

FABRICAÇÃO DE *ORGAN-ON-A-CHIP* POR IMPRESSÃO 3D

Ana Carolina Gava de Barros da Silveira

Manoel de Jesus de Aquino Lima, Thiago Nunes Palhares

Emanuel Carrilho

Universidade de São Paulo

anagava2013@usp.br

Objetivos

O desenvolvimento de dispositivos de sistemas microfluídicos de baixo custo empregando a impressão 3D para construção de *organ-on-a-chip* (OoC) é considerada uma estratégia inovadora. Os OoCs surgem como uma alternativa de estudo nos quais as células podem ser cultivadas em microambientes fluídicos semelhantes às condições *in vivo* (Urbaczek, A.C. et al, 2017; Huh, D. et al., 2012). Dessa forma, esse projeto tem como objetivo desenvolver dispositivos microfluídicos biocompatíveis de baixo custo empregando o uso da impressão 3D para construção de moldes dos chips que serão aplicados no estudo de *organ-on-a-chip*.

Métodos e Procedimentos

O desenvolvimento inicial se deu através da aplicação de técnicas de fabricação por impressão em 3D por meio da tecnologia de Modelagem por Fusão e Deposição (FDM) com PLA (poliácido lático) e PETG (polietileno tereftalato glicol), de acordo com o demonstrado pela **Figura 1**.

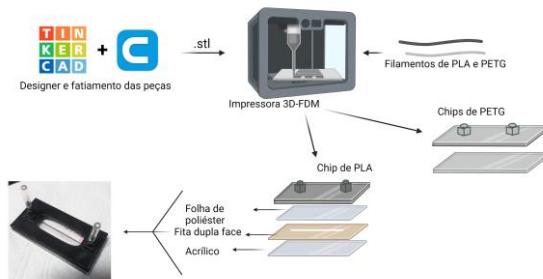


Figura 1. Fluxograma para exemplificar o processo de construção de chips com auxílio da impressão em 3D-FDM.

Em seguida, uma impressora 3D em resina (MSLA, iluminada seletivamente por baixo com um display LCD) foi empregada para a confecção de um molde para o sistema fluídico, que posteriormente foi preenchido com polímero PDMS (dimetil polissiloxano), os detalhes da montagem do chip são apresentados na **Figura 2**.

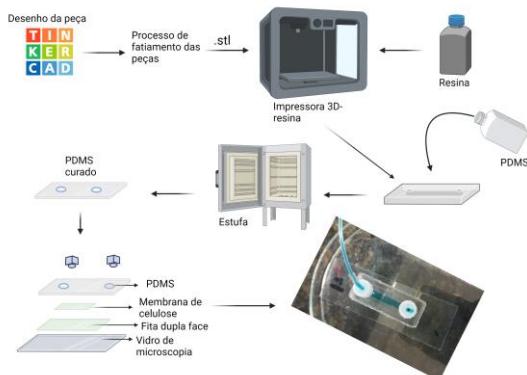


Figura 2. Processo de produção do chip com auxílio da forma impressa em 3D e outros materiais biocompatíveis.

Quando prontos, esses materiais foram unidos com auxílio de uma fita dupla face, acrílico (1 mm) e/ou lâminas de vidro para microscopia, para formar um sistema microfluídico. Uma membrana para facilitar a adesão das células no canal foi adicionada e *plugs* para entrada e saída dos fluídos foram conectados.

Resultados

O custo elevado da aquisição dos materiais específicos ou confecção destes dispositivos podem limitar sua aplicação e estudo em laboratório sem infraestrutura de alta resolução.

Dessa forma, os ensaios abaixo apresentam dispositivos microfluídicos impressos em 3D usando a técnica de FDM e de resina (DLP), visando a obtenção de chips microfabricados e de baixo custo para aplicações ligadas ao desenvolvimento de OoC.

Inicialmente, através do uso da técnica de FDM com dois tipos diferentes de filamentos para extrusão, PLA e PETG, foi construído dois protótipos (**Figura 3**), na qual ambos apresentaram problemas específicos. O chip em PETG não apresentou a transparência desejada e a superfície rugosa e porosa promovia vazamento constante. Já o chip construído em PLA-poliéster-dupla face constatou-se a ocorrência de vazamento para fora do canal microfluídico devido às ranhuras na superfície de PLA.

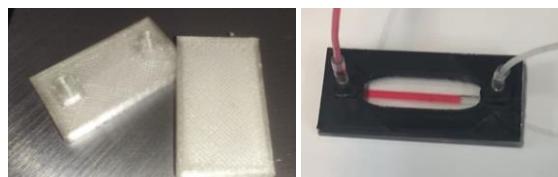


Figura 3. À esquerda está representada a parte superior e inferior de um chip impresso com a técnica FDM com o PETG natural translúcido e a direita, o chip impresso com uma camada em PLA.

Para superar estes inconvenientes, foi empregada uma impressora de resina (MSLA) que forneceu peças praticamente sem ranhuras. Por isso, foi traçado uma nova estratégia para construção de OoC a partir da impressão de um molde, onde depositou-se o PDMS que serviu de estrutura base para o chip. Em seguida, a peça de PDMS contendo o canal fluídico foi unida a uma lâmina de vidro aplicando-se tratamento com plasma-corona, onde encontrava-se colados uma fita dupla face e membrana de celulose. Então, os plugs de entrada e saída do canal foram conectados (**Figura 4**) e o chip foi submetido a testes de vazamento para verificar a vedação das camadas e a princípio, não houve vazamentos. Dessa forma, os resultados desta segunda estratégia foram melhores que os anteriores. Novos ensaios estão sendo conduzidos para otimizar as dimensões do canal microfluídico, seguido pelos ensaios de cultivo com células Caco-2 em condição dinâmica.



Figura 4. Chip construído de PDMS a partir de um molde obtido a partir de uma impressora 3D de resina.

Conclusões

Com estes resultados, percebeu-se que são necessários ajustes e algumas otimizações específicas no processo de montagem dos OoC. Ademais, um cuidado adicional deve ser dado aos ensaios de vazamento, que visam avaliar a completa vedação do sistema microfluídico. Neste sentido, a proposta empregando o PDMS na construção do chip obteve sucesso, sem perder de vista o baixo custo. A rápida produção destes chips pode garantir uma matriz viável para emprego em ensaios envolvendo OoC. O cultivo de células Caco-2 em condições dinâmicas já está sendo preparados em garrafas de cultura celular, em um meio apropriado que simula as condições naturais e as mesmas, serão inseridas no dispositivo desenvolvido.

Referências Bibliográficas

Urbaczek, A.C., Leão, P.A.G.C., Souza, F.Z.R.d. et al. Endothelial Cell Culture Under Perfusion On A Polyester-Toner Microfluidic Device. *Sci Rep* 7, 10466 (2017).

Huh, D., Torisawa, Y., Hamilton, G. A., Kim, H. J. & Ingber, D. E. Microengineered physiological biomimicry: organs-on-chips. *Lab Chip* 12, 2156–2164 (2012).