilizem construções ósseas ou cartilaginosas bioimpressas. No entanto, já foram concluídos ensaios clínicos em murinos e coelhos, nos quais foram implantados com sucesso enxertos bioimpressões para reconstruções ósseas e cartilaginosas. (4)

6.3.2. Revestimento cutâneo de feridas e queimaduras

A bioimpressão de tecido cutâneo tem ganho destaque no mercado devido à sua elevada procura, e espera-se que seja um dos primeiros tecidos bioimpressos a serem utilizados clinicamente. Embora tenha havido progresso substancial na área, a criação de pele completamente funcional, com todos os tipos de células, camadas e apêndices cutâneos, ainda se apresenta como um desafio. (13)

Já tem sido reportada a impressão de tecidos neurais, cutâneos e cardíacos com sucesso recorrendo a impressoras de extrusão. Para pacientes com queimaduras graves, úlceras diabéticas, tumores e outras condições, os métodos tradicionais de tratamento, com enxertos autólogos, têm as suas limitações. (1,2)

Enxertos autólogos epidermais são uma opção disponível para pacientes com queimaduras graves, mas o seu efeito nas camadas dérmicas é limitado. (1)

A bioimpressão 3D da pele representa uma fronteira promissora na área da medicina regenerativa, oferecendo possibilidades notáveis, como enxertos para cicatrização de feridas, substituição de pele queimada e modelos in vitro para ensaios de produtos e medicamentos. Já foram reportados casos que destacaram uma abordagem pioneira ao imprimir queratinócitos e fibroblastos estratificados por meio de uma técnica de fabrico de forma livre sólida, uma versão modificada da bioimpressão baseada na extrusão. Esta técnica resultou na formação de camadas distintas, mimetizando a disposição derme/epiderme num suporte 3D. A tinta utilizada consistiu em plasma humano, fibroblastos e queratinócitos humanos, derivados de biópsias de pele. Matrizes de fibrina com duas camadas foram fabricadas para funcionar como substitutos da pele. A camada inferior, representando a derme, era composta por fibroblastos imersos numa matriz de fibrina derivada de plasma, enquanto a camada superior, representando a epiderme, consistia em queratinócitos dispostos no topo do suporte de fibrina. (4)

O quitosano, é considerado um biomaterial promissor para reparação cutânea devido à sua biocompatibilidade, citocompatibilidade e baixa toxicidade para fibroblastos humanos e células formadoras de queratina. (1)

A tendência observada na comunidade científica indica que a técnica de bioimpressão assistida por laser tem sido a mais frequentemente aplicada na bioimpressão de pele em comparação a outros tipos de tecidos. Recentemente, houve a validação da prova de conceito de uma bioimpressora de pele integrada com tecnologia de imagiologia. Esta abordagem inovadora permitiu a impressão de células cutâneas autólogas no local para tratar feridas de espessura total. Os fibroblastos dérmicos e células de queratinócitos epidérmicos foram encapsulados num suporte de hidrogel de fibrina/colagénio, garantindo a viabilidade celular, a rápida reticulação do hidrogel e precisão na deposição de modo a formar agregados celulares e de múltiplas camadas. (4)

Os sistemas avançados de digitalização e imagiologia de feridas foram capazes de converter dimensões e topologia num formato de duas camadas: fibroblastos na camada inferior e queratinócitos na camada superior. Em ensaios, usando um modelo murino de ferida de espessura total, esta bioimpressora in situ revelou resultados impressionantes, com uma epiderme bem definida e uma derme organizada, indicando reepitelização eficaz nas feridas bioimpressas e cicatrização completa no final da sexta semana. Estas conquistas destacam a evolução contínua e promissora da bioimpressão na criação de tecidos cutâneos funcionalmente relevantes. (4)

6.3.3 Rede Vasculare Endotelial

De modo a potenciar a pega dos tecidos transferidos, ou, no caso particular das feridas, a cicatrização por segunda intenção é fundamental induzir uma vascularização mais robusta. (48)

A criação de um sistema reticulo endotelial funcional tem sido um dos desafios mais cruciais na engenharia de tecidos, especialmente para grandes construções de tecidos de engenharia, onde a vascularização é essencial para manter a viabilidade, especialmente em tecidos altamente metabólicos, como o cardíaco. Estratégias convencionais para estimular a vascularização de tecidos implantados incluem modificações químicas em biomateriais, otimização do tamanho dos poros para facilitar o crescimento dos vasos sanguíneos e a incorporação de fatores de crescimento pró-angiogénicos. (49)

No entanto, o recrutamento lento de células endoteliais nativas e o subsequente crescimento fisiológico de novos vasos sanguíneos ao longo de um período prolongado são limitações significativas, especialmente nos primeiros dias após a implantação. Uma abordagem inovadora na engenharia de tecidos é a impressão 3D da vasculatura *in vitro*, fundamentada na ideia de que uma rede microvascular preformada se pode anastomosar de maneira mais eficaz com a circulação do hospedeiro para alcançar a perfusão funcional dentro do implante. (49)

Uma técnica para criar o lúmen da rede vascular envolve o uso de tintas de sacrifício para formar uma rede de interconexão 3D, removível após a construção circundante. Isto resulta em canais ocos para a perfusão de células endoteliais, permitindo a endotelização dos vasos sanguíneos. Além disso, fazem-se esforços para imprimir diretamente a rede de vasculatura 3D sem a necessidade de pré ou pós-fabricação. (49)

Recentemente, foram desenvolvidas técnicas notáveis para produzir artérias autólogas de pequeno calibre *in vitro* a partir de células vasculares cultivadas numa matriz polimérica biodegradável. Utilizando um sistema de perfusão pulsátil para a cultura de vasos, estas artérias biológicas procuram atingir características ideais, incluindo um endotélio confluyente, células musculares lisas diferenciadas e quiescentes, e integridade mecânica suficiente para retenção de suturas e tolerância a pressões arteriais sistémicas. (50)

A aplicação de stress físico pulsátil às células vasculares em cultura tem sido explorada como um método para simular as forças físicas pulsáteis a que são sujeitas durante a angiogénese e ao longo da vida. Esta abordagem inovadora pode acelerar o desenvolvimento de artérias laboratoriais, representando um avanço significativo na engenharia de tecidos. (50)

6.4. Aplicações e vantagens

A tecnologia de bioimpressão tridimensional tem uma ampla gama de aplicações: engenharia tecidual, medicina regenerativa, ciências de transplante de órgãos ou tecidos, teste de medicamentos e estudos oncológicos. (7,14,26)

A maior contribuição da bioimpressão tridimensional em cirurgia plástica reconstructiva é no campo da produção de enxertos.

Tradicionalmente, um dos maiores desafios neste âmbito consistia na necessidade de correspondência precisa entre o dador e o recetor, considerando a compatibilidade genética e imunológica.

A bioimpressão tridimensional está a revolucionar este paradigma, visto que permite a criação de órgãos e tecidos a partir das células do próprio paciente. Esta abordagem personalizada poderá eliminar no futuro a necessidade de encontrar doadores compatíveis, reduzindo drasticamente a lista e o tempo de espera angustiante para os pacientes que aguardam transplante. Outra vantagem será a fabricação de órgãos e tecidos que não suscitam uma resposta imunológica adversa, reduzindo a necessidade de imunossupressão a longo prazo, o que representa um grande avanço na segurança e bem-estar pós-transplante. (7,11,13)

6.5. Limites

A técnica de extrusão é benéfica para tecidos altamente organizados, no entanto, estes tecidos carecem de força mecânica para implantação imediata, requerendo primeiramente maturação extensiva num bioreator. (43)

Além disso, existem desafios relacionados com o longo período necessário para a bioimpressão e à entrega consistente de células necessárias. A vascularização é fundamental para a sobrevivência do tecido, visto que a falta dela pode levar à formação inadequada de tecido ou até à necrose do mesmo. É devido a esta falta de vascularização que a criação de órgãos ou tecidos de múltiplas camadas ainda não é possível. Quer *in vitro*, quer *in vivo*, a porção central do tecido produzido não consegue receber nutrientes e acaba por entrar em necrose, levando à falha da tentativa de reconstrução. (14,47)

Diferenças nos genótipos dos pacientes e o uso de células estaminais podem influenciar os resultados, intervindo na migração celular, formação de teratomas e na potenciação de malignidade, apresentando potenciais efeitos ainda desconhecidos a longo prazo. (7,46)

A escolha entre fontes animais e humanas para a produção de tecido envolve considerações éticas e regulamentares. Para além disso, a qualidade dos tecidos impressos é difícil de garantir e a implementação de capacidades de impressão tridimensional pode ser dispendiosa. Acompanhado com a falta de padronização para a produção de tecido, estes fatores adicionam ainda mais complexidade a um processo já complicado. (7,26,28,46)

A educação do pessoal, o planeamento pré-operatório e os custos são desafios adicionais. Para além disso, a falta de estudos em voluntários saudáveis e as complicações desconhecidas dificultam os ensaios clínicos. (8)

A translação clínica exige garantias de segurança, bancos de células estaminais e considerações práticas. É essencial regulamentar o processo de bioimpressão tridimensional e identificar problemas para minimizar riscos e falhas. (7,8,11,15) No entanto, a falta de testes qualitativos confiáveis para avaliar modelos impressos torna-se limitante. Pesquisas futuras devem focar em métodos padronizados de avaliação, bem como em estudos maiores e mais abrangentes. Investimentos contínuos na tecnologia de impressão tridimensional têm o potencial de melhorar o treino cirúrgico, o cuidado ao paciente e os resultados cirúrgicos. (28,51)

6.6. Perspetivas futuras

Com o avanço da pesquisa na área, começam a emergir ideias e protótipos de novas utilizações da tecnologia de bioimpressão na medicina futura.

A título de exemplo, tecnologias como a bioimpressão acústica e magnética estão a abrir caminho para pesquisas que permitem a impressão tridimensional de estruturas complexas, com benefícios de evitar danos às células e obstrução do injetor. (1)

A tecnologia de bioimpressão tetradimensional é outra área emergente, onde os produtos impressos podem mudar de forma e função em resposta a estímulos ambientais, impulsionando a criação de tecidos programáveis de nova geração. Isso inclui o desenvolvimento de polímeros inteligentes que respondem a estímulos como pH, temperatura ou até campo magnético. (1,14)

A impressão de próteses biomiméticas com diferentes camadas de neurónios pode potencialmente resultar em membros protéticos que funcionam plenamente como parte do corpo, abrindo caminho para a recuperação da transmissão de informação tátil e térmica ao cérebro de membros outrora perdidos. (3)

Outro avanço futuro envolve a bioimpressão in vivo, na qual células e materiais são impressos diretamente no corpo humano. Também a técnica “spray skin” se tem mostrado promissora para o tratamento de queimaduras. No entanto, é necessário realizar estudos de longo prazo no que toca à biocompatibilidade e toxicidade destes materiais. (3,43)

Folha em branco

7. Conclusão

A bioimpressão tridimensional é uma área de pesquisa em rápida expansão, diretamente ligada à engenharia tecidual, com o potencial de revolucionar a cirurgia plástica reconstructiva. O sucesso clínico desta tecnologia teria um impacto significativo na morbidade e mortalidade dos pacientes, bem como na economia da saúde. No entanto, a realização desse objetivo depende de responder a questões científicas fundamentais, como a combinação adequada de fontes celulares, matrizes imprimíveis e microambientes ideais para mimetizar a anisotropia natural dos tecidos. (11)

A tecnologia de impressão tridimensional oferece vantagens substanciais, melhorando a eficácia das consultas, a qualidade do diagnóstico, o planejamento cirúrgico e atuando como um guia durante procedimentos cirúrgicos. No entanto, a diversidade e complexidade de tecidos torna a impressão de estruturas multicelulares um desafio, especialmente em áreas como a reconstrução craniofacial devido à limitação da estabilidade mecânica dos materiais disponíveis. (9,17,43,51) A engenharia de tecido composto é um campo desafiante que envolve a criação de tecidos complexos. (7) No entanto, a falta de evidência de alto nível, como ensaios clínicos randomizados e controlados, e a criação de materiais que atendam a todos os requisitos ainda requer trabalho adicional e posa como obstáculo no que toca à avaliação da eficácia desta tecnologia. (12,35)

O objetivo final da bioimpressão tridimensional passa pela regeneração de tecidos e órgãos artificiais para a completa reconstrução de órgãos lesados e pela oferta de oportunidades para avançar no entendimento de patologias complexas e desenvolver tratamentos personalizados. (20)

Não obstante, desafios éticos, sociais e regulamentares devem ser abordados para uma transição bem-sucedida desta tecnologia para o mercado. Atualmente, já existem estudos que demonstrem a viabilidade da técnica, no entanto, apenas o fazem in vitro. Tecidos produzidos por esta técnica ainda não se encontram amplamente disponíveis no mercado. (11,13)

Apesar dos consideráveis avanços, garantir a viabilidade das células encapsuladas em biotintas e protegê-las contra danos durante o processo de impressão requer o desenvolvimento de novas formulações de tintas, a exploração de novas fontes de células e a implementação de tecnologias de impressão mais avançadas. Como resultado, torna-se imperativo estabelecer métodos de normalização e controle de qualidade para avançar nessa área. (4)

Apesar de tudo isto, olhando para o futuro, podem antecipar-se avanços tecnológicos na capacidade de impressão de múltiplos tecidos, de múltiplas camadas, e na utilização da bioimpressão na reconstrução composta tridimensional, substituindo as técnicas atuais. A bioimpressão tridimensional está em constante evolução e promete converter a ideia da produção de órgãos complexos feitos à medida e especificamente para o paciente numa realidade, oferecendo potencial acesso a tratamentos inovadores em todos os estadios dos seus cuidados de saúde. (5)

8. Referências Bibliográficas

1. Yang P, Ju Y, Hu Y, Xie X, Fang B, Lei L. Emerging 3D bioprinting applications in plastic surgery. *Biomater Res.* 2023 Jan 3;27(1):1. doi: 10.1186/s40824-022-00338-7.
2. Salah M, Tayebi L, Moharamzadeh K, Naini FB. Three-dimensional bio-printing and bone tissue engineering: technical innovations and potential applications in maxillofacial reconstructive surgery. *Maxillofac Plast Reconstr Surg.* 2020 Jun 3;42(1):18. doi: 10.1186/s40902-020-00263-6
3. Kamali P, Dean D, Skoracki R, Koolen PGL, Paul MA, Ibrahim AMS, Lin SJ. The Current Role of Three-Dimensional Printing in Plastic Surgery. *Plast Reconstr Surg.* 2016 Mar;137(3):1045-1055. doi: 10.1097/01.prs.0000479977.37428.8e.
4. Matai I, Kaur G, Seyedsalehi A, McClinton A, Laurencin CT. Progress in 3D bioprinting technology for tissue/organ regenerative engineering. *Biomaterials.* 2020 Jan;226:119536. doi: 10.1016/j.biomaterials.2019.119536. Epub 2019 Oct 11.
5. Park HI, Lee JH, Lee SJ. The comprehensive on-demand 3D bio-printing for composite reconstruction of mandibular defects. *Maxillofac Plast Reconstr Surg.* 2022 Oct 4;44(1):31. doi: 10.1186/s40902-022-00361-7.
6. Steinbacher DM. Three-Dimensional Analysis and Surgical Planning in Craniomaxillofacial Surgery. *J Oral Maxillofac Surg.* 2015 Dec;73(12 Suppl):S40-56. doi: 10.1016/j.joms.2015.04.038.
7. Jovic TH, Combella EJ, Jessop ZM, Whitaker IS. 3D Bioprinting and the Future of Surgery. *Front Surg.* 2020 Nov 27;7:609836. doi: 10.3389/fsurg.2020.609836.
8. Ghantous Y, Nashef A, Mohanna A, Abu-El-Naaj I. Three-Dimensional Technology Applications in Maxillofacial Reconstructive Surgery: Current Surgical Implications. *Nanomaterials (Basel).* 2020 Dec 16;10(12):2523. doi: 10.3390/nano10122523.
9. Ghai S, Sharma Y, Jain N, Satpathy M, Pillai AK. Use of 3-D printing technologies in craniomaxillofacial surgery: a review. *Oral Maxillofac Surg.* 2018 Sep;22(3):249-259. doi: 10.1007/s10006-018-0704-z. Epub 2018 May 25.
10. Sigaux N, Pourchet L, Breton P, Brosset S, Louvrier A, Marquette CA. 3D Bioprinting: principles, fantasies and prospects. *J Stomatol Oral Maxillofac Surg.* 2019 Apr;120(2):128-132. doi: 10.1016/j.jormas.2018.12.014. Epub 2019 Jan 1.

11. Jessop ZM, Al-Sabah A, Gardiner MD, Combellack E, Hawkins K, Whitaker IS. 3D bioprinting for reconstructive surgery: Principles, applications and challenges. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2017 Sep;70(9):1155-1170. doi: 10.1016/j.bjps.2017.06.001. Epub 2017 Jun 9.
12. Jacobs CA, Lin AY. A New Classification of Three-Dimensional Printing Technologies: Systematic Review of Three-Dimensional Printing for Patient-Specific Craniomaxillofacial Surgery. *Plast Reconstr Surg.* 2017 May;139(5):1211-1220. doi: 10.1097/PRS.0000000000003232.
13. Vijayavenkataraman S, Yan WC, Lu WF, Wang CH, Fuh JYH. 3D bioprinting of tissues and organs for regenerative medicine. *Adv Drug Deliv Rev.* 2018 Jul;132:296-332. doi: 10.1016/j.addr.2018.07.004. Epub 2018 Jul 7.
14. Dwivedi R, Mehrotra D. 3D bioprinting and craniofacial regeneration. *J Oral Biol Craniofac Res.* 2020 Oct-Dec;10(4):650-659. doi: 10.1016/j.jobcr.2020.08.011. Epub 2020 Aug 14.
15. Mladenovska T, Choong PF, Wallace GG, O'Connell CD. The regulatory challenge of 3D bioprinting. *Regen Med.* 2023 Aug;18(8):659-674. doi: 10.2217/rme-2022-0194. Epub 2023 Jul 5.
16. Capriellova YJ. Flaps in reconstructive surgery. *International Surgery Journal.* 2022;9(9):1668. Doi: <https://doi.org/10.18203/2349-2902.isj20222061>
17. Keyhan SO, Ghanean S, Navabazam A, Khojasteh A, Iranag MHA. Three-Dimensional Printing: A Novel Technology for Use in Oral and Maxillofacial Operations. In: *A Textbook of Advanced Oral and Maxillofacial Surgery Volume 3.* InTech; 2016.
18. Dhawan A, Kennedy PM, Rizk EB, Ozbolat IT. Three-dimensional bioprinting for bone and cartilage restoration in orthopaedic surgery. *Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons.* 2019 Mar 1;27(5):E215–26.
19. Antony AK, Chen WF, Kolokythas A, Weimer KA, Cohen MN. Use of virtual surgery and stereolithography-guided osteotomy for mandibular reconstruction with the free fibula. *Plast Reconstr Surg.* 2011 Nov;128(5):1080-1084. doi: 10.1097/PRS.0b013e31822b6723.
20. Zhang Y, Zhou D, Chen J, Zhang X, Li X, Zhao W, Xu T. Biomaterials Based on Marine Resources for 3D Bioprinting Applications. *Mar Drugs.* 2019 Sep 28;17(10):555. doi: 10.3390/md17100555.

21. Fahmy MD, Jazayeri HE, Razavi M, Masri R, Tayebi L. Three-Dimensional Bioprinting Materials with Potential Application in Preprosthetic Surgery. *J Prosthodont*. 2016 Jun;25(4):310-8. doi: 10.1111/jopr.12431. Epub 2016 Feb 8.
22. Mishra A, Srivastava V. Biomaterials and 3D printing techniques used in the medical field. *J Med Eng Technol*. 2021 May;45(4):290-302. doi: 10.1080/03091902.2021.1893845. Epub 2021 Apr 30.
23. Rwik S. Recreating the Face - A Mini-Review of Current Studies on 3D Bioprinting in Oral and Maxillofacial Surgery. *Archives of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2020 Dec 31;3(1):86-9.
24. Baldwin P, Li DJ, Auston DA, Mir HS, Yoon RS, Koval KJ. Autograft, Allograft, and Bone Graft Substitutes: Clinical Evidence and Indications for Use in the Setting of Orthopaedic Trauma Surgery. *J Orthop Trauma*. 2019 Apr;33(4):203-213. doi: 10.1097/BOT.0000000000001420.
25. Bar-Meir E, Mendes D, Winkler E. Skin substitutes. *Isr Med Assoc J*. 2006 Mar;8(3):188-91.
26. Yashavanth Kumar DS, Christopher SD, Mallegowda H, Dave V, Gulia SK, Bhanot R. Three-dimensional printing in the field of oral and maxillofacial surgery. *Natl J Maxillofac Surg*. 2022 Aug;13(Suppl 1):S19-S23. doi: 10.4103/njms.NJMS_43_20. Epub 2022 Aug 20.
27. Tack P, Victor J, Gemmel P, Annemans L. 3D-printing techniques in a medical setting: a systematic literature review. *Biomed Eng Online*. 2016 Oct 21;15(1):115. doi: 10.1186/s12938-016-0236-4.
28. Hsieh TY, Dedhia R, Cervenka B, Tollefson TT. 3D Printing: current use in facial plastic and reconstructive surgery. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*. 2017 Aug;25(4):291-299. doi: 10.1097/MOO.0000000000000373.
29. Cunningham LL Jr, Madsen MJ, Peterson G. Stereolithographic modeling technology applied to tumor resection. *J Oral Maxillofac Surg*. 2005 Jun;63(6):873-8. doi: 10.1016/j.joms.2005.02.027.
30. Mehra P, Miner J, D'Innocenzo R, Nadershah M. Use of 3-d stereolithographic models in oral and maxillofacial surgery. *J Maxillofac Oral Surg*. 2011 Mar;10(1):6-13. doi: 10.1007/s12663-011-0183-3. Epub 2011 Mar 4.

31. Jacobo OM, Giachero VE, Hartwig DK, Mantrana GA. Three-dimensional printing modeling: application in maxillofacial and hand fractures and resident training. *Eur J Plast Surg.* 2018 Apr 1;41(2):137–46.
32. Gerstle TL, Ibrahim AMS, Kim PS, Lee BT, Lin SJ. A plastic surgery application in evolution: three-dimensional printing. *Plast Reconstr Surg.* 2014 Feb;133(2):446-451. doi: 10.1097/01.prs.0000436844.92623.d3.
33. Dumas BM, Nava A, Law HZ, Smartt J, Derderian C, Seaward JR, Kane AA, Hallac RR. Three-Dimensional Printing for Craniofacial Surgery: A Single Institution's 5-Year Experience. *Cleft Palate Craniofac J.* 2019 Jul;56(6):729-734. doi: 10.1177/1055665618798292. Epub 2018 Sep 10.
34. Louvrier A, Marty P, Barrabé A, Euvrard E, Chatelain B, Weber E, Meyer C. How useful is 3D printing in maxillofacial surgery? *J Stomatol Oral Maxillofac Surg.* 2017 Sep;118(4):206-212. doi: 10.1016/j.jormas.2017.07.002. Epub 2017 Jul 18.
35. Diment LE, Thompson MS, Bergmann JHM. Clinical efficacy and effectiveness of 3D printing: a systematic review. *BMJ Open.* 2017 Dec 21;7(12):e016891. doi: 10.1136/bmjopen-2017-016891.
36. Amundson M, Newman M, Cheng A, Khatib B, Cuddy K, Patel A. Three-Dimensional Computer-Assisted Surgical Planning, Manufacturing, Intraoperative Navigation, and Computed Tomography in Maxillofacial Trauma. *Atlas Oral Maxillofac Surg Clin North Am.* 2020 Sep;28(2):119-127. doi: 10.1016/j.cxom.2020.05.006. Epub 2020 Jul 8.
37. VSP Craniomaxillofacial Solutions [internet]. 3D Systems. 2021. [cited 2023 Nov 14] Available from: <https://www.3dsystems.com/healthcare/craniomaxillofacial-solutions?ind=medical>
38. PCL Bone Scaffold – Bellaseno | Restoring health [Internet] [cited 2023 Nov 14]. Available from: <https://www.bellaseno.com/products/pcl-bone-scaffold/>
39. Chang DK, Louis MR, Gimenez A, Reece EM. The Basics of Integra Dermal Regeneration Template and its Expanding Clinical Applications. *Semin Plast Surg.* 2019 Aug;33(3):185-189. doi: 10.1055/s-0039-1693401. Epub 2019 Aug 2.
40. Stephan S, Reinisch J. Auricular Reconstruction Using Porous Polyethylene Implant Technique. *Facial Plast Surg Clin North Am.* 2018 Feb;26(1):69-85. doi: 10.1016/j.fsc.2017.09.009.

41. Radel PPSU (Polyphenylsulfone) | 3D Systems [Internet] [cited 2023 Nov 14]. Available from: <https://www.3dsystems.com/materials/radel-ppsu>
42. Ali S, Abdel Aziz O, Ahmed M. Patient-specific PEEK implants for immediate restoration of temporal fossa after maxillary reconstruction with temporalis muscle flap. *Maxillofac Plast Reconstr Surg.* 2022 May 7;44(1):20. doi: 10.1186/s40902-022-00348-4.
43. Visscher DO, Farré-Guasch E, Helder MN, Gibbs S, Forouzanfar T, van Zuijlen PP, Wolff J. Advances in Bioprinting Technologies for Craniofacial Reconstruction. *Trends Biotechnol.* 2016 Sep;34(9):700-710. doi: 10.1016/j.tibtech.2016.04.001. Epub 2016 Apr 21.
44. Aljohani W, Ullah MW, Zhang X, Yang G. Bioprinting and its applications in tissue engineering and regenerative medicine. *Int J Biol Macromol.* 2018 Feb;107(Pt A):261-275. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.08.171. Epub 2017 Sep 21.
45. Hong N, Yang GH, Lee J, Kim G. 3D bioprinting and its in vivo applications. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2018 Jan;106(1):444-459. doi: 10.1002/jbm.b.33826. Epub 2017 Jan 20.
46. Gupta N, Agarwal S. Three-Dimensional Bioprinting: Role in Craniomaxillary Surgery Ethics and Future. *J Craniofac Surg.* 2020 Jun;31(4):1114-1116. doi: 10.1097/SCS.0000000000006553.
47. Kang HW, Lee SJ, Ko IK, Kengla C, Yoo JJ, Atala A. A 3D bioprinting system to produce human-scale tissue constructs with structural integrity. *Nat Biotechnol.* 2016 Mar;34(3):312-9. doi: 10.1038/nbt.3413. Epub 2016 Feb 15.
48. Moncal KK, Gudapati H, Godzik KP, Heo DN, Kang Y, Rizk E, Ravnicek DJ, Wee H, Pepley DF, Ozbolat V, Lewis GS, Moore JZ, Driskell RR, Samson TD, Ozbolat IT. Intra-Operative Bioprinting of Hard, Soft, and Hard/Soft Composite Tissues for Craniomaxillofacial Reconstruction. *Adv Funct Mater.* 2021 Jul 16;31(29):2010858. doi: 10.1002/adfm.202010858. Epub 2021 Apr 22.
49. Zhu W, Ma X, Gou M, Mei D, Zhang K, Chen S. 3D printing of functional biomaterials for tissue engineering. *Curr Opin Biotechnol.* 2016 Aug;40:103-112. doi: 10.1016/j.copbio.2016.03.014. Epub 2016 Apr 1.
50. Pearson RG, Bhandari R, Quirk RA, Shakesheff KM. Recent Advances in Tissue Engineering. *J Long Term Eff Med Implants.* 2017;27(2-4):199-231. doi: 10.1615/JLongTermEffMedImplants.v27.i2-4.70.

51. Meglioli M, Naveau A, Macaluso GM, Catros S. 3D printed bone models in oral and cranio-maxillofacial surgery: a systematic review. *3D Print Med.* 2020 Oct 20;6(1):30. doi: 10.1186/s41205-020-00082-5. Erratum in: *3D Print Med.* 2020 Dec 2;6(1):36.