



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz



ESCOLA POLITÉCNICA DE SAÚDE
JOAQUIM VENÂNCIO

Beatriz de Araujo Mendes da Silva

ÓRGÃOS-EM-CHIP: uma ferramenta inovadora para testes pré-clínicos

Rio de Janeiro

2023

Beatriz de Araujo Mendes da Silva

ÓRGÃOS-EM-CHIP: uma ferramenta inovadora para testes pré-clínicos

Monografia apresentada à Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio – Fundação Oswaldo Cruz (EPSJV-Fiocruz) como requisito parcial para aprovação no Curso Técnico em Biotecnologia.

Orientador(a): Dra. Carolina Lessa Aquino

Rio de Janeiro

2023

Beatriz de Araujo Mendes da Silva

ÓRGÃOS-EM-CHIP: uma ferramenta inovadora para testes pré-clínicos

Monografia apresentada à Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio – Fundação Oswaldo Cruz (EPSJV-Fiocruz) como requisito parcial para aprovação no Curso Técnico em Biotecnologia.

Aprovado em __/__/__.

BANCA EXAMINADORA

Dra. Carolina Lessa Aquino
EPSJV/FIOCRUZ

Fernando de Paiva Conte
EPSJV/FIOCRUZ

Ana Carolina Reis Albuquerque Cajaraville
BIO-MANGUINHOS/FIOCRUZ

Rio de Janeiro

2023

AGRADECIMENTOS

Expresso minha sincera gratidão a todos que contribuíram para a realização deste trabalho: Agradeço primeiramente a Deus, por todo apoio e tranquilidade durante todo esse período. A forma como o Senhor me guia e me possibilita passar por essas experiências é inexplicável.

À minha família e amigos, pelo apoio inabalável, compreensão e incentivo constante. Suas palavras de ânimo, encorajamento e confiança foram importantes para completar esse processo.

À minha orientadora Carolina Lessa Aquino, pela orientação dedicada e valiosas sugestões que enriqueceram este estudo, assim como contribuições críticas que moldaram positivamente este trabalho. Seus apontamentos e experiência foram fundamentais para o desenvolvimento das ideias apresentadas.

À Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio – Fundação Oswaldo Cruz (EPSJV-Fiocruz) pelo apoio institucional. Sempre levarei os aprendizados e experiências adquiridas durante todos esses anos.

Agradeço também a todas as fontes e autores que forneceram os fundamentos teóricos essenciais para esta pesquisa.

Este trabalho não teria sido possível sem a colaboração e apoio de todos vocês. Obrigado por fazerem parte desta jornada acadêmica.

*“Quem dorme sonha,
quem estuda
conquista”
(Jorge Santos – CPG)*

RESUMO

Nas últimas décadas, a cultura de células tem se destacado como uma ferramenta fundamental no campo de pesquisas científicas, permitindo o estudo do comportamento celular fora do organismo e oferecendo um modelo experimental valioso para os testes pré-clínicos. Esse processo vem impulsionando o desenvolvimento de métodos alternativos, como os órgãos-em-chip. Dessa forma, este trabalho tem como objetivo geral compreender o uso da técnica de órgãos-em-chip em testes pré-clínicos. O trabalho apresenta como objetivos específicos analisar os princípios de cultivo celular *in vitro* e explorar sua aplicação em ensaios pré-clínicos, estudar a tecnologia por trás da técnica de órgãos-em-chip, investigando sua evolução e sua aplicabilidade e, por fim, explorar o potencial da aplicação do método órgãos-em-chip em ensaios pré-clínicos. Para alcançar o objetivo proposto, foi realizada uma revisão da literatura baseada em uma metodologia qualitativa, com análise de documentos e revisões bibliográficas, utilizando como principais fontes de busca o Google Acadêmico, SciELO e Science.gov, utilizando um recorte temporal de 15 anos de publicação. Durante a escrita do trabalho, inicialmente é apresentado um histórico do avanço tecnológico do cultivo celular, desde os primeiros experimentos *in vitro* até as principais aplicações atualmente. Em seguida, é destacado o uso de culturas de células como um método alternativo à experimentação animal, amplamente utilizado nos testes pré-clínicos, assim como características dessa tecnologia. Por fim, é apresentado o método órgãos-em-chip como um procedimento promissor para avaliar a dinâmica de células de tecido humano em um ambiente artificialmente tridimensional, com a capacidade de replicar com precisão o microambiente dos órgãos humanos, permitindo a observação de reações e interações celulares mais realistas, auxiliando também para reduzir o uso animal no meio científico. Como considerações gerais, podemos concluir que o método apresenta grande potencial durante os ensaios pré-clínicos, contribuindo também no processo de desenvolvimento tecnológico, pesquisas de fármacos e biofármacos, estudos de doenças e medicina personalizada. Apesar das limitações, esta técnica apresenta inúmeras vantagens e oferece um futuro promissor na pesquisa científica e biomédica.

Palavras-chave: Órgãos-em-chip; testes pré-clínicos; cultivo celular.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|--|----|
| Figura 1 – Desenho Ilustrativo de Células Aderentes em cultura | 26 |
| Figura 2 – Imagem de Células Aderentes | 26 |
| Figura 3 – Desenho Ilustrativo de Células cultivadas em Suspensão | 27 |
| Figura 4 – Imagem de Células em Suspensão | 28 |
| Figura 5 – Desenho Ilustrativo do Cultivo Celular Tridimensional | 29 |
| Figura 6 – Imagem de exemplo de Organoides | 30 |
| Figura 7 – Imagem de exemplo de Esferoides | 31 |
| Figura 8 – Desenho Ilustrativo de Órgãos-em-chip e Humano-em-chip | 33 |
| Figura 9 – Desenho Ilustrativo Explicativo Resumido do processo de Formação de Chips | 35 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

2D – Bidimensional

3D – Tridimensional

ATCC – do inglês, *American Type Culture Collection*

CAMs – Moléculas de Adesão Celular (do inglês, *Cell Adhesion Molecules*)

CNPEM – Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais

CONCEA – Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal

CO₂ – Dióxido de carbono

DNA – Ácido Desoxirribonucleico (do inglês, *DeoxyriboNucleic Acid*)

FDA – do inglês, *Food and Drug Administration*

HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana (do inglês, *Human Immuno-Deficiency Virus*)

HPV – Papilomavírus Humano (do inglês, *Human Papiloma Virus*)

IEEE – Instituto de Engenheiros Eletricistas e Eletrônicos

LNBio – Laboratório Nacional de Biociências

MEC – Matriz Extracelular

MIT – do inglês, *Massachusetts Institute of Technology*

OMS – Organização Mundial da Saúde

OOAC – Órgãos-em-chip (do inglês, *Organs-on-a-Chip*)

PC – Policarbonato

PDMS – Poli-Dimetilsiloxano

PMMA – Poli-metil metacrilato

UV – Ultravioleta

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 16 |
| 1.1. OBJETIVOS | 19 |
| 1.1.1. Objetivo geral | 19 |
| 1.1.2. Objetivos específicos | 19 |
| 2. METODOLOGIA DO PROJETO | 20 |
| 3. CULTIVO CELULAR | 21 |
| 3.1. HISTÓRICO DO CULTIVO CELULAR | 21 |
| 3.2. TIPOS DE CULTURA DE CÉLULAS | 23 |
| 3.2.1. Cultura primária, linhagem celular contínua e células transformadas | 23 |
| 3.2.2. Células aderentes, células em suspensão e cultivo celular tridimensional | 25 |
| 4. METODOLOGIA ÓRGÃOS-EM-CHIP | 32 |
| 4.1. PRINCIPAIS COMPONENTES E CARACTERÍSTICAS | 32 |
| 4.1.1. Visão geral | 32 |
| 4.1.2. Estrutura e tecnologia dos OOAC | 34 |
| 5. ÓRGÃOS-EM-CHIP E SUAS APLICAÇÕES | 38 |
| 5.1. APLICAÇÕES PRÁTICAS | 38 |
| 5.1.1. Desenvolvimento, pesquisas e teste de medicamentos | 38 |
| 5.1.2. Toxicidade, segurança e redução de testes em animais | 38 |
| 5.1.3. Estudos de doenças, mecanismos biológicos e medicina personalizada | 38 |
| 5.2. DESAFIOS E PANORAMAS FUTUROS | 39 |
| 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS | 41 |
| REFERÊNCIAS | 42 |

1. INTRODUÇÃO

A tecnologia de cultivo celular foi desenvolvida para estudar o comportamento das células fora do corpo de um animal em um ambiente *in vitro* (ALVES; GUIMARÃES, 2010).

No final do século XIX, Sydney Ringer realizou uma das primeiras tentativas de manter células vivas e funcionais fora do corpo humano ao criar um soro fisiológico contendo magnésio, potássio, cálcio e cloreto de sódio, visando preservar os batimentos de um coração isolado (RESENDE; SOCCOL, 2015). Em 1961, Hayflick e Moorhead propuseram uma teoria revolucionária no estudo de senescência celular¹, o fenômeno “Limite de Hayflick”, o qual consiste em um limite da capacidade de divisão de células humanas (MIGITA, 2012).

No cultivo celular, as células perdem gradativamente suas características originais, na medida em que se adaptam ao ambiente *in vitro*, o qual difere do ambiente natural. É um modelo fisiológico que, em certo sentido, contradiz a realidade, mas mantém suas vantagens como um método experimental valioso. Esse método oferece benefícios econômicos significativos e é uma possível alternativa à experimentação animal. Além disso, podem ser empregadas outras opções de métodos substitutos ou que possam possivelmente reduzir a utilização animal para esses fins, como, por exemplo, o uso de linhagens de células humanas, contribuindo não apenas para os testes pré-clínicos, mas também desempenha um papel crucial nas etapas de produção de medicamentos, fármacos, imunobiológicos, entre outros (ALVES e GUIMARÃES, 2010; M.C. Silva, 2020).

Os ensaios pré-clínicos têm como objetivo avaliar uma molécula para ser um novo medicamento ou uma nova vacina. Assim, deve-se observar o efeito causado no organismo, sendo cautelosamente realizados primeiramente testes *in vitro* e *in vivo*, através de modelos experimentais, antes dos ensaios envolvendo seres humanos. Isso garante a segurança do fármaco de modo a identificar os efeitos colaterais, toxicidade, entre outros efeitos não desejáveis antes do seu uso na população alvo. Para que surja um novo produto para utilização em humanos, é de extrema importância que os testes pré-clínicos apresentem resultados confiáveis para que, a partir de uma avaliação adequada, o produto possa ser disponibilizado para os testes em seres humanos (MENDONÇA, [s.d.]).

¹ Estado de parada irreversível do ciclo celular de células saudáveis após um limite no seu número de divisão. Ocorre como uma resposta de proteção e prevenção do crescimento descontrolado das células.

Dessa forma, para maior segurança, são realizadas algumas etapas durante os estudos pré-clínicos. Primeiramente, antes de testes físicos, os pesquisadores passam por uma fase de pesquisa básica, muitas vezes utilizando o auxílio de análises computacionais, *in silico*, em que buscam por compostos promissores para o tratamento de doenças. Através de várias abordagens tecnológicas, são selecionados para a identificação da molécula alvo. Em seguida, são realizados experimentos em um ambiente controlado, *in vitro*, para que possam ser estudados os efeitos em células ou moléculas. Por fim, caso resultados dos procedimentos anteriores sejam promissores, é permitido o estudo em animais de experimentação como, por exemplo, ratos e camundongos (CÂMARA, 2022; PIERONI *et al.*, [s.d.]).

Os testes pré-clínicos realizados em animais como modelos experimentais geram debates sobre os procedimentos aos quais esses animais são submetidos ao longo de sua contribuição no meio científico e medicinal (SILVA; CORRÊA, 2020). Além de o seu uso ser extremamente necessário para que haja avanços científicos, é importante ressaltar que, além de questões éticas e de bem-estar animal, o uso de animais como modelos experimentais também apresenta limitações científicas. De acordo com a *Food and Drug Administration* (FDA), cerca de 92% dos medicamentos testados em animais falham ao serem aplicados em humanos, evidenciando como humanos e animais podem responder de forma diferente a um mesmo tratamento (PROFISSÃO BIOTEC, 2019).

Nesse contexto, o desenvolvimento de métodos alternativos à experimentação animal tem se mostrado uma abordagem promissora, oferecendo inúmeras vantagens e com o potencial de reduzir ou, idealmente, substituir o uso de animais em pesquisas científicas e ensaios pré-clínicos (PROFISSÃO BIOTEC, 2019). Sendo assim, iniciativas que busquem reduzir o uso de animais em pesquisas e desenvolvimento de novos produtos são fundamentais para garantir o avanço científico de forma ética e responsável, aliando o progresso da ciência com a proteção do meio ambiente e dos direitos dos animais.

Um passo importante para essas alternativas foi a proibição de experimentação animal em ensaios de segurança quando houver uma alternativa para tais procedimentos, conforme definido pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). Iniciativas como a da EPISKIN, uma empresa global e pioneira na área de pesquisa e desenvolvimento de métodos alternativos, incentivam o movimento de metodologias alternativas, promovendo a ética e mantendo a eficácia de testes de produtos cosméticos e farmacêuticos. A EPISKIN atua

principalmente na produção de modelos de pele reconstruída para fins de testes de produtos, destacando-se por sua abordagem inovadora na redução da experimentação animal, sendo acessíveis à comunidade científica e a diferentes setores, como cosméticos, farmacêuticos e agroquímicos (EPISKIN... 2019).

Um número crescente de metodologias alternativas ao uso de animais em ensaios pré-clínicos vêm sendo desenvolvidas, entre elas, um microchip desenvolvido a partir de células de tecido humano que possibilita estudar a dinâmica celular dos órgãos criando um microambiente tridimensional. Essa nova tecnologia é chamada de órgãos-em-chip, também conhecida como OOAC, e utiliza um substrato flexível para mimetizar a fisiologia do organismo com o objetivo de refinar os resultados e diminuir a utilização de animais de laboratório (CALDAS, 2012; FRAGELLI, GEBARA e PECORARI, 2015; PROFISSÃO BIOTEC, 2019).

Compreender o potencial dos órgãos-em-chip nos testes pré-clínicos é de grande importância, pois além de contribuir para a redução do uso de animais em experimentos, como por exemplo, ratos, camundongos, coelhos e até mesmo primatas, essa abordagem oferece a possibilidade de realizar estudos mais precisos e robustos, permitindo a avaliação celular e de tecidos de maneira mais próxima da realidade fisiológica humana (CALDAS, 2012; (PROFISSÃO BIOTEC, 2019).

Nesse sentido, com os avanços tecnológicos e medicinais dos últimos anos, bem como a pandemia da COVID-19 e a publicação no Diário Oficial da União em que o CONCEA estabeleceu a resolução N° 58, de 24 de fevereiro de 2023, declarando que além dos seres humanos, é proibida a utilização de qualquer outro animal vertebrado para fins de pesquisas científicas, controle e desenvolvimento de produtos de higiene pessoal, perfume e cosmético que utilizam compostos com segurança e eficácia já comprovados cientificamente, tornaram notória a importância da exploração de ensaios pré-clínicos cada vez mais capazes e eficazes para a fabricação de vacinas, medicamentos, estudo de doenças, entre outros. Desse modo, é importante destacar a necessidade cada vez maior de realizar estudos com o propósito de apresentar informações que auxiliam no entendimento sobre estes temas recentes no meio científico.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1. Objetivo geral

Compreender o potencial de aplicação da metodologia de órgãos-em-chip em testes pré-clínicos.

1.1.2. Objetivos específicos

- 1) Analisar os princípios de cultivo celular *in vitro* e explorar sua aplicação em ensaios pré-clínicos;
- 2) Estudar a tecnologia por trás da técnica de órgãos-em-chip, investigando sua evolução e aplicabilidade;
- 3) Explorar o potencial da aplicação do método órgãos-em-chip em ensaios pré-clínicos.

2. METODOLOGIA DO PROJETO

Neste projeto foi realizada uma revisão de literatura com uma abordagem qualitativa, de modo descritivo, aplicando métodos de análise de documentos e revisões bibliográficas com a finalidade de investigar o potencial do método órgãos-em-chip em testes pré-clínicos.

Foi empregada, como estratégia de pesquisa, revisões literárias através de artigos e autores de referência no tema, utilizando como fontes de busca as plataformas Google Acadêmico, SciELO, Science.gov, assim como plataformas que auxiliam nesse requisito. As palavras-chave são “órgãos-em-chip” (em inglês, *organs-on-a-chip/human-on-a-chip*), “testes pré-clínicos” (em inglês, *pre-clinical tests*) e “cultivo celular” (em inglês, *cell culture*).

Para avaliar a qualidade dos documentos encontrados e a abordagem utilizada na análise e interpretação das informações transmitidas, as fontes foram selecionadas com base no título e no resumo disponível, utilizando um recorte temporal de 15 anos de publicação. Em relação às referências que não apresentam o ano de publicação, é avaliado a qualidade e confiabilidade das informações com base nas referências apresentadas na literatura ou com base na reputação da organização responsável com base nas informações necessárias.

3. CULTIVO CELULAR

3.1. HISTÓRICO DO CULTIVO CELULAR

A tecnologia de cultura celular foi desenvolvida com o objetivo de estudar o comportamento das células fora do corpo de um animal em um ambiente controlado. As experiências iniciais foram realizadas por incubação de tecido rompido mecanicamente em frascos contendo fluidos corporais do animal do qual o tecido foi derivado (ALVES; GUIMARÃES, 2010).

A base para o início da tentativa de manter células vivas e funcionais fora do corpo humano se deu no final do século XIX, quando Sydney Ringer reaplicou os batimentos cardíacos no sistema sanguíneo através da análise de vários níveis de eletrólitos (BISWAS; MCNERNEY, 2016). Entretanto, o princípio da técnica de cultivo celular teve como pioneiro Wilhelm Roux, em 1885. Ele aqueceu por vários dias uma porção de medula embrionária da galinha numa solução salina. Posteriormente, em 1907, Harrison descobriu o desenvolvimento de fibras nervosas de sapo cultivadas em coágulos sanguíneos (MIGITA, 2012). Carrel, em 1912, utilizou o experimento de Harrison para criar um modelo de cultivo celular de células cardíacas de embrião de galinha (NERI, 2020). Ele descobriu a necessidade de mudar as fontes de nutrientes nos frascos, permitindo uma maior viabilidade celular por mais tempo (ALVES; GUIMARÃES, 2010).

Entretanto, em 1951, George Gey estabeleceu a linhagem HeLa, a primeira linhagem celular imortal devido a sua grande multiplicação celular, a partir do cultivo de células originadas do tecido tumoral na cervical de Henrietta Lacks. O pesquisador manipulou as células cortando em pequenos tecidos e armazenando em tubos de cultura. Esse acontecimento inspirou diversos pesquisadores, originando a técnica de cultivo de tecidos e contribui até os dias atuais para ciência em pesquisas como desenvolvimento de vacinas, tratamento e diagnóstico de doenças, mapeamento de genes e em estudos sobre tuberculose, HPV e HIV, por exemplo (ALVES e GUIMARÃES, 2010; CALDAS, 2010; MIGITA, 2012).

Em 1961, Hayflick e Moorhead propuseram uma teoria revolucionária no estudo de senescência celular, o fenômeno “Limite de Hayflick”, que consistia em um limite da capacidade de divisão de células humanas, ou seja, foi observado que as células têm sua divisão celular limitada

devido à perda de nucleotídeos² (SANTIAGO, [s.d.]; MIGITA, 2012). Seguidamente, em 1962, a linhagem VERO, atualmente aprovada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) para produção de vacinas utilizada em inúmeros estudos na área biomédica, foi estabelecida por Nakamura e seus colaboradores, a partir de rim de macaco-verde africano (ALVES; GUIMARÃES, 2010).

Durante várias décadas, uma série de descobertas foram realizadas. Como exemplo, em 1965, Ham inovou ao desenvolver um meio de cultivo isento de soro que permitia o crescimento de certas células, viabilizando a clonagem de células de hamster chinês nesse ambiente. Simultaneamente, Harris e Watkins, desenvolveram células híbridas de mamíferos conhecidas como "heterocarion", utilizando partícula viral para fundi-las, contendo tanto o conteúdo citoplasmático quanto o material genético das células progenitoras (BRETAS, 2011). Em 1969, Augustin e Sato conseguiram produzir linhagens tumorais a partir de células nervosas de camundongos, conhecidas como neuroblastoma, e isolaram clones com excitabilidade elétrica. Outro avanço importante ocorreu em 1973, quando Graham e van der Eb introduziram a amostra de DNA em células de mamíferos em cultura, marcando o início da "engenharia de células" e da biotecnologia (SILVA *et al.*, 2020a).

Já em 1990, houve a fundação da *American Type Culture Collection* (ATCC), que desempenhou um papel crucial na produção e distribuição de linhagens celulares para centros de pesquisa e/ou produção em biotecnologia em todo o mundo. Por fim, no final do século XX, Wilmut, Schnieke e seus colaboradores alcançaram um marco revolucionário no cultivo de células de mamíferos com a clonagem da ovelha Dolly, realizado por meio da técnica de transferência nuclear, o ovócito foi removido e substituído pelo núcleo da célula da ovelha que desejaram clonar, reprogramando sua função. (SILVA *et al.*, 2020b; TAMMARO, 2021).

Atualmente, a cultura de células é uma técnica amplamente adotada em pesquisas e aplicações médicas. Um exemplo notável é na produção de vacinas virais, em que oferece diversas vantagens em relação à produção em ovos embrionados de galinha, por exemplo. Dada a demanda global por vacinas para controlar e erradicar doenças, as culturas celulares são vantajosas devido à redução de riscos de contaminação, maior capacidade de produção em escala, prazos de fabricação mais curtos, entre outros. Atualmente, aproximadamente 50 vacinas são fabricadas utilizando essa

² Unidade fundamental nos ácidos nucleicos, como DNA e RNA. Ele é composto por três partes essenciais: uma base nitrogenada, um açúcar de cinco carbonos e um grupo fosfato. Esses componentes formam as bases da estrutura genética, participando da transmissão e expressão dos genes.

abordagem de produção e várias outras estão em processo de desenvolvimento. Portanto, a utilização de culturas celulares na produção de vacinas virais representa avanços significativos, oferecendo soluções mais eficazes e ágeis para atender às demandas globais de imunização e são um exemplo prático da importância da técnica no meio científico atual (GALLO-RAMÍREZ; NIKOLAY; GENZEL; REICHL, 2015).

3.2 TIPOS DE CULTURAS DE CÉLULAS

3.2.1 Cultura primária, linhagem celular contínua e células transformadas

As técnicas de cultivo celular oferecem diversas vantagens para avanços científicos e medicinais, permitindo investigar alterações, o crescimento celular, o desenvolvimento de tecidos e outros eventos relevantes. No entanto, para realizar essas análises celulares, é crucial compreender e atender as necessidades específicas das células utilizadas, garantindo também que haja uma proliferação adequada (KASVI, 2017).

Todo ser vivo é formado por células. As células são unidades microscópicas formadas por soluções aquosas concentradas de compostos, envoltas por membranas, que possuem a capacidade de se duplicar, através da divisão celular. É fundamental compreender a funcionalidade dos organismos e tecidos no contexto do cultivo celular. Enquanto a reprodução assexuada também ocorre em organismos unicelulares como bactérias, eucariontes unicelulares e gametas, a maioria dos organismos multicelulares, incluindo plantas, animais e humanos, origina-se de uma única célula através de mecanismos de reprodução. Nesse sentido, a análise precisa desses sistemas pluricelulares no âmbito do cultivo celular se torna essencial para compreender seus processos e respostas em contextos de pesquisa e desenvolvimentos científicos (ACMALABS, 2018).

As células para cultura podem ser classificadas quanto à sua origem como: células primárias, linhagem celular contínua e células transformadas, todas oriundas de tecidos animais ou vegetais. As células primárias, as primeiras sobreviventes ao processo de isolamento celular, possuem fortes características genotípicas³ e fenotípicas⁴ do tecido original do qual foi retirada, podendo crescer por um tempo limitado *in vitro*. Essas células cultivadas formam a primeira

³ Traços ou atributos que estão relacionados ao conjunto de genes presentes em um organismo, representando a informação genética herdada.

⁴ Traços ou atributos observáveis e mensuráveis de um organismo, consequências da interação entre o seu genótipo (informação genética) e o ambiente em que está inserido.

monocamada a partir das células diretamente obtidas do tecido retirado. A partir delas, são formadas culturas primárias (ACMALABS, 2018; ALVES e GUIMARÃES, 2010; MIGITA, 2012; SILVA *et al.*, 2020b).

Células somáticas saudáveis de mamíferos têm uma capacidade limitada de proliferar em cultura. Após certo número de divisões celulares, elas sofrem um processo de senescência celular. No organismo ocorre, naturalmente, um processo de morte celular programada para a renovação do tecido chamado de apoptose, em que a célula sofre um processo de “autodigestão”, desencadeando em corpos apoptóticos⁵ que serão degradados, sem haver qualquer tipo de rompimento. Por causa disso, as células primárias não sobrevivem muito tempo em cultura, seja por não estarem adaptadas ao meio, seja pelo trauma ou estresse causado pelo processo de isolamento (ACMALABS, 2018; ALVES e GUIMARÃES, 2010; SILVA *et al.*, 2020b). No entanto, algumas células se adaptam ao cultivo *in vitro* e proliferam mais rapidamente, tornando-se predominantes após algumas gerações e, ainda assim, mantendo muitas das características originais. Portanto, pesquisadores desenvolveram linhagens celulares para realizar pesquisas usando amostras de células em experimentos contínuos. Pesquisadores de todo o mundo isolaram e estabeleceram várias cepas de diferentes tipos de células (SILVA *et al.*, 2020b). Essas são chamadas de linhagens celulares contínuas ou imortalizadas, sendo bastante utilizadas em pesquisas pré-clínicas como, por exemplo, em estudos sobre doenças cancerígenas e desenvolvimento de vacinas e medicamentos. Uma das principais vantagens em relação às células primárias é a possibilidade de se estabelecer bancos de células⁶ devido a sua alta taxa de proliferação (ACMALABS, 2018; ALVES e GUIMARÃES, 2010; MIGITA, 2012; SILVA *et al.*, 2020b).

As células transformadas são uma classificação de células que não apenas exibem características fenotípicas distintas do tecido original, mas também passam por modificações genéticas que podem afetar sua proliferação, muitas vezes variando de acordo com as condições ambientais, até mesmo quando cultivadas *in vitro*. Essa modificação leva a um crescimento descontrolado, como o que se observa nos tecidos tumorais. Isso pode ocorrer por diversos fatores, como agentes físicos, vírus ou substâncias químicas no meio de cultura, ou nas células retiradas de

⁵ Estruturas celulares caracterizadas pela contração e fragmentação do núcleo, que ocorre durante o processo de apoptose.

⁶ Repositório que armazena e preserva linhagens celulares para uso em pesquisas científicas e aplicações biotecnológicas.

tecidos já modificados (ACMALABS, 2018; ALVES e GUIMARÃES, 2010; SILVA *et al.*, 2020b).

O principal efeito dessa mutação genética é a ativação da telomerase, uma enzima que desempenha um papel crucial no controle do comprimento dos telômeros, que são as extremidades protetoras dos cromossomos. O comprimento dos telômeros está envolvido no controle da divisão celular e na manutenção da integridade genética (TEIXEIRA, 2021; ALVES e GUIMARÃES, 2010). Durante a divisão celular, os telômeros tendem a encurtar. Esse processo atua como um mecanismo de controle, acionando eventos de apoptose se o DNA estiver danificado a ponto de ameaçar a integridade genética. A telomerase, por sua vez, preserva os telômeros, permitindo que as células se reproduzam indefinidamente sem perda de informação genética. Essa proliferação descontrolada é uma característica central do processo de transformação celular (ALVES; GUIMARÃES, 2010).

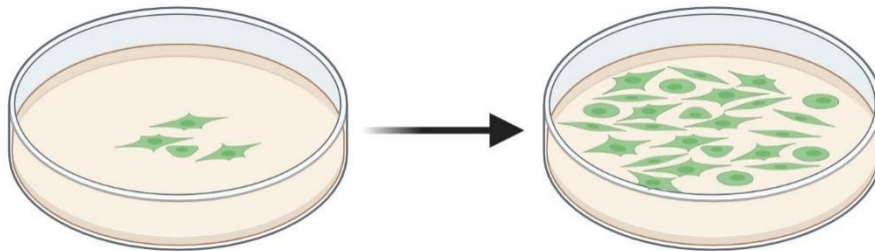
No cotidiano de pesquisas, linhagens celulares estabelecidas e transformadas são frequentemente utilizadas em ensaios de citotoxicidade, controle de qualidade de medicamentos e vacinas, entre muitas outras abordagens de estudos pré-clínicos (ALVES; GUIMARÃES, 2010, SILVA *et al.*, 2020b).

3.2.2. Células aderentes, células em suspensão e cultivo celular tridimensional

As células em cultivo possuem, durante um período inicial, características similares ao tecido de origem do qual foram oriundas. Dessa forma, dependendo do tecido do qual foi isolada e a maneira como se comportam no meio de cultura, sua relação de interação entre elas ocorre de acordo com as suas características originais (ALVES e GUIMARÃES, 2010; KASVI, 2017).

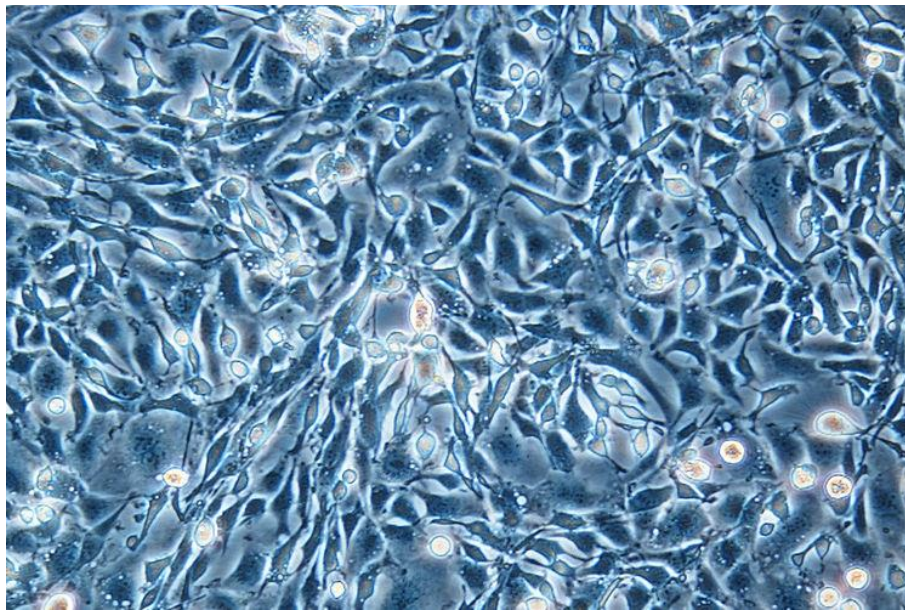
Células aderentes são aquelas linhagens celulares provenientes de tecidos sólidos, caracterizadas pela necessidade de se aderirem a um substrato (como a superfície de um frasco, por exemplo) para poderem proliferar (ALVES; GUIMARÃES, 2010). As células epiteliais, por exemplo, crescem em uma monocamada de células aderidas na superfície do frasco de cultivo, dependendo da interação direta entre outras células para se ancorarem e proliferarem (SILVA *et al.*, 2020b).

Figura 1 — Desenho Ilustrativo de Células Aderentes em cultura



Fonte: Biorender

Figura 2 — Imagem de Células Aderentes



Legenda: Células de ovário de hamster chinês, CHO.

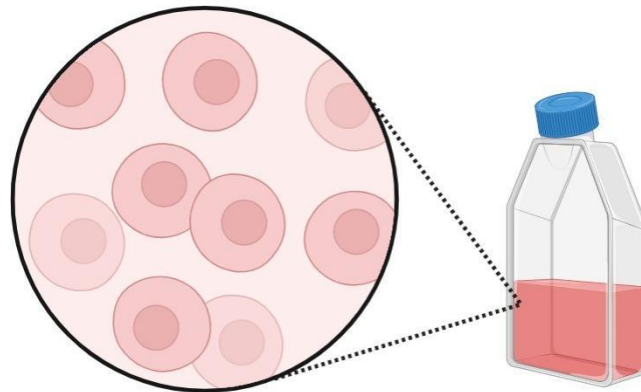
Fonte: Wikimedia Commons

No cultivo celular, as superfícies dos frascos de cultura são projetadas para apresentar uma carga negativa. Essa carga influencia a produção de proteínas de adesão e proteoglicanos, que desempenham um papel fundamental no início do processo de adesão das células à superfície do frasco (ALVES e GUIMARÃES, 2010). Além disso, a matriz extracelular (MEC), estrutura composta por diversas proteínas e substâncias encontradas ao redor das células e que fornece

suporte estrutural, regula processos celulares e desempenham um papel fundamental na organização e função dos tecidos (DREYFUSS; OLIVEIRA, 2008). Ela é sintetizada pelas próprias células, interagindo com essa carga negativa e permitindo que as células se fixem também à matriz por meio de receptores específicos. No exemplo das células epiteliais, as interações célula-célula são mediadas principalmente por moléculas de adesão célula-célula (CAMs) e pelas caderinas⁷, as quais dependem da presença de íons cálcio (ALVES e GUIMARÃES, 2010).

Já as células classificadas como não aderentes são aquelas que não necessitam dessa interação, sendo cultivadas em suspensão em um meio líquido. Não há necessidade de interações físicas diretas, ou seja, proliferam sem fixação a um suporte. Como exemplo de células em suspensão, podemos citar as células hematopoiéticas, as linhagens transformadas ou as células provenientes de tecido tumoral (ALVES e GUIMARÃES, 2010; KASVI, 2017; SILVA *et al.*, 2020b).

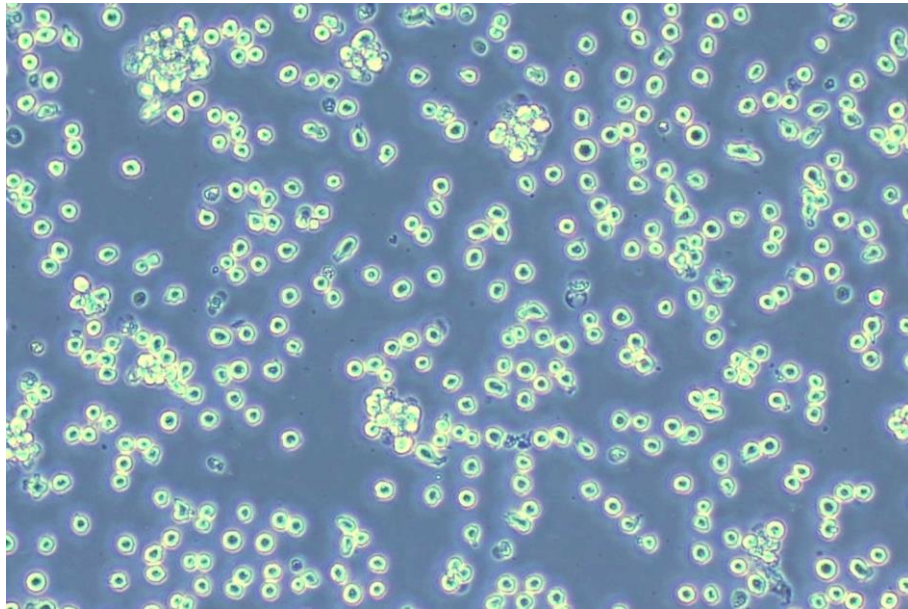
Figura 3 — Desenho Ilustrativo de Células cultivadas em Suspensão



Fonte: Biorender (modificado)

Figura 4 — Imagem de Células em Suspensão

⁷ Proteínas de adesão celular que desempenham um papel crucial na aderência e comunicação entre células em tecidos multicelulares



Legenda: Células Ba/F3 que expressam tirosina quinase ativada.

Fonte: Applied Biological Materials Inc. (abm)

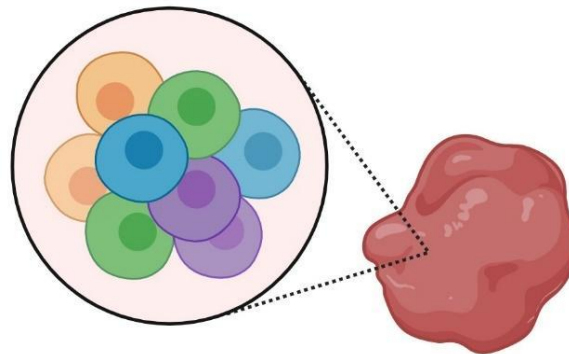
As células aderentes criam uma monocamada em formato bidimensional (2D); assim, por estarem aderidas ao frasco de cultivo e a interação celular ocorrer apenas de maneira periférica, não há a distribuição uniforme de nutrientes e oxigênio. Dessa forma, por serem capazes apenas de proliferarem em monocamadas, algo não natural para a maioria das células, esse método não mimetiza o modelo *in vivo* com fidelidade (SILVA *et al.*, 2020b).

Como dito por Silva *et al.* (2020b), os seres vivos apresentam uma organização celular diferente dos meios de cultivo bidimensional: a organização celular nos seres vivos é tridimensional (3D). Em outras palavras, é caracterizada por interações altamente complexas entre as células, fornecendo alta troca de nutrientes. No ambiente natural, as células estão em um ambiente quimiotático⁸, recebendo suprimentos contínuos de oxigênio e nutrientes e eliminando metabólitos tóxicos através da circulação. Portanto, é crucial que o ambiente de cultivo celular seja projetado para refletir essa organização espacial e dinâmica, de forma a recriar especificamente a fisiologia celular em cultura (SILVA *et al.*, 2020b).

⁸ Cenário em que as células respondem a gradientes químicos que as atraem, direcionando-se a substâncias como nutrientes ou moléculas de sinalização para garantir sua sobrevivência e funcionalidade.

Em função disso, as culturas tridimensionais (3D) são modelos *in vitro* que possibilitam que as células possam se mover e desenvolver em um meio que apresenta uma matriz de hidrogel⁹, mimetizando o organismo vivo. Essa estrutura, por permitir a interação célula-célula e com a matriz extracelular do hidrogel já presente em meio de cultura, permite que as células expressem parte das características do tecido de origem, como mencionado por Sośniak e Opiela (2021, p. 1258), recriando sua “morfologia, diferenciação, polaridade, taxa de proliferação, expressão gênica e perfis genômicos [...] mantendo a heterogeneidade celular, gradientes de nutrientes e oxigênio”. À vista disso, podendo conter diferentes tipos celulares em sua colônia, esse método de cultivo tem a capacidade de recriar seus aspectos biomecânicos¹⁰, de acordo com as condições *in vivo* e suas propriedades bioquímicas (SILVA *et al.*, 2020b; SOŚNIAK e OPIELA, 2021; LIN *et al.*, 2019).

Figura 5 — Desenho Ilustrativo de Cultivo Celular Tridimensional



Fonte: Biorender

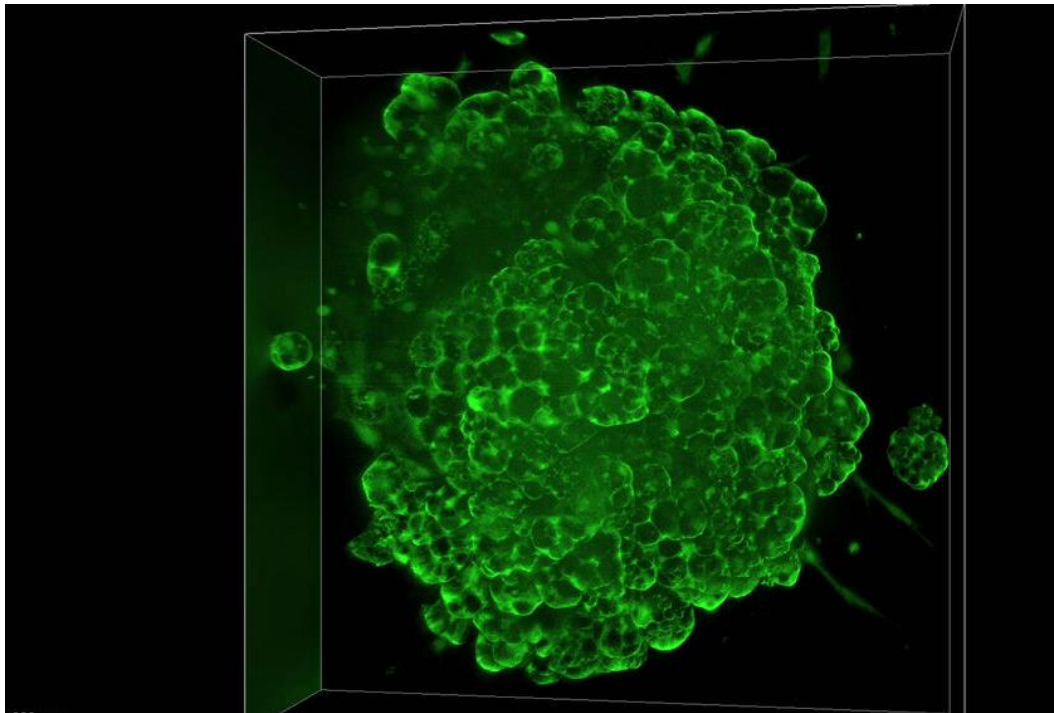
Os avanços no cultivo tridimensional permitiram o desenvolvimento de estruturas que mimetizam a organização e a funcionalidade dos órgãos de origem, tais chamados de organoides e esferoides. Os organoides são formados quando as células encapsuladas em uma matriz polimerizada se organizam espontaneamente, formando estruturas histológicas complexas. Alguns cientistas restringem esse termo a apenas modelos 3D iniciados por células-tronco ou progenitoras nos quais proliferam e se diferenciam para formar estruturas semelhantes aos órgãos de origem. Já

⁹ Estrutura tridimensional à base de água e polímeros hidrofílicos usados em aplicações biomédicas devido à sua capacidade de fornecer um ambiente semelhante ao tecido e à retenção de água.

¹⁰ São propriedades mecânicas e físicas dos sistemas biológicos, como essas características influenciam seu comportamento e função.

os esferoides multicelulares, por outro lado, são formados com base na adesão célula-célula, se organizando espontaneamente, depositando-se na matriz extracelular e formando microambientes específicos (CAVALHEIRO *et al.*, 2018).

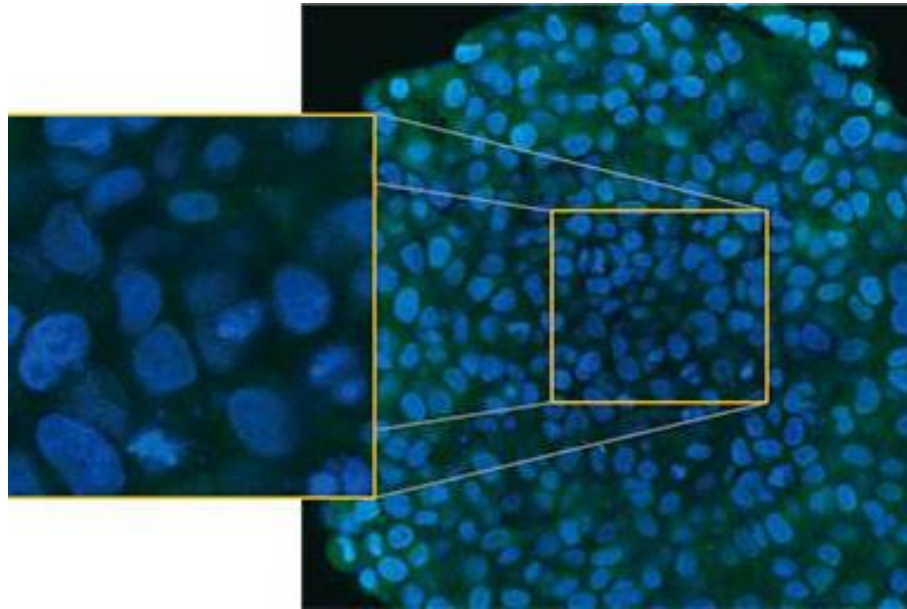
Figura 6 — Imagem de exemplo de Organoides



Legenda: Organoides pulmonares de camundongos derivados de células tronco e progenitoras de alvéolos.

Fonte: Leica Microsystems

Figura 7 — Imagem de exemplo de Esferoides



Legenda: Esferoides de células HeLa no qual expressam EGFP-LC3.

Fonte: Olympus LS

Além das propriedades apresentadas anteriormente em relação à expressão gênica¹¹, a técnica de cultivo celular tridimensional apresenta vantagens em relação ao cultivo 2D devido à extensão da MEC afetando consideravelmente a viabilidade celular¹², diferenciação, resposta de mecanorreceptores e a possibilidade de se estudar mais profundamente a arquitetura do tecido de interesse. Assim, pesquisas utilizando esse método vêm atingindo resultados consideravelmente mais robustos em relação à técnica em cultivo 2D em testes pré-clínicos, reproduzindo de maneira mais eficiente a resposta fisiológica do nosso organismo, impulsionando uma possível resposta imunológica *in vivo* mais confiável à determinado biofármaco (ACMALABS, 2018; MIGITA, 2012; SILVA *et al.*, 2020b; SOŚNIAK e OPIELA, 2021).

¹¹ Processo pelo qual as informações contidas nos genes desempenham um papel crucial na aparência das características e funções das células.

¹² Capacidade das células de manterem sua integridade estrutural, metabolismo e capacidade de se dividirem ou manterem suas funções normais.

4. METODOLOGIA ÓRGÃOS-EM-CHIP

4.1. PRINCIPAIS COMPONENTES E CARACTERÍSTICAS

4.1.1. Visão geral

De maneira geral, os órgãos-em-chip são sistemas de cultivo celular de tecidos em um pequeno chip microfluídico¹³, capaz de mimetizar a estrutura e as funções dos órgãos humanos em uma escala reduzida a partir de cultivo tridimensional. Esses dispositivos são cuidadosamente modificados para ambientes controlados específicos e preservando as funções distintas dos tecidos, com o propósito de reproduzir a fisiologia humana de maneira mais precisa, combinando engenharia biomédica, engenharia de tecidos e microfluídica. O principal objetivo dessa tecnologia é proporcionar uma plataforma *in vitro* que seja mais precisa e fiel para a pesquisa em processos biológicos, no desenvolvimento de medicamentos e na avaliação da segurança e eficácia de novas terapias (SANTANA, 2021, 2023).

A invenção e desenvolvimento se deu a partir do esforço colaborativo de diversas instituições e entre vários campos de pesquisa ao redor do mundo (ALLWARDT *et al.*, 2020; VALVERDE *et al.*, 2022). Esse conceito surgiu há aproximadamente uma década, a partir da integração de sistemas microfluídicos, técnicas de cultivo de células, métodos analíticos e protocolos de cultivo de células em novos modelos *in vitro*, incluindo tanto culturas 2D como 3D. Por ser algo inovador no ramo científico, a busca por métodos mais eficazes, econômicos e eficientes chamou a atenção de um grande número de pesquisadores e indústrias farmacêuticas. No entanto, por mais que alguns modelos de OOAC tenham avançado em relação à compreensão já estabelecida sobre a fisiologia, farmacologia¹⁴ e toxicologia¹⁵ humana, muitos permanecem longe da otimização, com uma aplicabilidade limitada e necessitando de condições específicas do apoio até mesmo do setor privado para pesquisas nessa área. Os principais avanços dessa abordagem concentram-se em modelos como coração, intestino, rim, fígado e pulmões, todos de tecido humano (ALLWARDT *et al.*, 2020).

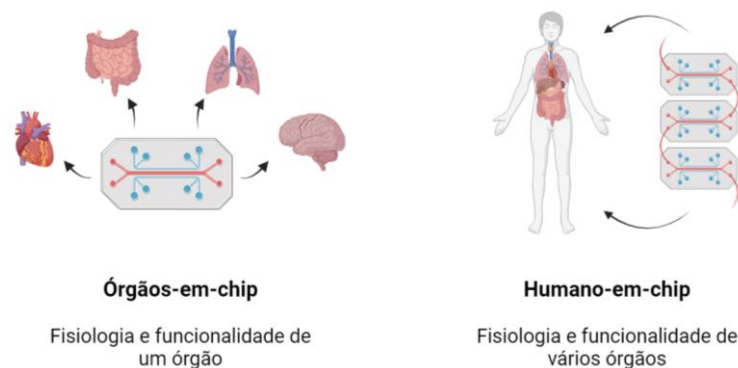
¹³ Dispositivo em miniatura que utiliza canais micrométricos para controlar com precisão o fluxo de líquidos, geralmente utilizado para realizar experimentos em escala micro, como cultivo celular e análises bioquímicas.

¹⁴ Campo da ciência que estuda como os medicamentos interagem com o organismo, incluindo seu desenvolvimento, mecanismos de ação, efeitos e aplicações terapêuticas.

¹⁵ Campo da ciência que investiga os efeitos adversos de substâncias químicas, físicas ou biológicas nos organismos vivos, ajudando a compreender os riscos associados à exposição a agentes tóxicos.

Os órgãos-em-chip reproduzem diversas funções especializadas e simultaneamente interconectadas devido às unidades funcionais compostas por sua estrutura (ALLWARDT *et al.*, 2020). Como exemplo, podemos citar a microfluídica combinada ao cultivo celular 3D, em que possibilita o cultivo de órgãos em chip por meio de microcanais, gerando interação entre diferentes tipos de células. Isto permite estudos mais avançados, visto que a microfluídica permite a interligação de câmaras que simulam diferentes órgãos. Além disso, a aplicação de forças mecânicas ao substrato onde as células são cultivadas geram estímulos que mimetizam observações *in vivo*, modulando o comportamento celular e tornando-o mais fisiológico (CAVALHEIRO *et al.*, 2018). Dentre as vantagens, é destacável a facilidade de manuseio celular e o controle preciso das condições ambientais, sendo fundamental para estudar e compreender sistemas biológicos cada vez mais complexos, pois mimetizam as interações químicas, transportes de nutrientes e peristaltismos¹⁶ presentes e essenciais no funcionamento dos tecidos *in vivo*. Um bom exemplo disso são os humano-em-chip, em inglês *human-on-a-chip/body-on-a-chip*, mecanismos de integração de OOAC eficientes de diferentes tipos de tecidos interligados, sendo um projeto em potencial desta plataforma, fornecendo dados clinicamente mais relevantes por se tratar de uma técnica mais complexa. Assim, é possível avaliar o comportamento celular após exposição a determinados agentes em diferentes configurações e modelos pré-clínicos (ALLWARDT *et al.*, 2020; MORAIS, 2018).

Figura 8 — Desenho Ilustrativo de Órgãos-em-chip e Humano-em-chip



Fonte: Biorender (modificado)

¹⁶ Movimento rítmico e ondulatório dos músculos que empurram o conteúdo através de órgãos tubulares, como o sistema digestivo, permitindo o avanço dos alimentos ou outros materiais no corpo.

As aplicações dos OOAC são vastas e abrangem tratamentos de doenças, descoberta de medicamentos, testes de toxicidade e medicina personalizada. Isso significa que os dispositivos têm a capacidade de acelerar os testes clínicos, ao mesmo tempo em que podem reduzir a necessidade de modelos animais *in vivo*, minimizando questões éticas fundamentais no desenvolvimento e pesquisa no meio científico (BERNARDES, 2016). Além disso, eles são relativamente acessíveis, permitindo que laboratórios e empresas de diferentes portes aproveitem essa inovação (SANTANA, 2021).

4.1.2. Estrutura e tecnologia dos OOAC

Como dito anteriormente, essa tecnologia surgiu para enfrentar a necessidade de um meio alternativo biologicamente relevante para a emulsão de tecido e órgãos humanos¹⁷. Com isso, esse sistema apresenta um ambiente microfluídico de cultivo celular através de microchips, projetado em um ambiente de tamanho micrométrico, fornecendo nutrientes e substratos através de perfusão contínua¹⁸. Assim, uma importante vantagem desse método é a economia de amostras, reagentes e diminuição do tempo gasto (MOTA, 2021). A partir dessa abordagem, é possível analisar instantaneamente as respostas celulares aos agentes terapêuticos (MORAIS, 2018).

É essencial, na fabricação, o uso de materiais biodegradáveis e quimicamente inertes, como polímeros poli-dimetilsiloxano (PDMS), poli-metil metacrilato (PMMA), policarbonato (PC), vidro, plástico e silicone, além de fornecer um ambiente não tóxico às células que serão cultivadas (MORAIS, 2018). Para chegar nessa formulação, esse modelo é baseado em várias técnicas de engenharia como a microfabricação, responsável por criar estruturas em miniatura usando processos de fabricação em escala microscópica, como litografia ou impressão 3D; microfluídica, a qual permite o controle preciso do fluxo de líquidos em canais micrométricos, criando ambientes controlados para as células; e biossensores, que exercem a função de detectar e medir os sinais biológicos, como atividade celular ou liberação de moléculas. Para monitorar e controlar o

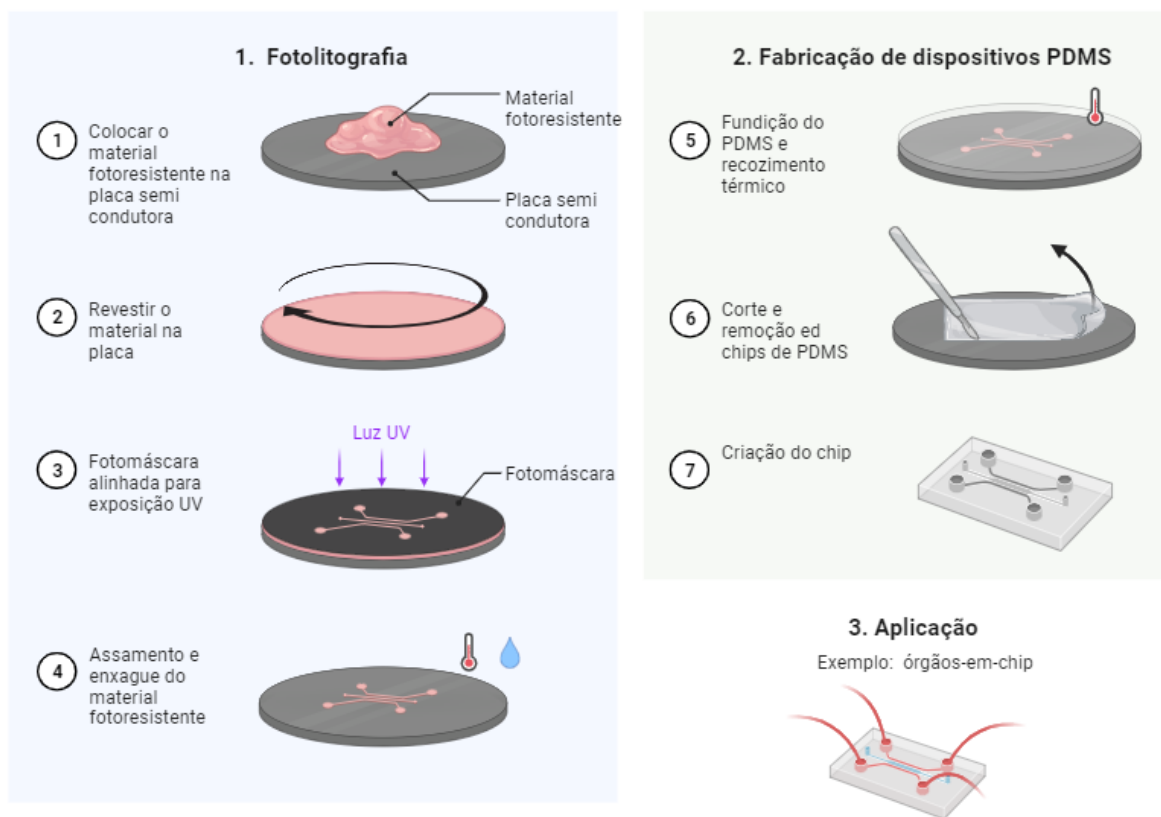
¹⁷ Criação de um ambiente que imita as condições naturais de células e órgãos em culturas *in vitro*, permitindo o estudo e a pesquisa em um contexto biológico relevante.

¹⁸ Método que envolve a entrega constante e controlada de fluidos, como nutrientes ou substâncias terapêuticas, a um sistema biológico, garantindo um suprimento constante de elementos essenciais para as células.

ambiente dentro dos dispositivos, utilizam-se sensores e atuadores¹⁹, garantindo a precisão e a reprodutibilidade das condições experimentais nos órgãos-em-chip (SANTANA, 2023).

Com os avanços microeletrônicos, foi desenvolvido uma técnica chamada litografia suave, tradicionalmente usada na produção dos órgãos-em-chip. Através da fotolitografia, é utilizada a luz ultravioleta (UV) para que ocorra a transferência de um molde dos substratos termoendurecíveis. Mediante esse processo, o material será coberto por um polímero líquido, como os exemplos mencionados anteriormente. Após ser curado por temperatura, esse componente será removido da superfície, resultando em um molde oposto que será utilizado na fabricação do microchip (MOTA, 2021).

Figura 9 — Desenho Ilustrativo Explicativo Resumido do processo de Formação de Chips



Fonte: Biorender (modificado)

¹⁹ Permitem a manipulação das condições dentro do dispositivo

Para que haja a mimetização dos parâmetros fisiológicos humanos, a metodologia de OOAC procura corresponder uma porcentagem do fluxo sanguíneo, gradiente de concentração²⁰, débito cardíaco²¹, tensão de cisalhamento de fluidos²², estresse mecânico²³ e cultivo pluricelular 3D de células humanas. Sendo assim, a abordagem visa direcionar o débito cardíaco para órgãos específicos, assim como na fisiologia humana, garantindo que corresponda a uma proporção de fluxo sanguíneo, em que, através de microbombas, haja perfusão dos fluidos, permitindo replicar o dinamismo e a pressão física, disponibilizando nutrientes, oxigênio e a produção de gradientes de concentração através de um fluxo laminar. Esses dispositivos utilizam fluidos que simulam as funções do sangue, transportando nutrientes conforme as necessidades e deslocando produtos de excreção, como o dióxido de carbono (CO₂), para evitar o acúmulo. Para garantir a compartimentalização são empregadas membranas porosas compostas por hidrogel, e a disposição das células, tanto na parte apical quanto na basolateral, é fundamental para as interações pretendidas entre as substâncias liberadas no meio e nos órgãos. De maneira geral, a partir dessas incorporações, os órgãos-em-chip criam um ambiente mais próximo do fisiológico em comparação com as culturas estáticas (MOTA, 2021).

Durante o desenvolvimento dos OOAC, os papéis das engenharias de tecidos e biomédica são fundamentais e complementares, permitindo juntas, a criação de modelos mais precisos de órgãos humanos em escala reduzida, o que é fundamental para entender doenças e desenvolver tratamentos melhores. A engenharia biomédica visa os conhecimentos médicos e biológicos, permitindo a formação de órgãos humanos mais realistas e fisiologicamente relevantes. Já a engenharia de tecidos, através de avanços e da ajuda da engenharia biomédica, cria ou restaura tecidos e órgãos humanos, fornecendo um ambiente de estudo mais complexo. Dessa forma, a parceria entre as duas abordagens leva ao aperfeiçoamento da medicina regenerativa, terapia celular, descoberta e estudo de medicamentos (SANTANA, 2023).

²⁰ Variação gradual da quantidade de uma substância específica, geralmente de moléculas ou partículas, em diferentes áreas ou regiões onde a concentração é mais alta em uma área e diminui progressivamente em direção a outra área. Isso resulta em um fluxo ou movimento de substâncias da região de alta concentração para a de baixa concentração.

²¹ Quantidade de sangue que o coração bombeia a cada minuto.

²² Força tangencial que atua entre as camadas de um fluido em movimento, causando a deformação e o deslizamento relativo dessas camadas.

²³ Força interna ou externa que atua em um material, causando deformações e tensões, sendo uma medida da resistência do material a essa força.

Algumas empresas como Emulate, Inc., oferecendo modelos que mimetizam órgãos específicos; a CN Bio Innovations, que fornece respostas para pesquisa de medicamentos e estudos de toxicidade; a Nortis, Inc., com foco em tecnologias de cultivo de órgãos-em-chip para pesquisa biomédica; e a AxoSim, centrada em modelos de sistema nervoso, apresentam a transição da metodologia de OOAC para sua aplicabilidade, demonstrando a confiança desses modelos em comparação com métodos tradicionais (AXOSIM, [s.d.]; CN BIO, [s.d.]; EMULATE, [s.d.]; NORTIS, [s.d.]).

5. ÓRGÃOS-EM-CHIP E SUAS APLICAÇÕES

5.1. APLICAÇÕES PRÁTICAS DE TESTES

5.1.1. Desenvolvimento, pesquisas e testes de medicamentos

Os órgãos-em-chip oferecem muitas aplicações. Como principais, podemos destacar sua participação no âmbito de pesquisa e desenvolvimento de medicamentos. Pela sua metodologia proporcionar a fisiologia humana de maneira mimetizada, é possível obter sinais mais próximos ao apresentado em um modelo *in vivo*, auxiliando no aumento da eficácia na descoberta de novos fármacos, na redução do tempo e custo ao longo do desenvolvimento (SANTANA, 2023). Como exemplo, podemos citar o programa BIO-MIMETICS, uma iniciativa do Massachusetts Institute of Technology (MIT) em parceria com o Laboratório Draper, a MatTek Corp. e a Zyoxel Ltd que utiliza a metodologia do humano-em-chip, incorporando 10 módulos a fim de mimetizar as funções de sistemas de órgãos específicos, representando um amplo espectro de tecidos humanos. Dessa forma, é possível prever e estudar a eficácia, toxicidade e farmacocinética de medicamentos em testes pré-clínicos (BIO-MIMETICS, [s.d.]).

5.1.2. Toxicidade, segurança e redução de testes em animais

Como outra estratégia, é possível estudar a segurança e toxicidade dos produtos, permitindo assim a analisar os efeitos de um composto possivelmente tóxico no organismo humano a partir de tecidos e células. Dessa forma, esse método possibilita melhores resultados e a possível proposta ética para a redução do uso de animais de laboratório em testes com esse foco (SANTANA, 2023). Um exemplo dessa aplicação é a Natura em parceria com o Laboratório Nacional de Biociências (LNBio), do Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM), em que desenvolveram um sistema de humano-em-chip, capaz de melhorar a análise de toxicidade e segurança de ingredientes que, muitas vezes, não passam por testes de toxicidade após serem extraídos da natureza. Assim, obtendo uma avaliação geral se há toxicidade ao corpo humano já nas matérias-primas (GALILEU, [s.d.]).

5.1.3. Estudos de doenças, mecanismos biológicos e medicina personalizada

Além desses pontos, OOACs oferecem grande auxílio nos estudos de doenças, permitindo assim um ambiente controlado e fisiologicamente relevante para avaliar enfermidades e

mecanismos biológicos. Ao permitir que os pesquisadores investiguem interações celulares e o desenvolvimento de doenças em níveis celulares e moleculares, os órgãos-em-chip contribuem significativamente para a compreensão das bases patológicas das doenças e o desenvolvimento de terapias inovadoras, evidenciando assim nuances previamente inexploradas dos processos biológicos (SANTANA, 2023).

Como exemplo, é possível citar a revisão de Bai e Ingber (2022), a qual discute a necessidade de modelos experimentais que possam efetivamente caracterizar as relações estrutura-função em biologia, com foco no pulmão humano, um órgão complexo e dinâmico, composto por mais de 50 tipos de células que estão sujeitas a várias forças mecânicas. Os autores discutem projetos de chip pulmonares que apresentam ampla complexidade estrutural para mimetizar o alvéolo pulmonar ou a via aérea condutora, compreensões funcionais sobre a fisiopatologia pulmonar humana nos níveis de célula, tecido, órgão e organismo que esses modelos permitem, assim como desafios e oportunidades futuras para que todo o potencial dos OOAC no avanço da biologia e medicina pulmonar possa ser alcançado. É destacado também o rápido crescimento do campo de órgãos-em-chip na última década, demonstrando que essa tecnologia é capaz de recapitular o conhecimento existente sobre a fisiopatologia pulmonar humana, e também de alcançar novos conhecimentos sobre mecanismos até então desconhecidos. A necessidade de padronização, democratização e superação de desafios regulatórios, no entanto, ainda é um obstáculo (BAI; INGBER, 2022).

5.2. DESAFIOS E PANORAMAS FUTUROS

Na área da ciência e inovações biomédicas, é possível observar muitos avanços que contribuíram para o desenvolvimento do órgãos-em-chip. Estes avanços incluíram a utilização e inovação de materiais. Com a evolução de biomateriais, engenharia de células-tronco, microengenharia e microfluídica, foi possível mimetizar de maneira mais fiel a estrutura e função dos tecidos humanos, fornecendo uma alternativa promissora aos métodos pré-clínicos convencionais de triagem de medicamentos (SANTANA, 2023).

Enquanto a tecnologia enfrenta desafios, como melhorar a complexidade dos sistemas para reproduzir cada vez melhor a exatidão da fisiologia humana, pesquisadores visam criar dispositivos cada vez mais sofisticados com uma integração eficiente de diferentes tipos de tecido em um único dispositivo e garantir melhor reprodutibilidade dos resultados, essenciais para aplicações clínicas

e incorporar sensores e dispositivos eletrônicos nos chips para monitorar continuamente o comportamento celular (SANTANA, 2023).

Além disso, a tecnologia dos OOAC pretende revolucionar os testes pré-clínicos, como estimular uma resposta mais rápida, criando assim uma perspectiva de reduzir a necessidade de modelos animais *in vivo*, proporcionando uma solução ética e eficiente. Com este avanço, não há benefícios apenas em grandes instituições, mas também torna os testes clínicos acessíveis a laboratórios e empresas de pequeno e médio porte. A manipulação mais fácil de microdispositivos, comparada à complexidade dos animais vivos, abre portas para uma adoção mais ampla e democratizada dessa tecnologia inovadora (SANTANA, 2021; SANTANA, 2023).

Entretanto, essa metodologia pode apresentar alguns fatores negativos. Embora os órgãos-em-chip tenham a capacidade de reduzir o custo ao longo prazo por reduzir a experimentação animal, de início, devido ao desenvolvimento e produção, o valor pode ser mais elevado. Nesse ponto, é importante destacar também que, embora a estrutura dessa técnica necessite de materiais poliméricos, a disponibilidade e orçamento desses materiais podem ser elevados (BERNARDES, 2016; SANTANA, 2023).

Outro aspecto importante é a complexidade que, embora necessária pelo objetivo de mimetizar a fisiologia humana, pode-se tornar um dispositivo de difícil construção e operação, fazendo assim com que haja limitações técnicas em relação aos parâmetros e a mimetização. Desta maneira, a reprodutibilidade e reprodução se tornam desafios significativos, pois cada laboratório pode apresentar diferentes protocolos e materiais na construção, levando a resultados inconsistentes (SANTANA, 2023).

Por mais que a redução no uso de animais em experimentos científicos seja uma perspectiva, ainda há preocupações éticas a serem abordadas como, por exemplo, na utilização de células humanas e a criação de tecidos humanos em laboratório (BERNARDES, 2016; SANTANA, 2021).

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao decorrer da pesquisa sobre os órgãos-em-chip, foi alcançado o objetivo de avaliar o potencial dessa ferramenta nos testes pré-clínicos através da análise dos princípios de cultivo celular *in vitro*, de explorar a tecnologia por trás da técnica de OOAC, investigando sua evolução, assim como o estudo do potencial da aplicação do método em ensaios pré-clínicos.

Os resultados, além de apresentar grande potencial durante os testes pré-clínicos, na área de bioengenharia e na substituição de experimentação animal, também coopera no processo de desenvolvimento tecnológico, pesquisas de fármacos, estudos de doenças e medicina personalizada. Apesar do método ter limitações, tem competência e oferece um futuro promissor na pesquisa biomédica.

Com isso, a relevância social deste trabalho ressalta-se na contribuição para o melhor entendimento sobre esse tema recente no cenário científico.

REFERÊNCIAS

- ACMALABS. **Cultura Celular: Estudo das Células e Técnicas de Cultivo**. 2018. Disponível em: <https://acmalabs.com.br/2018/08/01/cultura-celular-estudo-das-celulas-e-tecnicas-de-cultivo/>. Acesso em: 04 mar 2023.
- ALVES, Emanuele Amorim; GUIMARÃES, Ana Christina Rosa (org.). **Conceitos e Métodos para Formação de Profissionais em Laboratórios de Saúde**: volume 2. Rio de Janeiro: Epsjv; Ioc: Copyright, 2010. 253 p. Capítulo 5: Cultivo celular.
- ALLWARDT, Vanessa et al. **Translational Roadmap for the Organs-on-a-Chip Industry toward Broad Adoption**. *Bioengineering*, [s.l.], v. 7, n. 3, p.112, 2020. MDPI AG. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2306-5354/7/3/112>. Acesso em: 14 out. 2023.
- AXOSIM. Neuro Discovery Platforms. Disponível em: <https://axosim.com/platforms/>. Acesso em: 10 nov. 2023.
- BAI, Haiqing; INGBER, Donald E.. What Can an Organ-on-a-Chip Teach Us About Human Lung Pathophysiology? **Physiology**, [S.L.], v. 37, n. 5, p. 242-252, 1 set. 2022. American Physiological Society. <http://dx.doi.org/10.1152/physiol.00012.2022>. Disponível em: <https://journals.physiology.org/doi/epdf/10.1152/physiol.00012.2022>. Acesso em: 29 nov. 2023.
- BELO, Paula Boschini. **Experimentação animal**: problemas metodológicos, questões éticas e novas abordagens. 2022. 72 f. TCC (Graduação) - Curso de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2022. Disponível em: https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/242928/TCC_final.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em: 18 abr. 2023.
- BERNARDES, Júlio. **“Órgão-em-chip” é opção para substituir experimentação animal em estudos científicos**. *Jornal da USP*, 24 out. 2016. Disponível em: <https://jornal.usp.br/tecnologia/orgao-em-chip-e-opcao-para-substituir-experimentacao-animal-em-estudos-cientificos/>. Acesso em: 11 out. 2023.
- BISWAS, Saptarshi; MCNERNEY, Patrick. Sydney Ringer: the pipe water of new river water company and the discovery of the elixir of life. **Poster Competition**, American College Of Surgeons, p. 40-43, nov. 2016. Disponível em: https://www.facs.org/media/xrmb5ntd/08_ringer.pdf. Acesso em: 04 set. 2023.
- BIO-MIMETICS. About Bio-Mimetics. Disponível em: <https://bio-mimetics.mit.edu/about-bio-mimetics>. Acesso em: 12 nov. 2023.
- BRETAS, Rodrigo Martin. **Avaliação da capacidade instalada para a produção e certificação de células animais**. 2011. 154 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Tecnologia de Imunobiológicos, Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de

Janeiro, 2011. Cap. 1. Disponível em:

<https://www.bio.fiocruz.br/images/stories/pdfs/mpti/dissertacoes/mpti-2009/rodrigo-bretas.pdf>.

Acesso em: 25 ago. 2023.

CALDAS, Cristina. Órgãos humanos em chips substituirão testes pré-clínicos? **Ciência e Cultura**, [S.L.], v. 64, n. 4, p. 15-15, dez. 2012. FapUNIFESP (SciELO).

<http://dx.doi.org/10.21800/s0009-67252012000400008>.

CALDAS, Cristina. **Vida, morte e imortalidade**: desvendando a história das células hela. desvendando a história das células HeLa. 2010. Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência. Disponível em: http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0009-67252010000200008. Acesso em: 21 ago. 2023.

CÂMARA, Brunno. **Diferença entre os termos in vivo, in vitro e in silico**. Biomedicina Padrão. 2022. Disponível em: <https://www.biomedicinapadrao.com.br/2022/10/diferenca-entre-os-terminos-in-vivo-in.html>. Acesso em: 22 jan. 2024.

CAVALHEIRO, Mariana; DE BARROS, Ana Paula DN; LOUBACK, Rafaela de A; ROSSI, Maria Isabel D. **Modelos tridimensionais de cultura de células**: aproximando o in vitro do in vivo. *Vigilância Sanitária em Debate*, [S.l.], v. 6, n. 1, p. 72-83, 2018. Disponível em: <https://www.redalyc.org/journal/5705/570563069009/html/>. Acesso em: 22 jan. 2024.

CN BIO. Drug-induced liver injury (DILI). Disponível em: <https://cn-bio.com/applications/safety-toxicology/drug-induced-liver-injury/>. Acesso em: 09 nov. 2023.

CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL. Constituição (2023). Resolução nº 58, de 24 de fevereiro de 2023. **Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação**. Seção 12, p. 8-8. Disponível em: <https://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=01/03/2023&jornal=515&pagina=8>. Acesso em: 27 ago. 2023.

DREYFUSS, Juliana L.; OLIVEIRA, José S. R.. Matriz extracelular e enzimas degradatórias na hematopoese e doenças onco-hematológicas. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, [s. l.], v. 5, n. 30, p. 398-405, out. 2008. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbhh/a/MCW9VFT8dRYXX53SFdnW6Vb/?format=pdf>. Acesso em: 10 set. 2023.

EMULATE. Organ-Chips for Research & Development. Disponível em: <https://emulatebio.com/organ-chips/>. Acesso em: 09 nov. 2023.

EPISKIN inaugura subsidiária no Brasil. 2019. Disponível em: <https://www.episkin.com/br/News/EPISKIN-brand-new-center-in-Brazil>. Acesso em: 25 ago. 2023.

FRAGELLI, Bruna Dias de Lima; GEBARA, Renan Castelhanos; PECORARI, Ana Cláudia de Souza. Órgãos humanos em chips. **Temas Atuais em Biologia**, [S.L.], v. 3, n. 1, 2015. Editora

Cubo. <http://dx.doi.org/10.4322/temasbio.n3.003>. Disponível em: <http://www.temasbio.ufscar.br/?q=artigos/%C3%B3rg%C3%A3os-humanos-em-chips>. Acesso em: 05 mar. 2023.

GALILEU. Natura e CNPEM criam novo método de órgãos em chip para testar produtos. Disponível em: <https://revistagalileu.globo.com/tecnologia/noticia/2023/04/natura-e-cnpe-criam-novo-metodo-de-orgaos-em-chip-para-testar-produtos.ghtml>. Acesso em: 12 nov. 2023.

GALLO-RAMÍREZ, L. E.; NIKOLAY, A.; GENZEL, Y.; REICHL, U. Bioreactor concepts for cell culture-based viral vaccine production. *Expert Review of Vaccines*, v. 14, n. 9, p. 1181-1195, 2015. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/epdf/10.1586/14760584.2015.1067144?needAccess=true>. Acesso em: 28 set. 2023.

IT FORUM 365. Pesquisadora brasileira cria órgãos em chip. Disponível em: <https://itforum.com.br/noticias/pesquisadora-brasileira-orgaos-em-chip/>. Acesso em: 12 nov. 2023.

KASVI. A importância da qualidade para o Cultivo Celular. 2017. Disponível em: <https://kasvi.com.br/qualidade-cultivo-celular/>. Acesso em: 04 mar. 2023.

LIN, Ann *et al.* 3D cell culture models and organ-on-a-chip: meet separation science and mass spectrometry. **Wiley Analytical Science**. p. 56-64. 22 jul. 2019. Disponível em: <https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/elps.201900170>. Acesso em: 23 maio 2023.

MENDONÇA, R. Professor José Vieira de. **Ensaio Pré-clínicos**. [s.d.]. Disponível em: <http://www.ctvacinas.ufmg.br/index.php/ensaios-pre-clinicos/#:~:text=Os%20ensaios%20pr%C3%A9-cl%C3%ADnicos%20s%C3%A3o, testes%20in%20vitro%20antes%20de>. Acesso em: 05 mar. 2023.

PROFISSÃO BIOTEC. Métodos alternativos ao uso de animais de experimentação. 2019. Disponível em: <https://profissaobiotec.com.br/metodos-alternativos-animais-experimentacao/>. Acesso em: 25 abr. 2023.

MIGITA, Natacha Azussa. Cultivo celular in vitro: importância para a pesquisa biomédica e dimensão da problemática de autenticação de linhagens celulares. 2012. 69 f. TCC (Graduação) - Curso de Ciências Biomédicas, Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Unesp, Botucatu, Sp, 2012. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/119982/000785350.pdf;sequence=1>. Acesso em: 03 mar. 2022.

MORAIS, Thayz Ferreira Lima. Desenvolvimento de modelo de cultura celular tridimensional (3D) e de plataforma microfluídica para avaliação da viabilidade celular após terapia fotodinâmica. 2018. 123 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação Interunidades em Bioengenharia, Escola de Engenharia de São Carlos, Faculdade de

Medicina de Ribeirão Preto, Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2018. Disponível em: https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/82/82131/tde-03052019-174431/publico/Dissert_Morais_ThayzFL_corrigida.pdf. Acesso em: 13 out. 2023.

MOTA, Gabrielle Andrade. **Organ-on-a-chip: tecnologia inovadora no desenvolvimento de pesquisas**. 2ª Consultoria Acadêmica — Disciplina: Fisiologia Humana. Universidade Federal da Paraíba, Programa de Educação Tutorial de Farmácia (PET-Farmácia), 2021. Disponível em: <https://www.ufpb.br/petfarmacia/contents/documentos/consultorias-2021/2deg-consultoria/gabrielle-organ-on-a-chip.pdf>. Acesso em: 22 out. 2023

NERI, Elida Adalgisa. **O que é Cultivo Celular ou Cultura Celular?** 2020. Disponível em: <https://www.nacientifico.com.br/o-que-e-cultivo-celular-ou-cultura-celular/>. Acesso em: 16 abr. 2023.

NORTIS. Disponível em: <https://nortisbio.com/>. Acesso em: 10 nov. 2023.

PIERONI, João Paulo; CAPANEMA, Luciana Xavier de Lemos; REIS, Carla; SOUZA, José Oswaldo Barros de; SILVA, Leandro Gomes da. Terceirização da P&D de Medicamentos. Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social (BNDES). Disponível em: https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/bitstream/1408/2561/1/BS%2029%20Terceiriza%20c3%a7%20c3%a3%20da%20P%20D%20de%20Medicamentos_P.pdf. Acesso em: 28 jan. 2024

RESENDE, Rodrigo Ribeiro; SOCCOL, Carlos Ricardo (org.). Biotecnologia aplicada á saúde: fundamentos e aplicações, volume 1. São Paulo: Blucher, 2015. Disponível em: https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=OQC5DwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA57&dq=cultivo+celular+atualmente&ots=NaMcA4m_8b&sig=M7kUn-kwWPU9F__WkWwMlrj9aQA#v=onepage&q=cultivo%20celular%20atualmente&f=false. Acesso em: 03 mar. 2023.

SANTANA, Harrson. **Desvendando o Potencial dos Órgãos-em-chip**: uma nova era na engenharia biomédica e na engenharia de tecidos. Uma Nova Era na Engenharia Biomédica e na Engenharia de Tecidos. 2023. Disponível em: <https://www.linkedin.com/pulse/desvendando-o-potencial-dos-%25C3%25B3rg%25C3%25A3os-em-chip-uma-nova-era-santana/?trackingId=yvBQrdNaQ%2B6%2FNajtIzBDfQ%3D%3D>. Acesso em: 25 ago. 2023.

SANTANA, Harrson S. **O que são órgãos-em-chip e sua importância para a indústria farmacêutica**. Microfluídica & Engenharia Química, 2021. Disponível em: <https://www.blogs.unicamp.br/microfluidicaeengenhariaquimica/2021/04/06/o-que-sao-orgaos-em-chip-e-sua-importancia-para-a-industria-farmacaceutica/>. Acesso em: 11 out. 2023.

SANTIAGO, André da Silva. **Telômeros**: o elixir da vida longa?. [s.d.]. Curso de Genética e Biologia Molecular, Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Santa Cruz, Santa Cruz. Disponível em: http://www.uesc.br/genetica/resumo_talomeross.pdf. Acesso em: 25 ago. 2023.

SILVA, Daiana Karla Frade et al. FUNDAMENTOS DO CULTIVO DE CÉLULAS. In: LOPES, Ana Luiza de Oliveira. **Cultivo de células**: da teoria à bancada. João Pessoa: Editora Ufpb, 2020a. Cap. 1. p. 10-19. Disponível em: <http://www.editora.ufpb.br/sistema/press5/index.php/UFPB/catalog/view/669/839/7054-1>. Acesso em: 02 abr. 2023.

SILVA, Daiana Karla Frade et al. TIPOS DE CULTURAS CELULARES. In: LOPES, Ana Luiza de Oliveira. **Cultivo de células**: da teoria à bancada. João Pessoa: Editora Ufpb, 2020b. Cap. 2. p. 20-32. Disponível em: <http://www.editora.ufpb.br/sistema/press5/index.php/UFPB/catalog/view/669/839/7054-1>. Acesso em: 08 abr. 2023.

SILVA, Mariana Cardoso da. Cultivo de células e suas aplicações no diagnóstico e na pesquisa da raiva. São Paulo, 2020. 36 p. Tese. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-1053170>. Acesso em: 28 nov. 2023.

SILVA, Tatiana Tavares da; CORRÊA, Marilena Cordeiro Dias Villela. Inovação biomédica e ética: técnicas substitutivas na experimentação animal. **Revista Bioética**, [S.L.], v. 28, n. 4, p. 674-682, dez. 2020. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1983-80422020284431>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bioet/a/v7DM3HrLjjKYYPrZy8nz3Cs/#>. Acesso em: 28 nov. 2023.

SOŚNIAK, Justyna; OPIELA, Jolanta. **3D Cell Culture Technology – A New Insight Into in Vitro Research – A Review**. 2021. *Annals Of Animal Science*: volume 21, 4. ed. p. 1257-1273. <https://doi.org/10.2478/aoas-2021-0039>. Disponível em: <https://sciendo.com/article/10.2478/aoas-2021-0039>. Acesso em: 26 maio 2023.

TAMMARO, Rodrigo. **Clonagem da ovelha Dolly completa 25 anos com novas possibilidades para a ciência**. 2021. Publicado pelo Jornal da USP. Disponível em: <https://jornal.usp.br/atualidades/clonagem-da-ovelha-dolly-completa-25-anos-e-trouxe-novas-possibilidades-para-a-ciencia/#:~:text=Os%20cientistas%20retiraram%20o%20n%C3%BAcleo,doadora%20daquela%20c%C3%A9lula%E2%80%9D%2C%20explica..> Acesso em: 24 ago. 2023.

TEIXEIRA, Marcus Zulian. Telomere length: biological marker of cellular vitality, aging, and health-disease process. **Revista da Associação Médica Brasileira**, [S.L.], v. 67, n. 2, p. 173-177, fev. 2021. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1806-9282.67.02.20200655>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/ramb/a/gMXVvdhphZ395myGC9KS5WH/>. Acesso em: 28 nov. 2023.

VALVERDE, Marta G.; FARIA, João; SENDINO GARVÍ, Elena; JANSSEN, Manoe J.; MASEREEUW, Rosalinde; MIHÁILĂ, Silvia M. Organs-on-chip technology: a tool to tackle genetic kidney diseases. *Pediatric Nephrology*, [S.l.], v. 37, p. 2985-2996, 2022. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00467-022-05508-2>. Acesso em: 15 out. 2023.