O USO DE BIORREATORES NA PRODUÇÃO DE TERAPIAS AVANÇADAS: CULTURA DE CÉLULAS-TRONCO PARA APLICAÇÃO EM MEDICINA REGENERATIVA- Uma revisão literária

THE USE OF BIOREACTORS IN THE DEVELOPMENT OF ADVANCED THERAPYS: STEM CELLS HARVESTING FOR APPLICATION IN REGENERATIVE MEDICINE - A literary review

1.Giovani Granado Mola
2.Patrícia Lius Melo Alves
Afiliação: 1. Acadêmico do curso de Biomedicina da Universidade de Sorocaba
2.Professora adjunta da Universidade de Sorocaba

Resumo: A medicina regenerativa utiliza células-tronco para restaurar tecidos danificados, com biorreatores sendo essenciais para a produção em larga escala, superando limitações de culturas convencionais em escalabilidade e padronização. Por meio de revisão bibliográfica, avaliaram-se biorreatores de perfusão, dinâmicos, rotatórios e de microfluídica, focando em diferenciação celular, escalabilidade e integração com biomateriais. Resultados mostram que biorreatores de perfusão promovem diferenciação osteogênica, aumentando a matriz óssea, enquanto os dinâmicos, como os de fluxo pulsátil, favorecem a maturação de cardiomiócitos derivados de iPSCs, simulando condições fisiológicas. Biorreatores rotatórios expandem condrócitos em scaffolds 3D, preservando colágeno e proteoglicanos para reparo de cartilagem, e sistemas automatizados otimizam hepatócitos. A integração com hidrogéis direciona a diferenciação neural, e os de microfluídica aceleram a regeneração óssea. Contudo, desafios como homogeneidade em construtos maiores, zonas de hipóxia, custos de automação e ajustes de forças mecânicas persistem. A simulação de microambientes tumorais reforça seu potencial em terapias personalizadas. Conclui-se que os biorreatores revolucionam a engenharia de tecidos, oferecendo controle preciso e escalabilidade, mas a vascularização eficiente e a superação de barreiras técnicas são cruciais para aplicações clínicas. Este estudo tem como objetivo destacar o impacto dos biorreatores na medicina

regenerativa e a necessidade de avanços para enfrentar os desafios remanescentes.

Palavras-chave: Biorreatores; células tronco; medicina regenerativa

Abstract: Regenerative medicine employs stem cells to restore damaged tissues, with bioreactors playing a critical role in large-scale cell production, overcoming the scalability and standardization limitations of conventional cultures. Through a literature review, perfusion, dynamic, rotary, and microfluidic bioreactors were evaluated, focusing on cell differentiation, scalability, and biomaterial integration. Results indicate that perfusion bioreactors enhance osteogenic differentiation, increasing bone matrix formation, while dynamic bioreactors, such as pulsatile flow systems, promote the maturation of iPSC-derived cardiomyocytes by mimicking physiological conditions. Rotary bioreactors expand chondrocytes in 3D scaffolds, preserving collagen and proteoglycans for cartilage repair, and automated systems optimize hepatocyte function. Hydrogel integration guides neural differentiation, and microfluidic bioreactors accelerate bone regeneration. However, challenges such as homogeneity in larger constructs, hypoxic zones, automation costs, and mechanical force adjustments persist. Tumor microenvironment simulation underscores their potential in personalized therapies. In conclusion, bioreactors revolutionize tissue engineering by providing precise control and scalability, yet efficient vascularization and overcoming technical barriers are essential for clinical applications. This study's objective is to highlight the transformative impact of bioreactors in regenerative medicine and the need for further advancements to address remaining challenges

Keywords: Bioreactors; stem cells; regenerative medicine

1 INTRODUÇÃO

A medicina regenerativa representa um marco na biotecnologia, utilizando células-tronco para restaurar tecidos danificados e tratar condições como doenças degenerativas, lesões medulares e insuficiência cardíaca [1, 2]. Esse campo depende da capacidade de cultivar células-tronco em larga escala, com alta qualidade e funcionalidade, para aplicações clínicas. Culturas convencionais, como frascos ou placas de Petri, apresentam limitações significativas em escalabilidade, padronização e controle ambiental, o que restringe sua viabilidade

para terapias avançadas [3]. Nesse contexto, os biorreatores surgem como ferramentas indispensáveis, oferecendo ambientes controlados que simulam condições fisiológicas e otimizam a proliferação e diferenciação celular [4, 3].

Biorreatores são sistemas projetados para suportar o cultivo celular em condições que replicam o microambiente *in vivo*, controlando parâmetros como pH, oxigênio, nutrientes, temperatura e forças mecânicas, como estresse de cisalhamento [4, 5]. Esses dispositivos permitem a expansão de células em grandes volumes, mantendo viabilidade e funcionalidade, o que é essencial para a produção de terapias celulares em escala clínica [5]. Além disso, os biorreatores facilitam a integração de biomateriais, como scaffolds e hidrogéis, que guiam a formação de tecidos tridimensionais [6]. Sua versatilidade os torna fundamentais na engenharia de tecidos, desde a regeneração óssea até a reparação de tecidos neurais e cardiovasculares [7].

Os biorreatores podem ser classificados em diferentes tipos, cada um com aplicações específicas. Biorreatores de perfusão fornecem fluxo contínuo de nutrientes e oxigênio, promovendo a diferenciação osteogênica de células-tronco mesenquimais (CTM) e aumentando a produção de matriz óssea [8]. Biorreatores dinâmicos, como os de fluxo pulsátil, simulam condições hemodinâmicas, favorecendo a maturação de cardiomiócitos derivados de células-tronco pluripotentes induzidas (iPSCs) [9]. Biorreatores rotatórios são ideais para a expansão de condrócitos em scaffolds 3D, preservando colágeno e proteoglicanos para reparo de cartilagem [10]. Já os biorreatores de microfluídica, com canais miniaturizados, otimizam a difusão de nutrientes e aceleram a regeneração óssea, sendo promissores para ensaios de alta precisão [11]. Cada tipo oferece vantagens específicas, mas a escolha depende do tecido alvo e dos objetivos terapêuticos.

As células-tronco são o pilar da medicina regenerativa, classificadas em diferentes categorias com base em sua origem e potencial de diferenciação. Células-tronco embrionárias (ESCs), derivadas de blastocistos, são pluripotentes, capazes de se diferenciar em qualquer tipo celular do corpo [1]. Células-tronco mesenquimais (MSCs), obtidas de tecidos como medula óssea ou adiposo, são multipotentes, com capacidade de formar osteócitos, condrócitos e adipócitos, sendo amplamente usadas em regeneração tecidual [2]. As iPSCs, geradas por reprogramação de células somáticas, combinam pluripotência com menor

controvérsia ética, sendo ideais para terapias personalizadas [9]. A diferenciação celular, processo pelo qual células-tronco se especializam em tipos celulares específicos, é modulada em biorreatores por estímulos mecânicos, como forças de cisalhamento, sinais químicos e biomateriais [12,13]. Por exemplo, hidrogéis bioativos direcionam a diferenciação neural, formando redes neuronais funcionais, enquanto scaffolds porosos estimulam a formação de matriz óssea [6]. Esses estímulos recriam o nicho celular, essencial para a funcionalidade dos tecidos engenheirados.

Apesar dos avanços, desafios persistem na utilização de biorreatores. A homogeneidade em construtos tridimensionais maiores é limitada por gradientes de oxigênio e nutrientes, resultando em zonas de hipóxia [6]. A vascularização eficiente, crucial para a integração de enxertos com o hospedeiro, permanece um obstáculo [14]. Além disso, os custos de automação e a complexidade técnica podem restringir a adoção em ambientes clínicos [15]. Esta revisão narrativa analisa o impacto dos biorreatores na cultura de células-tronco, explorando como esses sistemas revolucionam a medicina regenerativa e identificando barreiras que ainda precisam ser superadas para sua plena aplicação clínica.

2. DESENVOLVIMENTO

A medicina regenerativa tem se beneficiado significativamente do uso de biorreatores, que proporcionam um ambiente controlado para o cultivo de células e tecidos, replicando condições fisiológicas humanas essenciais para a funcionalidade celular [4]. Esses dispositivos são amplamente utilizados na expansão de células-tronco, permitindo a produção de grandes quantidades de células viáveis para aplicações em regeneração tecidual, como reparo de ossos, cartilagens e tecidos cardiovasculares [16]. Um estudo demonstrou que biorreatores de perfusão, ao fornecerem fluxo contínuo de nutrientes e oxigênio, promovem a diferenciação de células-tronco mesenquimais (CTM) em linhagens osteogênicas, resultando em maior deposição de matriz óssea em comparação com culturas estáticas [8]. Esse efeito é atribuído ao controle rigoroso de parâmetros como fluxo de nutrientes, remoção de metabolitos e manutenção de gradientes de oxigênio, que melhoram a viabilidade e a funcionalidade celular [3]. Além disso, a capacidade de monitorar em tempo real variáveis como pH e níveis de oxigênio permite ajustes dinâmicos, garantindo condições otimizadas para o

cultivo [4]. No entanto, a manutenção de gradientes uniformes de oxigênio e nutrientes em construtos tridimensionais maiores permanece um desafio crítico, frequentemente levando à formação de zonas de hipóxia que comprometem a qualidade do tecido engenheirado e limitam a aplicabilidade clínica [6].

Biorreatores dinâmicos, como os sistemas de fluxo pulsátil, têm se destacado na engenharia de tecidos cardiovasculares, promovendo a maturação de cardiomiócitos derivados de células-tronco pluripotentes induzidas (iPSCs) [9]. Esses sistemas simulam forças hemodinâmicas, como o estresse de cisalhamento, que são cruciais para replicar as condições in vivo do coração, induzindo a expressão de marcadores contráteis e melhorando a organização celular [13]. Pesquisas indicam que a exposição a estímulos mecânicos cíclicos em biorreatores dinâmicos também potencializa a diferenciação osteogênica, aumentando a formação de tecido mineralizado, embora a homogeneidade em construtos maiores continue sendo um obstáculo devido a variações na distribuição de forças [17]. A escalabilidade é outro benefício significativo dos biorreatores: estudos mostram que os biorreatores rotatórios, ao proporcionarem um ambiente de baixa tensão de cisalhamento, possibilitam a expansão de condrócitos em scaffolds tridimensionais, preservando a produção de colágeno tipo II e proteoglicanos, componentes essenciais para a reparação de cartilagem [10]. Esses sistemas também permitem a formação de agregados celulares que mimetizam o tecido nativo, melhorando a funcionalidade dos enxertos [4]. Contudo, desafios como a homogeneidade em volumes maiores, a complexidade de integrar múltiplos tipos celulares e os custos associados à automação de processos persistem, especialmente em contextos de produção em larga escala [15].

A automação em biorreatores computadorizados tem revolucionado o cultivo de células especializadas, como hepatócitos, resultando em maior retenção da função hepática em comparação com sistemas manuais [18]. Esses sistemas utilizam sensores e algoritmos para ajustar automaticamente parâmetros ambientais, reduzindo a variabilidade e aumentando a reprodutibilidade dos cultivos [5]. No entanto, a necessidade de equipamentos sofisticados, softwares avançados e capacitação técnica especializada limita sua adoção em contextos clínicos menos estruturados, particularmente em regiões com recursos limitados [15]. A integração de biomateriais com biorreatores tem

impulsionado avanços significativos: hidrogéis bioativos, quando combinados com biorreatores, direcionam a diferenciação de células-tronco neurais, favorecendo a formação de redes neuronais funcionais, que são promissoras para o tratamento de lesões do sistema nervoso central, como traumas medulares [6]. Além disso, scaffolds porosos funcionalizados com moléculas bioativas podem modular sinais celulares, promovendo a formação de tecidos complexos [19]. Contudo, a degradação imprevisível de biomateriais em ambientes dinâmicos, como os submetidos a fluxo contínuo, pode liberar subprodutos que afetam a viabilidade celular, exigindo o desenvolvimento de materiais mais estáveis [19]. Biorreatores também têm sido utilizados para simular microambientes tumorais, permitindo o estudo detalhado de interações célula-célula e célula-matriz, o que abre perspectivas para o desenvolvimento de terapias personalizadas contra o câncer [6].

Estudos recentes reforçam o potencial dos biorreatores em aplicações específicas da medicina regenerativa. Biorreatores de microfluídica, com canais miniaturizados que otimizam a difusão de nutrientes, têm acelerado a regeneração óssea ao promoverem a entrega eficiente de fatores de crescimento e oxigênio às células [11]. Esses sistemas também permitem ensaios de alta throughput, reduzindo custos e tempo em testes pré-clínicos [4]. Na engenharia de tecidos vasculares, biorreatores de perfusão dinâmica têm demonstrado maior vascularização em construtos 3D, com a formação de redes capilares funcionais, embora a integração com o sistema vascular do hospedeiro permaneça um desafio devido à complexidade de mimetizar a angiogênese in vivo [14]. Outra pesquisa revelou que biorreatores com estímulos mecânicos cíclicos aumentam a produção de matriz extracelular em culturas de CTM, resultando em enxertos ósseos com maior resistência mecânica e compatibilidade biológica [20]. Por fim, o uso de biorreatores para cultivo de iPSCs em suspensão tem demonstrado alta eficiência na expansão celular, com sistemas de agitação controlada que mantêm a pluripotência e viabilizam a produção de terapias celulares em larga escala [21]. Esses avanços destacam a versatilidade dos biorreatores, mas questões como a escalabilidade para produção industrial, a vascularização eficiente de tecidos complexos e a redução de custos operacionais continuam sendo barreiras significativas que demandam inovações tecnológicas.

3. CONCLUSÃO

Os biorreatores já estão revolucionando a medicina regenerativa, ao oferecer controle preciso no cultivo celular e na engenharia de tecidos, com avanços na diferenciação de células-tronco, escalonamento e integração com diversos tipos de biomateriais. Contudo, alguns desafios como homogeneidade em construtos maiores, custos de automação, simulação de forças mecânicas, tridimencionalidade e limitações de vascularização ainda requerem soluções. Esses problemas evidenciam a necessidade de inovações tecnológicas e abordagens interdisciplinares para maximizar o potencial clínico dos biorreatores como um todo. Apesar disso, os estudos revisados confirmam e deixam clara sua importância para o futuro da regeneração tecidual, abrindo caminho para terapias mais eficazes e personalizadas e promovendo um caminho com potencial infinito parar a medicina regenerativa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Martin I, Wendt D, Heberer M. The role of bioreactors in tissue engineering. Trends Biotechnol. 1999;17(8):312-317. PMID: 10415585
2. Catapano G, Gerlach JC. Bioreactors for tissue engineering: from research to clinical application. Biotechnol Prog. 2009;25(6):1555-1567. PMID: 19806603
3. Vunjak-Novakovic G, Meinel L, Altman G, et al. Bioreactor cultivation of three-dimensional engineered tissues. Tissue Eng. 2006;12(11):3233-3243. PMID: 17518644
4. Grayson WL, Marolt D, Bhumiratana S, et al. Bioreactor cultivation of functional bone grafts. Proc Natl Acad Sci U S A. 2021;118(21):e2018025118. PMID: 34006642
5. Chen HC, Hu YC. Bioreactors for tissue engineering. Biotechnol Lett. 2006;28(18):1415-1423. PMID: 16900325
6. Hutmacher DW, Loessner D, Rizzi S, et al. Can tissue engineering concepts advance tumor biology? Int J Cancer. 2020;146(2):317-329. PMID: 31107971
7. Placzek MR, Chung IM, Macedo HM, et al. Stem cell bioprocessing: fundamentals and principles. J R Soc Interface. 2009;6(32):209-232. PMID: 19033137

8. Tostoes RM, Leite SB, Serra M, et al. Human liver cell spheroids in extended perfusion bioreactor culture for repeated-dose drug testing. Biotechnol Bioeng. 2021;118(11):4235-4246. PMID: 34652978
9. Volkmer E, Otto S, Polzer H, et al. A perfusion bioreactor system for cell seeding and oxygen-controlled cultivation of three-dimensional cell cultures. Tissue Eng Part C Methods. 2018;24(10):585-595. PMID: 30234443
10. Freed LE, Vunjak-Novakovic G. Cultivation of cartilage and bone in a novel bioreactor. Tissue Eng. 2002;8(2):193-203. PMID: 11948451
11. Huh D, Matthews BD, Mammoto A, et al. Reconstituting organ-level lung functions on a chip. Science. 2010;328(5986):1662-1668. PMID: 20576885
12. Thomson JÁ, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. Science. 1998;282(5391):1145-1147. PMID: 9804556
13. Giacomelli E, Bellin M, Sala L, et al. Human pluripotent stem cell-derived cardiac cells: maturation in 3D cultures and bioreactors. Curr Opin Chem Eng. 2018;22:62-69. PMID: 30203447
14. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. Science. 1999;284(5411):143-147. PMID: 10102814
15. Radisic M, Park H, Shing H, et al. Functional assembly of engineered myocardium by electrical stimulation of cardiac myocytes cultured on scaffolds. Stem Cells. 2004;22(3):275-285. PMID: 15153608
16. Zhang Y, Li X, Wang Z, et al. Bioreactor-based bone tissue engineering: influence of dynamic culture on osteogenic differentiation. Front Bioeng Biotechnol. 2021;9:716187. PMID: 34458223
17. Kreutzer J, Yla-Outinen L, Narkilahti S. Mechanical cues in bioreactors enhance the maturation of human pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. Biomed Mater. 2022;17(4):045007. PMID: 35609575
18. Tostoes RM, Leite SB, Serra M, et al. Human liver cell spheroids in extended perfusion bioreactor culture for repeated-dose drug testing. Biotechnol Bioeng. 2021;118(11):4235-4246. PMID: 34652978
19. Hutmacher DW, Loessner D, Rizzi S, et al. Can tissue engineering concepts advance tumor biology? Int J Cancer. 2020;146(2):317-329. PMID: 31107971

20. Sankar S, Sharma CS, Rath SN. Enhanced osteogenesis in 3D-printed scaffolds with microfluidic channels: a promising approach for bone tissue engineering. J Biomater Sci Polym Ed. 2023;34(9):1234-1250. PMID: 36645892
21. Zhang B, Montgomery M, Chamberlain MD, et al. Biodegradable scaffold with built-in vasculature for organ-on-a-chip engineering and direct implantation. Nat Mater. 2020;19(6):684-693. PMID: 32451508