



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

João Pedro Ferraz Costa

Relatórios de Estágios e Monografia intitulada “Bioimpressão 4D: Aplicações e perspetivas futuras” referentes à Unidade Curricular “Estágio” sob a orientação da Dra. Ana Leite e Silva, do Dr. Daniel Ribeiro e da Professora Doutora Carla Vitorino, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro de 2020



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

João Pedro Ferraz Costa

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Bioimpressão 4D: Aplicações e perspetivas futuras” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Ana Leite e Silva, do Dr. Daniel Ribeiro e da Professora Doutora Carla Vitorino, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2020

Declaração de Integridade

Eu, João Pedro Ferraz Costa, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2015241500, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documentos Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Bioimpressão 4D: Aplicações e perspectivas futuras” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda a qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 23 de setembro de 2020.

João Pedro Ferraz Costa

(João Pedro Ferraz Costa)

ÍNDICE

Capítulo I

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Lista de Abreviaturas	7
1. Introdução.....	8
2. Farmácia Coimbra	8
3. Análise SWOT	9
Pontos Fortes.....	9
- Formação contínua	9
- Localização e horário	10
- Heterogeneidade de utentes.....	10
- Equipa técnica da Farmácia Coimbra e integração dos estagiários	11
- Estruturação do plano de estágio	11
- Utilização de <i>robot</i>	12
Pontos Fracos.....	12
- Preparação de Manipulados.....	12
- Dermocosmética.....	13
Oportunidades	13
- Sistema de Pontos interno da Farmácia Coimbra.....	13
- Prescrição Por Denominação Comum Internacional (DCI)	14
Ameaças.....	14
- Desvalorização do papel do farmacêutico	14
- Locais de venda de MNSRM na periferia	15
- Alteração de preços dos MNSRM e alguns artigos de saúde e bem-estar.....	15
- Situação pandémica atual e condicionamento do estágio	15
4. Considerações Finais.....	16
5. Referências Bibliográficas.....	17

Capítulo II

Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

Abreviaturas.....	19
1. Introdução.....	20
2. Pharmilab.....	20
3. Análise SWOT	21
Pontos Fortes	21
- Adaptação do estágio às condições atuais.....	21
- Autonomia de trabalho.....	22
- Acesso a documentação regulamentar específica	22
Pontos Fracos.....	22
- Duração do estágio.....	22
- Planificação de estágio.....	22
- Ausência de vertente laboratorial.....	23
Oportunidades	23
- Plano curricular do curso de MICE	23
- Papel do farmacêutico na indústria Farmacêutica	23

Ameaças	24
- Situação pandémica atual.....	24
4. Considerações Finais.....	24
Capítulo III	
Bioimpressão 4D: Aplicações e perspectivas futuras	
LISTA DE ABREVIATURAS E ACRÓNIMOS	26
Resumo.....	27
Abstract.....	28
1. Introdução.....	29
2. A evolução: Da impressão 3D à bioimpressão 4D.....	30
3. Bioimpressão 4D.....	32
3.1 Definição	32
3.2 Classificação das técnicas de bioimpressão 3D e 4D.....	32
3.2.1 Micro-extrusão.....	33
3.2.2 Impressão a jato.....	34
3.2.3 Assistida por laser	35
3.2.4 Estereolitografia.....	36
3.3 Materiais sensíveis a estímulos.....	38
3.3.1 Materiais sensíveis a variações de temperatura	39
3.3.2 Materiais sensíveis à humidade.....	41
3.3.3 Materiais sensíveis à luz.....	42
3.3.4 Materiais sensíveis a forças magnéticas.....	42
3.3.5 Materiais sensíveis ao pH.....	44
3.4 Forças de tração celular.....	45
4. Aplicações da bioimpressão 4D	47
4.1 Stents.....	47
4.2 Transporte de fármacos.....	49
4.3 Regeneração de defeitos ósseos	51
4.4 Tratamento de feridas	52
5. Perspetivas futuras e desafios inerentes.....	54
6. Considerações Finais.....	54
7. Bibliografia.....	56

Agradecimentos

Aos meus pais, pelo amor e apoio demonstrado em todos os momentos deste percurso,
sem vocês nada disto era possível.

Ao meu irmão Gonçalo, profissional de excelência, por todos os ensinamentos e amizade
demonstrada ao longo dos anos.

À Phartuna – Tuna de Farmácia de Coimbra, pelas amizades e guitarradas vividas, que se
perpetuarão na cidade de Coimbra.

Aos meus amigos e colegas de casa, pela cumplicidade e por todo o apoio demonstrado ao
longo destes 5 anos, sem vocês este percurso não era o mesmo.

À Dra. Ana Leite e Silva e equipa técnica da Farmácia Coimbra, pelo profissionalismo e por
todos os valores inculcados.

Ao Dr. Daniel Ribeiro, pela boa disposição e pelo profissionalismo demonstrado durante
este período.

À Professora Doutora Carla Vitorino, pela disponibilidade e orientação realizada ao longo
dos últimos anos.

A ti, Coimbra, cidade dos estudantes onde os sonhos são realizados.

A todos vós, o mais honesto obrigado!

“Intelligence is the ability to adapt to change”

Stephen William Hawking



farmáciacoimbra

Capítulo I

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Farmácia Coimbra

Orientado pela Dra. Ana Leite e Silva

Lista de Abreviaturas

DCI – Denominação Comum Internacional

FC – Farmácia Coimbra

FFUC – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MNSRM – Medicamento Não Sujeito a Receita Médica

PVP – Preço de Venda ao Público

SARS-CoV-2 – Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2

SWOT – *Strengths; Weakness; Opportunities; Threats*

I. Introdução

O Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) tem a duração de 5 anos, sendo que este último culmina com a oportunidade de colocarmos em prática todos os conhecimentos adquiridos ao longo das várias unidades curriculares, através da realização de um estágio em Farmácia Comunitária. Este acarreta um grande papel na nossa vida enquanto agentes de saúde pública, pois é através deste que vamos dar os primeiros passos naquilo que é essência de ser farmacêutico.

A farmácia comunitária, possibilita ao farmacêutico tomar uma posição firme, ampla e eficaz enquanto agente saúde de pública, permitindo que este, possua um papel fundamental no uso racional e eficaz do medicamento e na prevenção e tratamento de patologias.

A concretização de um estágio em farmácia comunitária acaba por se tornar um passo importantíssimo naquilo que é a formação do estudante de hoje e do farmacêutico de amanhã. É nele que vamos aprender e desenvolver algumas capacidades pessoais e profissionais que certamente nos definirão como excelentes profissionais no futuro. É nele que aprendemos os pilares desta nobre profissão que sempre se foca no bem-estar e saúde dos cidadãos.

Deste modo, o presente relatório visa em descrever de uma forma concisa e justificada todas as atividades e funções que desempenhei ao longo do meu Estágio Curricular na Farmácia Coimbra (FC), que decorreu entre os períodos de 13 de janeiro de 2020 a 17 de março de 2020, de 8 de maio de 2020 a 29 de maio 2020 e de 24 agosto 2020 a 4 de setembro de 2020, sob a orientação do Dra. Ana Leite e Silva. Este é apresentado sobre a forma de uma análise SWOT, que destaca os pontos fortes (*Strengths*) a conservar, os pontos fracos (*Weaknesses*) a colmatar, as oportunidades (*Opportunities*) a considerar e as ameaças (*Threats*) que se devem ultrapassar.

2. Farmácia Coimbra

A FC localiza-se no Centro Comercial do CoimbraShopping, na Avenida Dr. Mendes Silva, em Coimbra. Esta encontra-se numa zona residencial e académica privilegiada, estando bastante próxima do Centro de Saúde Norton de Matos, levando uma grande abundância de utentes e uma conseqüente heterogeneidade de atendimentos. A FC encontra-se inserida no grupo “Walk on by”, que é um grupo ao qual pertencem diversas farmácias por todo o país.

É uma farmácia que possui um horário de funcionamento privilegiado e competitivo (de segunda a quinta-feira, das 9:00 às 23:00, sexta-feira e sábado, das 9:00 às 24:00 e domingo,

das 9:00 às 22:00), quando comparado com as farmácias em redor, permitindo assim suprimir as necessidades de utentes fidelizados e também de utentes pontuais.

A equipa da Farmácia Coimbra é constituída por uma equipa de 10 profissionais que se caracterizam pelo seu empenho e dinâmica em todas as atividades realizadas. É composta por 6 farmacêuticos, nomeadamente, Dra. Ana Leite e Silva (Diretora Técnica); Dra. Catarina Pereira (Farmacêutica Adjunta); Dra. Diana Ferreira (Farmacêutica Adjunta); Dra. Ana Sofia Gonçalves (Farmacêutica); Dra. Catarina Diogo (Farmacêutica) e Dr. Daniel Gonçalves (Farmacêutico). Para além dos farmacêuticos, é composta também por 3 Técnicos de Farmácia (Anabela Lopes; Cristiano Matos e Mariana Couras), e por uma Técnica Auxiliar de Farmácia (Débora Marques).

3. Análise SWOT

Tabela I: Análise SWOT do Estágio Curricular em Farmácia Comunitária

Pontos Fortes	Pontos Fracos	Oportunidades	Ameaças
<ul style="list-style-type: none"> - Formação contínua. - Localização e horário. - Heterogeneidade de utentes. - Equipa técnica da Farmácia Coimbra e integração dos estagiários. - Estruturação do plano de estágio. - Utilização de <i>robot</i>. 	<ul style="list-style-type: none"> - Preparação de Manipulados. - Dermocosmética. 	<ul style="list-style-type: none"> - Sistema de Pontos interno da Farmácia Coimbra. - Prescrição Por Denominação Comum Internacional (DCI). 	<ul style="list-style-type: none"> - Desvalorização do papel do farmacêutico. - Locais de venda de MNSRM na periferia. - Alteração de preços dos MNSRM e alguns artigos de saúde e bem-estar. - Situação pandémica atual e condicionamento do estágio.

Pontos Fortes

- Formação contínua

A FC apresenta uma variedade de gamas e produtos que vão ao encontro das inúmeras necessidades dos seus utentes. Uma grande parte desses produtos são completamente desconhecidos para nós estagiários, o que por vezes poderá levar a uma falta de confiança e conhecimento aquando a realização do aconselhamento farmacêutico. Sabendo dessa lacuna, a FC permitiu-nos participar em várias formações ao longo do estágio, sendo que todas elas

eram patrocinadas por diferentes laboratórios. Cada laboratório preparava uma apresentação onde abordava um produto ou até mesmo uma gama de produtos, sempre com o objetivo de apresentar as características dos mesmos e esclarecer eventuais dúvidas, recorrendo por vezes ao uso de amostras. As temáticas abordadas eram bastante diversificadas: dermocosmética, suplementação alimentar, dispositivos médicos e contraceção de emergência são alguns dos exemplos.

Tendo o estágio em Farmácia Comunitária um peso significativo no nosso percurso curricular, toda a aprendizagem profissional adquirida, seja ela proveniente do conhecimento da equipa técnica ou através de formações, acaba por se tornar uma mais-valia. Assim sendo, a meu ver, a realização destas formações tornou-se um ponto fulcral naquele que foi o meu crescimento enquanto estagiário. Através destas foi-me possível conhecer produtos inovadores, assim como algumas das suas principais características, vantagens e precauções, permitindo assim uma maior confiança na resposta às dúvidas dos utentes tendo-se traduzido num aconselhamento de melhor qualidade.

- Localização e horário

A FC pertence ao grupo de farmácias “Walk on by” encontra-se situada na superfície comercial CoimbraShopping desde 2011. Este shopping trata-se de um dos centros comerciais mais antigos da cidade de Coimbra, situado numa zona residencial e académica privilegiada. Este é repleto de serviços como supermercado, restaurantes, lojas, correios entre outros. De reforçar também, que existe um conjunto de lugares de estacionamento exclusivos para os utentes da farmácia favorecendo assim a adesão dos utentes.

Passando para a questão do horário, a FC possui um horário alargado e bastante competitivo, como já foi referido. Possibilitando aos estagiários complementar a suas atividades associativas com o estágio curricular, mas acima de tudo permite colmatar as necessidades dos seus utentes num horário mais abrangente do que a grande maioria das farmácias.

- Heterogeneidade de utentes

A localização e o horário privilegiado da FC permitiram-me contactar com utentes de realidades distintas (diferentes graus de literacia, diferentes faixas etárias, diferentes culturas ou até mesmo diferentes realidades financeiras), fazendo com que cada atendimento fosse único e desafiante à sua maneira.

Esta diversidade de utentes torna-se assim um ponto forte deste estágio, uma vez que nos possibilita desenvolver algumas *softskills*, no âmbito da comunicação com o próximo, permitindo assim uma adaptação do nosso discurso e da nossa postura sempre tendo em conta o utente à nossa frente.

- Equipa técnica da Farmácia Coimbra e integração dos estagiários

Um dos meus maiores receios à partida para este estágio passava muito pela integração na equipa técnica, no entanto, desde o primeiro dia a equipa técnica da FC mostrou-se sempre um grande auxílio em todas as fases deste estágio, fazendo-me sentir um membro da mesma. A equipa é constituída por 10 elementos, onde cada um possui função bem definida na estrutura da farmácia. A equipa caracteriza-se pela sua juventude, dinâmica de trabalho, mas acima de tudo pela sua dedicação naquilo que é ser um farmacêutico, passando muito pela educação para a saúde dos seus utentes.

De realçar também a posição e o trabalho incrível da Dra. Ana Leite e Silva, que ao longo destes meses motivou-me nesta longa aprendizagem e sempre zelou pelo bem-estar e coesão da equipa sem nunca esquecer os valores e os princípios do farmacêutico.

- Estruturação do plano de estágio

O planeamento do Estágio Curricular acabou por se tornar um dos grandes pontos fortes do meu estágio, uma vez que a sua execução possibilitou uma aprendizagem progressiva e estruturada da maioria das componentes inseridas na Farmácia Comunitária. Para além disso, permitiu-me adaptar, com relativa facilidade, à realidade que se vive nas farmácias atualmente, onde cada vez mais, os utentes são mais exigentes e informados havendo pouco espaço para errar.

Numa primeira fase, o estágio incidiu especialmente em atividades de *BackOffice*, como a receção de encomendas (diárias e mensais), gestão de *stocks*, verificação de validades e tratamento de medicamentos reservados.

A fase de *BackOffice*, enquanto base da gestão e sustentabilidade da farmácia acaba por ser fulcral no nosso crescimento enquanto estagiários. É nesta fase que aprendemos a associar os princípios ativos aos respetivos nomes comerciais, ficamos a conhecer quais os produtos com maior rotatividade na farmácia e por último, aprendemos a localização de certos medicamentos, facilitando futuros atendimentos.

A fase seguinte ao *BackOffice*, passa por assistir a atendimentos realizados pela equipa técnica da farmácia. Durante esta fase, adquirimos bases do Sifarma2000® (ex.: realização de vendas suspensas; realização de vendas através de receitas manuais; criação de ficha de utente), assim como a postura e linha raciocínio que devemos ter durante um atendimento. É neste período que aprendemos que cada atendimento é único à sua maneira e como tal, devemos ter a capacidade de nos adaptar tendo sempre em conta o utente à nossa frente.

Passando para a realização de atendimentos ao balcão, numa primeira instância estes são supervisionados por um farmacêutico permitindo assim um atendimento mais fluído e dinâmico. A partir do momento em que temos alguma confiança e postura, acabamos por realizar atendimentos de uma forma autónoma, onde somos expostos a diversas situações diariamente. No entanto, apesar de já termos capacidade de realizar o atendimento autónomo, toda a equipa técnica auxilia-nos sempre que haja uma dúvida mais específica ou até mesmo uma situação mais complicada que exija um maior nível preparação e conhecimento técnico.

- Utilização de robot

A FC possui na constituição um robot de arrumação e dispensa, o ROWA™ Vmax com capacidade para 12000 embalagens, que auxilia na receção de grandes encomendas e possibilita uma melhor gestão de *stocks* (ROWA, 2020). O contacto com o *robot* sempre foi natural e intuitivo, visto que as primeiras funções que me atribuíram foram a receção de medicamentos e arrumação de excessos recorrendo ao ROWA™. A utilização do *robot* constitui inúmeras vantagens no funcionamento da farmácia: permite poupar tempo na arrumação de medicamentos seguindo sempre a política do “*first expire, first-out*”; agiliza o atendimento ao público, poupando tempo na procura e recolha dos medicamentos e consequentemente uma maior disponibilidade no aconselhamento farmacêutico; por último, reduz a probabilidade de troca de medicamentos no ato da dispensa.

Pontos Fracos

- Preparação de Manipulados

Inicialmente, uma das minhas expectativas para o estágio era assistir/realizar alguma preparação de manipulados. No entanto, o mesmo não se verificou. A FC não realiza quaisquer tipos de manipulados nas suas instalações e acaba por canalizar os pedidos de preparação para uma das farmácias do grupo, nomeadamente a farmácia do Porto que dispõe de instalações bem equipadas. O processo é simples: o utente chega à farmácia com a prescrição do

manipulado; a mesma é enviada para a farmácia do Porto onde é realizado um orçamento e a consequente a preparação desse manipulado. O mesmo é depois enviado para a FC onde é entregue ao utente. A meu ver, este acaba por ser um dos pontos fracos deste estágio, uma vez que esta metodologia não me permitiu adquirir competências técnicas no âmbito da preparação de manipulados.

- Dermocosmética

A dermocosmética é um mundo amplo e complexo onde cada produto possui um conjunto de características muito próprias que visam em suprimir as necessidades de um utente em questão. Cada marca tem as suas gamas e nós enquanto estagiários somos confrontados com uma panóplia de gamas e produtos, muitos deles completamente desconhecidos, onde a sua aplicação varia consoante o utente que se encontra à nossa frente. A área da dermocosmética, acabou por se tornar um ponto fraco ao longo do estágio, uma vez que sempre foi uma área de menor interesse da minha parte, quando comparado com outras, e aprendizagem ao longo do ser mais deficitária. Apesar de terem sido realizados alguns esforços por parte da direção da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) em reformular o plano da disciplina de dermoscosmética, continua a faltar uma aplicação mais concreta entre os conceitos apreendidos e as gamas e os produtos existentes no mercado. Por último, a FC sempre se demonstrou capaz de responder a todas ou quaisquer dúvidas nesta área permitindo um crescimento teórico e prático ao longo do estágio. Não obstante, acredito que a FC beneficiaria da existência de alguém completamente especializado na área de dermocosmética, que acabaria por promover um melhor aconselhamento farmacêutico e uma aprendizagem mais consistente e eficaz ao longo do estágio.

Oportunidades

- Sistema de Pontos interno da Farmácia Coimbra

A FC faz parte do conjunto de farmácias que não aderiram ao Cartão Saúde, sendo este substituído por um sistema de pontos exclusivo da farmácia. O sistema é bastante simples onde cada euro gasto na farmácia corresponde a 1 ponto, sendo que quando atingidos 250 pontos o utente tem direito a um vale de 5€ numa compra à sua escolha. Este sistema é cumulativo, ou seja, podem ser aplicados 1 ou mais vales sendo que o desconto nunca deve ultrapassar o valor total da compra.

Este sistema acaba por se tornar uma oportunidade para os utentes, que podem usufruir dos vales de descontos em qualquer compra, como para a FC que consegue fidelizar um maior número de utentes e consequentemente uma melhor gestão de *stocks* e uma próspera relação entre o farmacêutico e o utente.

- Prescrição Por Denominação Comum Internacional (DCI)

Atualmente, a prescrição por DCI da substância ativa permite ao utente realizar uma escolha mais pessoal quanto ao medicamento que prefere levar, o de marca ou o respetivo genérico. Neste contexto, cabe ao farmacêutico tomar uma posição informativa e esclarecedora, tendo sempre em conta o tipo de utente que se apresenta à sua frente. Este deve informar que a segurança e eficácia do medicamento genérico acaba por ser igual ao medicamento de referência, para além de que o mesmo acaba por ser bem mais económico.

A escolha nem sempre é a mais consensual, acabando por se tornar um tema bastante debatido ao longo estágio. Alguns utentes acabam por escolher o medicamento genérico confiando sempre na qualidade, segurança e eficácia dos mesmos. Por outro lado, os utentes mais céticos ainda se demonstram pouco recetivos aos medicamentos genéricos, acabando na maioria dos casos por optar pelos quais se encontram familiarizados.

Cabe a nós, futuros farmacêuticos e agentes de saúde de pública, desmitificar, de forma coerente e concisa alguns receios e dúvidas dos utentes mais céticos. A prescrição por DCI possibilita-nos a aplicação teórica de muito conceitos apreendidos ao longo destes 5 anos de curso aumentando a nossa credibilidade enquanto estagiários. Para além disso, a escolha do medicamento genérico permite a sustentabilidade da farmácia, através de uma gestão de *stocks* mais equilibrada, e do próprio Serviço Nacional de Saúde.

Ameaças

- Desvalorização do papel do farmacêutico

Na atualidade, a posição do farmacêutico é cada vez mais ingrata uma vez que na maioria dos casos este é visto como um simples vendedor cuja sua função consiste apenas em dispensar a medicação prescrita pelo médico. Efetivamente esta situação acabou por se tornar muito recorrente ao longo do estágio, muito por culpa da FC se inserir num grande *Shopping* mas também pelo *mindset* dos utentes que banalizavam a importância da FC e simplesmente a viam como uma mera loja de retalho. Posto isto, cabe ao farmacêutico contornar esta situação,

que é recorrente, e mostrar a todos os utentes que é um agente de saúde pública competente e dedicado que se preocupa sempre com o bem-estar e segurança dos seus utentes.

- Locais de venda de MNSRM na periferia

A atualidade do panorama farmacêutico foi reformulada há uns anos, permitindo o crescimento significativo de novos espaços, como as parafarmácias e espaços de saúde, à qual foi permitida a dispensa de certos MNSRM, resultando na perda de exclusividade de dispensa de medicamentos pelas farmácias. Esta medida teve como objetivo expandir o acesso a alguns MNSRM a todos os cidadãos do país. No entanto, essa medida originou algumas dificuldades económicas para as farmácias, visto que muitos dos estabelecimentos de venda exclusiva de MNSRM estão associadas a grandes monopólios comerciais, onde a obtenção dos medicamentos acaba por ser realizada a preços inferiores.

Na atual conjuntura económica, o utente da atualidade tende a abdicar do aconselhamento farmacêutico competente pela busca de preços mais baratos, que nem sempre se verificam. Esta atitude pode progredir para situações onde a dispensa do medicamento não é a mais correta e conseqüentemente levar a situações de automedicação descontrolada. Posto isto, enquanto futuro agente saúde pública, considero que o papel do farmacêutico deve ser dado a conhecer a toda a sociedade, pois é através desta exposição que talvez seja possível mudar o estigma já existente e conseqüentemente haja uma preferência pelo atendimento competente em prol do preço mais baixo.

- Alteração de preços dos MNSRM e alguns artigos de saúde e bem-estar

Como já foi referido, a FC está inserida num grupo de farmácias e como tal os preços de venda ao público (PVP) de certos MNSRM e artigos de saúde e bem-estar, são definidos pelo departamento de compras do grupo. A alteração do PVP nestes produtos acabava por ser bastante frequente ao longo do estágio tornando-se assim uma ameaça para os utentes fidelizados, uma vez que já estão habituados aos preços praticados, acabando por gerar desconfiança e desagrado por parte dos mesmos.

- Situação pandémica atual e condicionamento do estágio

O ano de 2020 demonstrou-se um enorme desafio para a sociedade atual e para a forma como lidamos com a saúde pública. Foi ainda em 2019 que foram referenciados os primeiros casos de *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2)*, na cidade

de Wuhan na China (WHO,2020). Num “Piscar de olhos” a situação alastrou-se a todo o mundo acabando por ser declarado como pandemia a 11 de março de 2020 (WHO,2020). Esta situação afetou diretamente o funcionamento das farmácias, que desde o início se demonstraram dispostas a ajudar e a suprimir todas as necessidades da sociedade. Durante este período o funcionamento da farmácia ficou condicionado, o número de atendimentos foi reduzido, a variedade de utentes também, refletindo-se numa monotonia diária e um consequente decréscimo da qualidade de aprendizagem do estágio curricular.

Na minha ótica, a situação pandémica acabou por se tornar uma ameaça ao estágio realizado em farmácia comunitária, uma vez que provocou alteração significativa seu funcionamento habitual, que se resumiu no decréscimo substantivo da qualidade do ensino.

4. Considerações Finais

O estágio curricular realizado na FC demonstrou-se bastante enriquecedor uma vez que, permitiu a aplicação direta dos conhecimentos adquiridos ao longo dos 5 anos do curso de MICF. Para além da aplicação destes, possibilitou a aquisição de outros tantos que nos moldam e nos permitem crescer enquanto futuros profissionais de saúde.

A realização do estágio em farmácia comunitária permitiu-me contactar com a realidade vivida nas farmácias portuguesas, onde foi possível escrutinar o verdadeiro valor do papel farmacêutico para a sociedade atual. Para parte desta, o farmacêutico não passa de um mero dispensador de medicamentos, no entanto, para uma grande maioria, este acaba por se tornar o primeiro prestador de cuidados de saúde sempre que têm uma necessidade, permitindo assim a manutenção de um contacto de enorme proximidade entre o farmacêutico e o utente. Esta relação de proximidade acaba por se demonstrar bastante benéfica, uma vez que, permite ao farmacêutico sensibilizar a população à cerca de diversas temáticas como; o uso racional do medicamento; a adoção de um estilo de vida saudável ou até mesmo o uso correto da máscara. Acima de tudo, a posição do farmacêutico na sociedade atual não se resume apenas à posição de mestre do medicamento, mas sim à posição de um agente de saúde pública, essencial na divulgação de informação científica fidedigna.

Para concluir, acredito que a qualidade da aprendizagem adquirida está diretamente condicionada por todos aqueles que a transmitem. Neste sentido, gostaria de agradecer a toda a equipa da FC e em particular à Dra. Ana Leite e Silva e à Débora Marques, por toda a disponibilidade e confiança demonstrada, assim como por todos os ensinamentos transmitidos. Resta-me agradecer à FC por transmitir os valores daquilo que é a essência do farmacêutico, que certamente se perpetuarão ao longo do meu percurso profissional e pessoal.

5. Referências Bibliográficas

ROWA TECHONLOGIES – **ROWA Technologies. Pharmacy robots** [Acedido a 05/09/2020]. Disponível em <https://rowa.de/en/pharmacist/solutions/rowa-vmax-l30>

World Health Organization (WHO) – **Timeline of WHO's response to COVID-19** [Acedido a 05/09/2020]. Disponível em <https://www.who.int/news-room/detail/29-06-2020-covidtimeline>

World Health Organization (WHO) – **WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 - 11 March 2020**. [Acedido a 05/09/2020]. Disponível em <https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020>



pharmilab

Capítulo II
Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

Pharmilab

Orientado pelo Dr. Daniel Ribeiro

Abreviaturas

CIR – Cosmetic Ingredient Review

ECHA – *European Chemical Agency*

FFUC – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

IPN – Instituto Pedro Nunes

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

SARS-CoV2 – *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*

SCCS – *Scientific Committee on Consumer Safety*

SWOT – *Strengths; Weakness; Opportunities; Threats*

I. Introdução

Ao longo destes 5 anos, o curso do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) pela Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC), dá-nos as ferramentas teóricas necessárias para poder exercer em inúmeras áreas do setor farmacêutico, como a área regulamentar, o marketing ou a farmácia comunitária. Apesar de a vertente teórica ser bastante rica e vasta, a aplicação prática não é tão evidente, sendo apenas obrigatório neste último ano.

Neste sentido, com o objetivo de enriquecer a minha formação académica tive a oportunidade de realizar um estágio curricular na área de assuntos regulamentares de produtos cosméticos na empresa Pharmilab. Esta é uma empresa de consultoria regulamentar, sediada no Instituto Pedro Nunes (IPN), que se especializou na indústria dos produtos cosméticos.

De uma forma geral, o presente relatório destina-se a relatar as competências adquiridas durante a realização deste estágio curricular, que decorreu entre o período de 15 de junho de 2020 até 15 de agosto de 2020, sob a orientação do Dr. Daniel Ribeiro em regime de teletrabalho. Este é apresentado sobre a forma de uma análise SWOT, onde são evidenciados de forma crítica e construtiva os pontos fortes (*Strengths*), os pontos fracos (*Weakness*), as oportunidades (*Opportunities*) e ameaças (*Threats*) inerentes ao estágio curricular.

2. Pharmilab

A Pharmilab é uma empresa, com cerca de 8 anos de experiência dedicada à consultoria cosmética. Esta acompanha diversas marcas de cosméticos e auxilia-as em nas várias etapas inseridas na entrada do mercado que vão desde o registo de marcas ou produtos até ao crescimento da logística e distribuição. A Pharmilab é uma pequena empresa que se encontra inserida no IPN. O IPN corresponde a uma instituição privada sem fins lucrativos criada pela Universidade de Coimbra. Este é apelidado de incubadora de empresas que promove a investigação e o desenvolvimento tecnológico e formação especializada.

A Pharmilab divide-se fisicamente em 3 áreas: área laboratorial, área de escritórios ou de consultoria e a área de contabilidade. A área laboratorial é responsável pela realização de diversos testes como teste de *performance*, teste de estabilidade e teste microbiológico. A área de consultoria, ao contrário da área laboratorial foca-se na realização de um trabalho

mais teórico e técnico. Esta dedica-se à avaliação de formulações cosméticas que pretendem ingressar o mercado europeu. Nesta avaliação, são analisados todos os ingredientes/substâncias presentes na formulação cosmética e consequentemente verifica-se se os mesmos estão em conformidade com o regulamento europeu (CE) n.º 1223/2009. Após a análise de todos os constituintes do produto cosmético, é realizado um relatório de avaliação de segurança que é inserido num ficheiro final, designado Ficheiro de Informações do produto. Este ficheiro é um elemento crítico quando pretendemos colocar um produto cosmético no mercado.

3. Análise SWOT

Tabela I: Análise SWOT relativa ao estágio realizado na Pharmilab

Pontos Fortes	Pontos Fracos	Oportunidades	Ameaças
<ul style="list-style-type: none"> - Adaptação do estágio às condições atuais. - Autonomia de trabalho. - Acesso a documentação regulamentar específica. 	<ul style="list-style-type: none"> - Duração do estágio. - Planificação do estágio. - Ausência da vertente laboratorial. 	<ul style="list-style-type: none"> - Plano curricular do curso de MICF. - Papel do farmacêutico na indústria farmacêutica. 	<ul style="list-style-type: none"> - Situação pandémica atual.

Pontos Fortes

- Adaptação do estágio às condições atuais

O ano 2020 fica marcado pela pandemia COVID-19 que provocou uma alteração na forma como encaramos e trabalhamos nos dias de hoje. Neste sentido, a Pharmilab não ficou indiferente e teve de se adaptar ao panorama atual, vendo-se obrigada a realizar a maioria das suas funções em regime de teletrabalho. Esse regime foi aplicado ao meu estágio, tornando-se assim uma experiência diferente e atual. O regime de teletrabalho permitiu-me contactar com uma nova realidade que se poderá manter num futuro próximo. Deste modo, acredito que a realização do estágio em regime teletrabalho foi um ponto positivo, uma vez que me permitiu contactar com uma realidade distinta e recente onde os desafios inerentes são diferentes do regime trabalho convencional.

- Autonomia de trabalho

Desde cedo, o estágio na Pharmilab possibilitou-me a realização de um trabalho de forma independente, permitindo-me decidir quais as melhores metodologias e quais os melhores processos a utilizar na realização das tarefas atribuídas. Neste sentido, considero que a autonomia de trabalho permitiu-me desenvolver competências essenciais no mundo profissional, como a responsabilidade, o espírito crítico e o cumprimento de prazos.

- Acesso a documentação regulamentar específica

Ao longo do estágio curricular tive oportunidade de contactar diversas bases de dados interligadas com a área dos produtos cosméticos. *Cosmetic Ingredient Database (CosIng)*, *Cosmetic Ingredient Review (CIR)*, *European Chemical Agency (ECHA)* são alguns dos exemplos mais utilizados nesta área. Em associação com estas bases de dados existem outros documentos técnicos como as opiniões do *Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS)* e os Relatórios de Segurança do CIR que são essenciais aquando a realização da Ficha de segurança do produto cosmético. Para além das bases de dados e dos documentos técnicos tive um contacto aprofundado com o regulamento (CE) n.º 1223/2009 do Parlamento Europeu, que é específico para os produtos cosméticos que pretendem ingressar o mercado europeu.

Este tipo de documentação técnica era-me completamente desconhecida à partida para o estágio, e o facto de ter a oportunidade de contactar com a mesma, fez-me perceber que o contacto com esta é bastante relevante para a minha formação profissional futura.

Pontos Fracos

- Duração do estágio

O estágio realizado na Pharmilab foi o que sucedeu ao extenso estágio em farmácia comunitária, e teve a curta duração de dois meses. Na minha perspectiva, a duração do estágio em Indústria Farmacêutica deveria ser aumentada, permitindo assim um contacto mais duradouro com uma área menos conhecida e um consequente enriquecimento da formação profissional do aluno finalista.

- Planificação de estágio

O trabalho realizado na Pharmilab é condicionado pelo volume de clientes que contratam os seus serviços, fazendo com que o trabalho que chega ao estagiário esteja dependente dos mesmos. Esta dependência torna-se mais evidente quando não existe um

plano de estágio bem definido, fazendo com que a experiência de aprendizagem seja menos eficiente. Neste sentido, acredito que a ausência de uma boa planificação do estágio pode levar a que não ocorra um entendimento integral das atividades realizadas na área regulamentar e consequente subaproveitamento do estágio curricular.

- Ausência de vertente laboratorial

Como referido inicialmente, a Pharmilab para além da zona de escritórios que está destinada à área regulamentar, possui ainda uma zona laboratorial onde são realizados alguns estudos, sempre que sejam requeridos pelos clientes. A realização do estágio em laboratório, não ocorreu tornando-se assim um ponto menos positivo do mesmo. A meu ver, a inclusão de uma componente laboratorial no estágio curricular seria uma mais valia na formação aluno finalista. No entanto, reconheço que a inclusão de uma vertente laboratorial iria ser difícil de ser aplicada, tendo em conta a situação pandémica atual e os objetivos base do estágio.

Oportunidades

- Plano curricular do curso de MICF

O plano curricular do curso de MICF garante aos seus alunos um amplo conjunto de conhecimentos e as bases necessárias para que estes tenham a capacidade de realizar a sua atividade profissional em inúmeras áreas relacionadas com o medicamento. Ao longo destes cinco anos o curso ensina-nos que o “saber não ocupa lugar” e neste sentido a FFUC proporciona-nos um vasto leque de conhecimentos nas mais variadas áreas como a área regulamentar, o *marketing* farmacêutico ou a área da tecnologia do medicamento. A aquisição destes conhecimentos teóricos é uma mais valia no mundo profissional, permitindo a nós, futuros profissionais de saúde, marcar a diferença na área da indústria farmacêutica quando comparado com outros profissionais como engenheiros químicos, biólogos ou bioquímicos.

- Papel do farmacêutico na indústria Farmacêutica

A realização de um estágio em Indústria Farmacêutica é uma oportunidade incrível para os alunos da FFUC, permitindo a estes o desenvolvimento novas qualidades e aptidões que mais tarde se irão resumir em profissionais mais competentes, competitivos e experientes. A realização de um estágio nesta área acaba por se tornar uma excelente oportunidade para todos os estudantes que ambicionam realizar a atividade profissional noutra área que não seja a farmácia comunitária. Certamente, esta experiência é um bom começo para quem deseja

contruir uma futura carreira no ramo da indústria farmacêutica, que oferece um vasto leque de desafios e experiências.

Ameaças

- Situação pandémica atual

O ano de 2020 vai ficar marcado na história como um ano atípico onde a vida da sociedade em vivemos deu uma volta de 360 graus. No início deste, instalou-se uma situação pandémica devido ao *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2)*, que provocou uma mudança na forma como vivenciamos e trabalhamos nos dias de hoje. Esta situação condicionou o funcionamento da Pharmilab que teve de se adaptar às condições atuais, passando a realizar a maioria das suas atividades em regime de teletrabalho. Na minha perspetiva, esta situação acabou por se tornar uma ameaça uma vez que, condicionou o funcionamento normal do estágio, que se realizou em regime de teletrabalho durante um período de tempo inferior quando comparado com anos anteriores. Além do mais, a realização do estágio neste regime não permitiu um aproveitamento total do mesmo.

4. Considerações Finais

A Faculdade Farmácia da Universidade de Coimbra é uma casa que aposta na formação dos seus alunos, tornando-os profissionais cada vez mais versáteis e aptos à entrada no mercado de trabalho. Parte destas competências provêm da vertente teórica lecionada nas unidades curriculares, no entanto a grande maioria está diretamente relacionado com os estágios realizados neste último ano.

Neste sentido, o estágio realizado na Pharmilab permitiu-me desenvolver novas qualidades, profissionais e pessoais, que certamente me irão acompanhar ao longo da minha vida. Este permitiu-me adquirir novos conhecimentos ao nível dos assuntos regulamentares do produto cosmético, assim como permitiu trabalhar numa realidade que certamente se irá manter num futuro próximo, o teletrabalho.

Para finalizar, resta-me agradecer ao Dr. Daniel Ribeiro que aceitou realizar o estágio curricular neste período mais complicado. Além do mais gostaria de agradecer por todo o conhecimento transmitido e por toda a disponibilidade apresentada ao longos destes meses de estágio. Certamente foi uma experiência enriquecedora que permitiu o meu desenvolvimento pessoal e profissional.

Capítulo III

Monografia

“Bioimpressão 4D: Aplicações e perspectivas futuras”

Orientado pela Professora Doutora Carla Vitorino

LISTA DE ABREVIATURAS E ACRÓNIMOS

3D – Tridimensional

4D – Quadridimensional

ADN – Ácido desoxirribonucleico

AM – Alginato-metacrilado

AMH – Ácido hialurónico metacrilado

BMP-2 – Bone Morphogenetic protein-2

CE – Corpos embrióides

CEE – Células estaminais embrionárias

DOX – Doxorrubicina

FDA – *Food and Drugs Administration*

FTC – Forças de tração celular

MIT – *Massachusetts Institute Technology*

NP – Nanopartículas

PCL – Policaprolactona

PDA – Polidopamina

PEG – Polietilenoglicol

PLA – Poli(ácido láctico)

PMF – Polímero com memória de forma

PNIPAM – poli(N-isopropilacrilamida)

UV – Ultravioleta

Resumo

A impressão tridimensional (3D) é uma tecnologia com aplicação já amplamente estabelecida em inúmeras áreas, desde a indústria automóvel à indústria farmacêutica. No entanto, esta tecnologia apresenta como desvantagem clara a estaticidade das estruturas impressas. De modo a contornar esta limitação, a impressão quadridimensional (4D) emergiu como uma nova tecnologia que considera a variável tempo, incorporando-a nas estruturas impressas. Esta permite a obtenção de estruturas sensíveis a estímulos externos que podem ser biológicos, físicos ou químicos. A incidência destes estímulos permite que ocorra uma alteração da morfologia ou da função das estruturas impressas, com o progredir do tempo. Apesar de recente, a impressão 4D tem expandido horizontes e a sua aplicação foi alargada ao campo da bioimpressão. A bioimpressão 4D apresenta-se como uma tecnologia promissora especialmente quando aplicada às áreas de dispositivos médicos, engenharia de tecidos ou transporte de fármacos.

Esta monografia visa aprofundar o conceito de bioimpressão 4D, incluindo a abordagem às técnicas de produção e aos materiais sensíveis a estímulos que são usados, bem como as suas principais aplicações farmacêuticas/biomédicas e perspectivas futuras.

Palavras-chave: Impressão tridimensional (3D), Impressão quadridimensional (4D), Bioimpressão, Materiais sensíveis a estímulos externos, Aplicações biomédicas e farmacêuticas.

Abstract

Three-dimensional (3D) printing is a technology wherein its application is already well established in areas ranging from the auto industry to the pharmaceutical industry. This technology has a clear drawback, the structures remain static over time. In order to overcome it, the four-dimensional (4D) printing has emerged as a new technology that considers the time variable and incorporates it in the structures. It enables to obtain printed structures sensitive to external stimuli that can be biological, physical or chemical. The contribution of these stimuli allows a change in the morphology or function of the structures over time. Although recent, 4D printing has expanded horizons and its application has been expanded to the field of bioprinting. In this context, 4D bioprinting presents itself as a promising technology especially when applied to areas, such as medical devices, tissue engineering or drug delivery.

This monograph aims to deepen the concept of 4D bioprinting, including the production techniques and materials sensitive to stimuli that have been employed, as well as their pharmaceutical/biomedical applications and future perspectives.

Keywords: Three-dimensional (3D) printing; Four-dimensional (4D) printing; Bioprinting; Stimuli-responsive materials; Biomedical applications.

I. Introdução

A impressão tridimensional (3D) foi apresentada nos anos 80 como uma técnica inovadora onde a possibilidade de criar estruturas a três dimensões se tornou uma realidade cada vez mais acessível. A impressão 3D teve um crescimento nas décadas seguintes, com aplicação em variadas áreas, abrangendo, entre outras, a indústria automóvel, indústria alimentar e a área biomédica. Nesta última, a impressão 3D apresenta um lugar de destaque, uma vez que tem sido aplicada em diversos domínios, como por exemplo, no transporte de fármacos, desenvolvimento de próteses e de modelos anatómicos (Mills *et al.*, 2018). O conceito de impressão 3D expandiu-se e a sua aplicação em material biológico permitiu o desenvolvimento de um novo conceito – a bioimpressão 3D. Apesar de se tratar de uma tecnologia inovadora, esta apresenta uma limitação evidente: a estaticidade dos objetos impressos. Tendo por base esta limitação, um novo conceito emergiu na última década - a impressão quadridimensional (4D).

A impressão quadridimensional (4D) surgiu como uma nova tecnologia onde uma quarta variável, o tempo, se tornou o fator preponderante. De acordo com esta tecnologia, os objetos impressos têm a capacidade de modificar o seu tamanho, forma e função com o progredir do tempo. Apesar de se tratar de uma técnica recente, o futuro desta parece ser promissor, uma vez que já tem uma aplicação estabelecida em inúmeras áreas, inclusive na área da bioimpressão.

Esta monografia tem como objetivo expor o conceito de bioimpressão 4D, tendo como ponto de partida a impressão 3D. Numa primeira fase, serão enunciados e detalhados os princípios da impressão 4D, incluindo as técnicas de impressão e o tipo de materiais que lhe estão associados. Posteriormente, serão abordados exemplos onde esta é aplicada, assim como os desafios inerentes à sua implementação.

2. A evolução: Da impressão 3D à bioimpressão 4D

O início da impressão tridimensional (3D) é relativamente recente, tendo sido patenteada em 1986 por Charles W. Hull e tornado um marco na ciência moderna (Hull et al., 1984). Charles criou assim a primeira máquina de estereolitografia, capaz de imprimir uma estrutura sobre os três eixos, comprimento(X), largura(Y) e altura(Z), com recurso a dispositivos informáticos (Saptarshi et al., 2019). Estas eram estáticas e não se faziam apresentar com nenhum material biológico. A aplicação da impressão 3D pode ser constatada em várias áreas, como dispositivos médicos, indústria farmacêutica, indústria têxtil, indústria automóvel, entre outras (Murphy et al., 2014).

No âmbito da indústria farmacêutica, em 2015, a *Food and Drugs Administration* (FDA) aprovou o primeiro medicamento para uso humano, cuja produção passou pelo uso da técnica de impressão 3D. SPRITAM[®], nome comercial para a molécula levetiracetam, trata-se de um antiepiléptico desenvolvido pela Aprecia Pharmaceuticals (Aprecia Pharmaceuticals, 2015). Esta formulação recorre à tecnologia ZipDose[®], que permite a obtenção de medicamentos através de técnicas de impressão 3D. A tecnologia ZipDose[®] serve-se do uso de um fluido aquoso que permite unir as várias camadas de pó, em vez de recorrer às tradicionais forças de compressão (Aprecia Pharmaceuticals, 2015). O SPRITAM[®] caracteriza-se por uma elevada porosidade, permitindo o uso de significativas quantidades de princípio ativo. Para além disso, a elevada porosidade do SPRITAM[®] permite que haja uma rápida dissolução do fármaco quando em contacto com pequenas quantidades de água. Esta rápida dissolução garante uma maior conveniência e uma melhoria da adesão à terapêutica por parte dos doentes que apresentam dificuldades em deglutir comprimidos (Aprecia Pharmaceuticals, 2015). Este é comercializado em quatro dosagens diferentes 250 mg, 500 mg, 750 mg e 1000 mg.

Devido à constante evolução da técnica de impressão e da própria ciência, o conceito de impressão 3D expandiu-se e através da adição de material celular ou material biológico surgiu um novo conceito, a bioimpressão tridimensional.

A bioimpressão 3D é uma das categorias da impressão 3D, podendo ser definida como a técnica de impressão de estruturas a três dimensões constituídas por células viáveis, biomateriais ou moléculas biológicas em associação com polímeros, a uma escala micrométrica (Derakhshanfar et al., 2018; Moroni et al., 2018). A bioimpressão 3D possibilita a criação de estruturas com uma microarquitetura apropriada que permite uma estabilidade mecânica e, conseqüentemente, uma melhoria da viabilidade celular (Kačarević et al., 2018). Apresenta-se assim como um conceito inovador e bastante versátil podendo ser aplicado em diversas áreas

como *screening* de fármacos, investigação no tratamento do cancro, engenharia de tecidos e medicina regenerativa (Ozbolat, 2017).

A base da bioimpressão 3D é a biotinta que compreende um polímero ou conjunto de polímeros (ex. alginato, agarose, polietilenoglicol) que são utilizados para encapsular material biológico (Kačarević *et al.*, 2018). Apesar dos constituintes possuírem uma grande importância na qualidade da impressão, há outros parâmetros que devem ser tidos em consideração, como a viscosidade e a capacidade de reticulação (Kačarević *et al.*, 2018). Esta pode ser realizada através de diversas técnicas, tais como a impressão a jato, micro-extrusão, assistida por laser e estereolitografia. A descrição detalhada de cada técnica, bem como a enumeração dos respetivos pontos fortes e fracos serão abordados na Secção 3.2.

Apesar de ser considerada uma inovação na ciência atual, a bioimpressão está associada a uma grande limitação: as estruturas impressas são estáticas e não apresentam variações da sua forma, acabando por se tornar uma condicionante na impressão 3D e na sua aplicação a nível biológico. Tendo por base esta lacuna nasce então a impressão quadridimensional (4D), em 2014, pelas mãos de Skylar Tibbits, diretor do laboratório de “*Self-assembly lab*” do *Massachusetts Institute of Technology (MIT)* (Tibbits, 2014) (Figura 1).

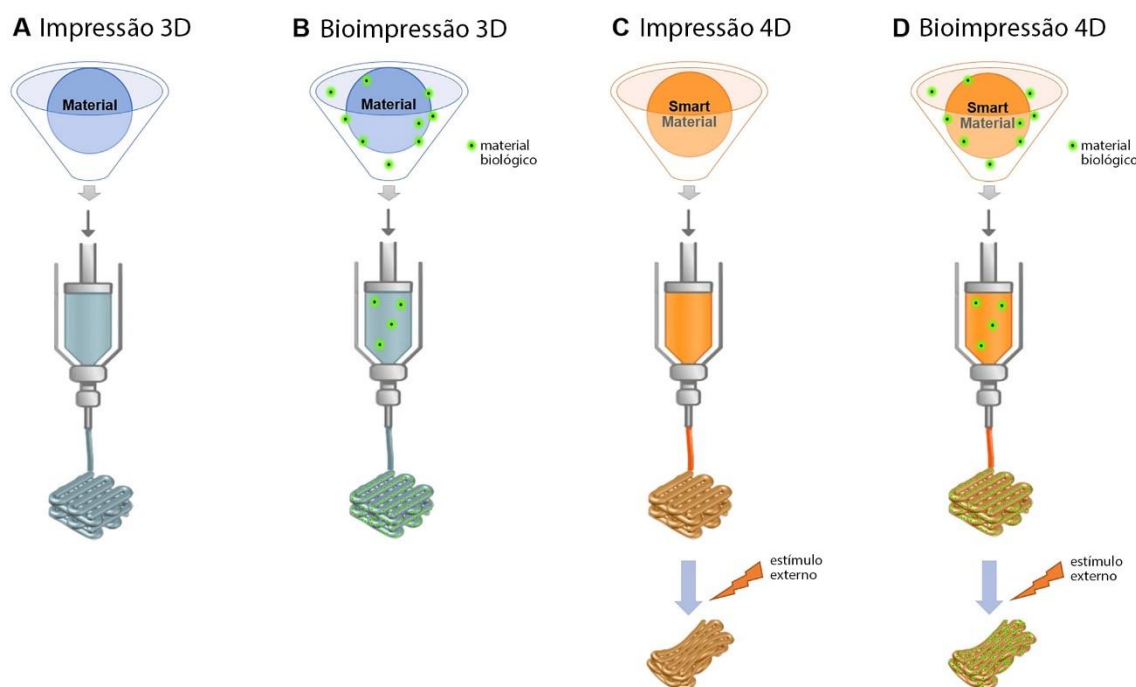


Figura 1: Representação esquemática das diferentes técnicas de impressão: **A** - impressão 3D; **B** - bioimpressão 3D; **C** - impressão 4D; **D** - bioimpressão 4D. Adaptado com permissão de (Ashammakhi *et al.*, 2018).

3. Bioimpressão 4D

3.1 Definição

A impressão 4D pode ser definida como uma melhoria da técnica de impressão 3D, segundo a qual o tempo é considerado uma quarta variável. Nesta técnica, as estruturas impressas têm a capacidade de reagir a certos estímulos externos, como a temperatura, humidade, pH, campo magnético ou campo elétrico, permitindo assim uma alteração da sua morfologia ou função com o avançar do tempo (Gao *et al.*, 2016).

À semelhança da impressão 3D, onde se verificou uma rápida evolução para a bioimpressão 3D, o mesmo sucedeu na impressão 4D que muito rapidamente teve a sua aplicação em material biológico dando origem à bioimpressão 4D. A definição de bioimpressão 4D ainda não reúne consenso por parte da comunidade científica, acabando por ser um termo abrangente. Assim sendo, pode ser definida como a técnica de impressão de bioestruturas que têm a capacidade de alterar a sua morfologia com o decorrer do tempo, sendo esta alteração provocada por um estímulo externo (Yang *et al.*, 2020). O termo impressão 4D pode referir-se a bioimpressão 4D caso satisfaça um dos seguintes requisitos: os objetos impressos devem ser biocompatíveis e possíveis de transplantar para o corpo humano; os objetos impressos podem ter aplicações biomédicas e, por último, os objetos impressos devem ter na sua constituição material biológico (células viáveis ou moléculas biológicas) (Yang *et al.*, 2020).

Resumindo, a bioimpressão 4D caracteriza-se então pela alteração da morfologia dos objetos impressos, seja através do aumento ou redução de tamanho, da alteração da sua estrutura ou da sua função, com o passar do tempo (Ashammakhi *et al.*, 2018; Yang *et al.*, 2020). A alteração da função acaba por ter uma aplicação mais evidente quando falamos da evolução a nível celular, onde visualizamos alguns processos biológicos e algumas variações a nível comportamental das células (Ashammakhi *et al.*, 2018; Yang *et al.*, 2020).

3.2 Classificação das técnicas de bioimpressão 3D e 4D

As técnicas de impressão 4D apresentam semelhanças com as técnicas de impressão 3D, representando uma versão melhorada das últimas (Firth *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2017). Algumas técnicas, como a micro-extrusão, impressão a jato, estereolitografia ou técnica assistida por laser, são utilizadas desde os primórdios da impressão 3D e até hoje mantêm-se como técnicas de eleição na bioimpressão (Murphy *et al.*, 2014). Cada técnica apresenta vantagens e limitações, bem como características próprias que serão apresentadas e evidenciadas na Tabela I.

3.2.1 Micro-extrusão

A técnica de extrusão já é aplicada na sociedade há alguns anos, tendo sido inicialmente utilizada na formação de produtos à base de metal e plástico (Ozbolat *et al.*, 2016). Com o passar dos anos e com o aumento das necessidades da sociedade, a sua aplicação passou para a bioimpressão. A técnica de micro-extrusão serve-se do uso da pressão, pneumática ou manual, que promove a passagem de biotinta através de um micro-bocal (Li *et al.*, 2017) (Figura 2). A biotinta, expelida pelo micro-bocal, é depositada camada-a-camada, resultando num conjunto de filamentos cilíndricos constituídos por um grupo de células viáveis que dão origem a inúmeras estruturas tridimensionais, que podem deter várias formas e tamanhos, previamente definidos com auxílio informático (Ozbolat *et al.*, 2016).

A técnica de micro-extrusão é caracterizada pela sua capacidade de depositar uma elevada quantidade de material celular, resultando em estruturas com elevada densidade celular (Derakhshanfar *et al.*, 2018). Esta característica é bastante relevante quando abordamos a questão da produção de tecidos e órgãos para a aplicação clínica (Murphy *et al.*, 2014). Por outro lado, a técnica demonstra algumas limitações que devem ser evidenciadas, como a baixa resolução (>100µm), que não permite a obtenção de estruturas de tamanhos reduzidos, a viabilidade celular e a velocidade de impressão, que se apresentam como inferiores quando comparadas com outras técnicas (Kačarević *et al.*, 2018).

De uma forma geral, a técnica de micro-extrusão apresenta-se promissora no futuro da bioimpressão, especialmente quando falamos a nível de impressão de tecidos onde a sua aplicação já se encontra bem estabelecida, quer seja na impressão de válvulas aórticas, vasos sanguíneos ou de modelos tumorais (Murphy *et al.*, 2014).

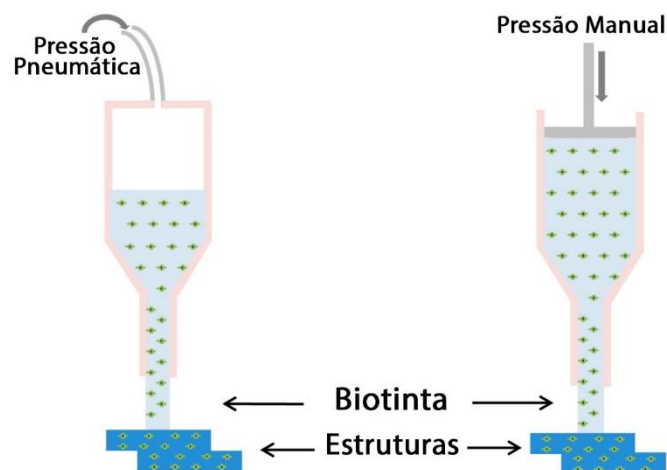


Figura 2: Representação esquemática da técnica de micro-extrusão. Do lado esquerdo representada pelo uso de pressão pneumática e do lado direito pelo uso de pressão manual. Adaptado de (Kačarević *et al.*, 2018).

3.2.2 Impressão a jato

A técnica de impressão a jato começou por ser a primeira técnica utilizada na impressão de material biológico, recorrendo a impressoras já comercializadas (Murphy *et al.*, 2014). No entanto, as primeiras tentativas acabaram por não ser muito bem-sucedidas, uma vez que o material biológico acabava por morrer assim que entrava em contacto com o substrato. Para solucionar este problema, foram criadas biotintas constituídas por hidrogéis à base de PEG ou PVA, capazes de encapsular material celular, permitindo assim manter a integridade dos mesmos (Kačarević *et al.*, 2018).

A técnica de impressão a jato pode recorrer a duas forças externas, calor e vibrações acústicas, permitindo a libertação da biotinta através do bocal (Murphy *et al.*, 2014). A designação da técnica reflete assim a força utilizada: o calor origina a técnica de impressão a jato com calor e as vibrações acústicas originam a técnica de impressão a jato piezoelétrico (Murphy *et al.*, 2014) (Figura 3).

A técnica de impressão a jato com calor é relativamente simples. Inicia-se pelo aquecimento da biotinta, que se encontra na cabeça de impressora, levando à formação de uma bolha interna e, conseqüentemente, a um aumento da pressão interna. Esse aumento de pressão permite que a biotinta seja expelida pelo bocal através de pequenas gotículas, formando uma estrutura desejada com células viáveis (Murphy *et al.*, 2014). Apesar de ser uma técnica que usa temperaturas elevadas (entre os 100°C e os 300°C), vários estudos têm concluído que esse aumento de temperatura é localizado e só ocorre durante um curto período de tempo, fazendo com que a viabilidade das estruturas biológicas seja mantidas (Xu *et al.*, 2005).

Por outro lado, a técnica de impressão a jato piezoelétrico utiliza um cristal piezoelétrico onde é aplicada uma voltagem que promove a formação de vibrações acústicas, que permitem a libertação da biotinta presente na cabeça da impressora através do bocal (Murphy *et al.*, 2014). A libertação da biotinta pelo bocal só ocorre quando a energia cinética gerada pelo cristal é superior à energia de superfície necessária para formar uma gotícula. Assim sendo, é importante referir que a velocidade de libertação de gotículas está diretamente relacionada com a energia cinética criada inicialmente, verificando-se que quanto maior for a energia cinética gerada, maior será a velocidade de libertação das gotículas (Tekin *et al.*, 2008).

A técnica de impressão a jato caracteriza-se por ser uma técnica económica, associada a uma velocidade de impressão elevada. Para além destas características, apresenta uma

resolução de 50 μ m, sendo superior a outras técnicas e caracteriza-se por uma elevada viabilidade celular (Kačarević *et al.*, 2018).

Para além das vantagens enumeradas, esta técnica apresenta algumas limitações, tais como: baixa densidade celular das estruturas impressas; obrigatoriedade do material biológico se encontrar no estado líquido para permitir a formação de gotículas e o facto da cabeça da impressora não permitir a impressão num fluxo contínuo (Derakhshanfar *et al.*, 2018; Murphy *et al.*, 2014)

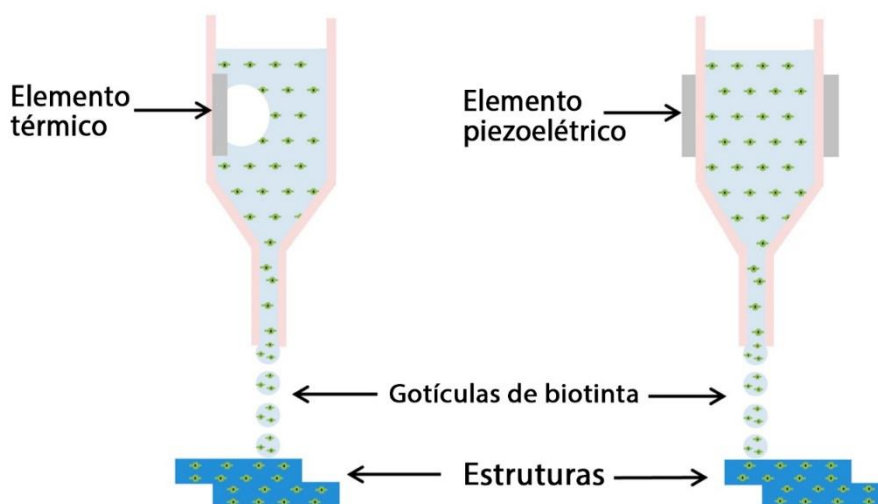


Figura 3: Representação esquemática da técnica de impressão a jato e das suas duas variantes. Do lado esquerdo a variante da técnica que recorre à utilização de calor e do lado direito a variante da técnica que recorre ao uso de um cristal piezoelétrico. Adaptado de (Kačarević *et al.*, 2018).

3.2.3 Assistida por laser

A técnica assistida por laser foi apresentada pela primeira vez em 1986 com o objetivo de obter estruturas metálicas 3D (Bohandy *et al.*, 1986). No entanto, a sua aplicação rapidamente migrou para o campo da bioimpressão com relativo sucesso. Quando comparada com outras técnicas, como por exemplo, a impressão a jato ou micro-extrusão, esta não é a mais utilizada, no entanto, tem cada vez mais aplicabilidade no ramo da engenharia de tecidos e órgãos (Murphy *et al.*, 2014).

Esta técnica baseia-se essencialmente em três elementos: uma fonte de laser pulsátil; uma fita dadora, que é constituída por três camadas - uma camada de vidro que permite a passagem de radiação com determinado comprimento de onda (camada de suporte), uma camada fina de metal, como o ouro ou titânio (camada que absorve a energia), e uma última camada que corresponde à biotinta, constituída por material biológico, que se encontra no

estado líquido e um substrato que vai receber as gotículas da fita dadora que contêm material biológico (Murphy *et al.*, 2014) (Figura 4). A técnica consiste em incidir o laser pulsátil, sobre a fita dadora, fazendo com que haja um aumento de pressão. Este aumento permite que haja a formação de uma gotícula de biotinta que vai depositar-se sobre o estrato, formando assim a estrutura 3D (Kačarević *et al.*, 2018).

Relativamente às vantagens da técnica assistida por laser, esta caracteriza-se pela sua elevada resolução (10µm), pela capacidade de depositar biomateriais quer no estado líquido quer no estado sólido e pela ausência de um bocal, evitando a acumulação de material biológico e biotintas e conseqüente obstrução verificada noutras técnicas, como no caso da micro-extrusão ou impressão a jato (Derakhshanfar *et al.*, 2018; Murphy *et al.*, 2014).

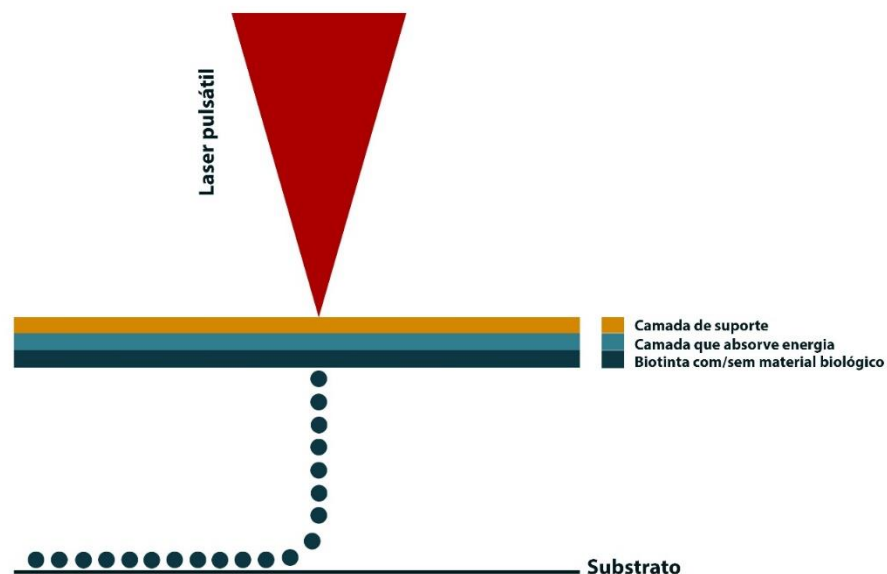


Figura 4: Representação esquemática da técnica assistida por laser e dos seus três elementos: laser pulsátil, fita dadora e o substrato. Adaptado de (Derakhshanfar *et al.*, 2018).

3.2.4 Estereolitografia

Estereolitografia é um termo que foi inicialmente criado por Charles W. Hull em 1986(Hull *et al.*, 1984). Esta técnica é definida como um sistema de impressão 3D, segundo o qual são impressas várias camadas finas, dispostas umas em cima das outras (Kačarević *et al.*, 2018). Nesta técnica, a biotinta encontra-se no estado líquido dentro de um tanque, sendo posteriormente solidificada através de um feixe incidente de luz ultravioleta (UV) ou luz visível. Este feixe ao atingir a biotinta transfere energia necessária para estimular os fotoiniciadores, ocorrendo a polimerização dos materiais (Kačarević *et al.*, 2018)(Figura 5).

Os fotoiniciadores são moléculas químicas que reagem a estímulos luminosos (luz UV ou visível) e promovem a polimerização dos monómeros. Os fotoiniciadores em conjunto com os monómeros, acabam por formar cadeias poliméricas altamente reticuladas, dando origem a uma estrutura 3D (Kačarević *et al.*, 2018). Para além do feixe luminoso, a plataforma axial vai-se movimentando ao longo dos vários eixos (X,Y,Z) durante a impressão do objeto pretendido (Kačarević *et al.*, 2018). De realçar que a movimentação da plataforma axial ao longo dos vários eixos é previamente definida através de programação informática, de forma a estabelecer a estrutura 3D pretendida (Kačarević *et al.*, 2018).

Relativamente aos fotoiniciadores, estes são sensíveis a diferentes comprimentos de onda, que podem ir desde o UV, que é o mais comum, ao visível (Derakhshanfar *et al.*, 2018). Além do mais, a concentração destes pode ter efeitos citotóxicos no material biológico a utilizar, sendo a citotoxicidade diretamente relacionada com a concentração de fotoiniciadores (Kačarević *et al.*, 2018). A eosina Y utilizada com a luz visível e o irgacure 2959 utilizado com a luz UV, são dois exemplos de fotoiniciadores que demonstraram uma menor toxicidade (Kačarević *et al.*, 2018).

Esta técnica apresenta inúmeras vantagens, tais como: ausência de um bocal, o que permite uma diminuição da pressão existente quando comparada com outras técnicas; elevada viabilidade celular e uma elevada resolução (5-300µm) (Kačarević *et al.*, 2018).

A grande limitação desta técnica é a utilização de fotoiniciadores que recorrem a luz UV que, como é conhecido, podem provocar danos a nível celular e induzir citotoxicidade das mesmas (Derakhshanfar *et al.*, 2018).

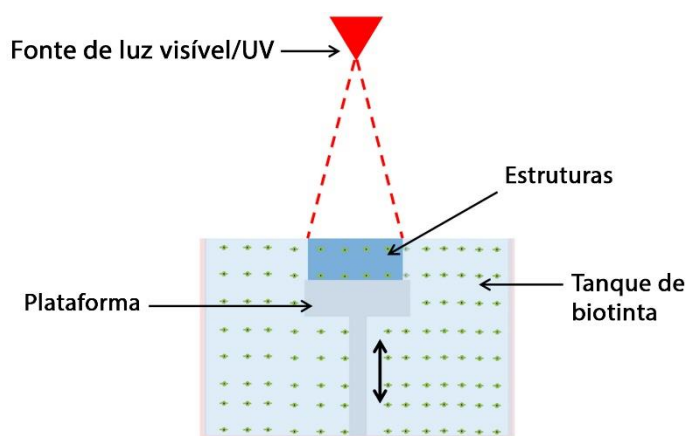


Figura5: Representação esquemática da técnica de estereolitografia. Adaptado de (Kačarević *et al.*, 2018).

Tabela I. Resumo das técnicas de bioimpressão abordadas. (Adaptado de Derakhshanfar *et al.*, 2018; Kačarević *et al.*, 2018; Murphy e Atala, 2014).

	Micro-extrusão	Impressão a jato	Assistida por laser	Estereolitografia
Resolução	100µm	50µm	10µm	5-300µm
Velocidade de impressão	Lenta	Rápida	Rápida	Intermédia
Densidade celular	Elevada	Reduzida	Moderada	Moderada
Viabilidade celular	>85%	80-90%	<85%	>90%
Custo de produção	Moderado	Reduzido	Elevado	Moderado

3.3. Materiais sensíveis a estímulos

Como anteriormente referido, a impressão 4D, caracteriza-se pela alteração da estrutura do objeto impresso com o progredir do tempo. Nem sempre a alteração é espontânea, sendo na maioria dos casos auxiliada por materiais que reagem a determinados estímulos externos, os materiais “inteligentes”. Assim, estes materiais acabam por se tornar a base da impressão 4D (Zhang *et al.*, 2019).

Dentro dos materiais “inteligentes”, encontram-se os polímeros com memória de forma (PMF, do inglês *Shape Memory Polymers*). Os PMF apresentam-se como uma classe inovadora, sendo dos polímeros mais utilizados na atualidade. Estes são caracterizados por terem a capacidade de alterar a sua forma inicial para uma segunda forma, durante um determinado período de tempo. Os PMF têm a capacidade de assumir a forma permanente, quando o polímero em questão está sob o efeito de um estímulo externo, seja este a luz, o calor, a humidade ou o pH. Quando o estímulo externo deixa de existir, o PMF volta à sua forma temporária (Behl *et al.*, 2007).

Relativamente à sua constituição, os PMF consistem numa cadeia de polímeros elásticos, como por exemplo, poli(N-isopropilacrilamida) (PNIPAM) ou policaprolactona (PCL) que possuem transições sensíveis a estímulos externos (Gao *et al.*, 2016).

De uma forma simplificada, os PMF são polímeros que podem assumir duas formas: a forma A, ou temporária e a forma B, inicial ou permanente. A variação entre as duas formas é provocada pelo estímulo externo, apresentando a capacidade de voltar sempre à sua forma inicial (Behl *et al.*, 2007). Apesar de ser uma característica de grande relevo, a alteração da

forma não é uma propriedade intrínseca destes polímeros. O PMF é produzido através de técnicas convencionais como a extrusão ou injeção no molde, obtendo assim a forma inicial ou **forma B**. Esta forma vai passar pela primeira etapa que corresponde à etapa de programação, onde o polímero, com a forma inicial, vai sofrer uma deformação e passa a ter a forma temporária, a **forma A**. Após obtenção da forma temporária, ocorre então a segunda etapa, designada por etapa de recuperação. Nesta etapa, o PMF é ativado por um estímulo externo, permitindo que este assuma a sua forma inicial, ou **forma B**. Deste modo, completa-se assim um ciclo de alteração da forma do polímero de memória de forma. De realçar que este ciclo pode ser repetido inúmeras vezes, e a forma temporária, forma A, pode assumir diversas morfologias entre cada ciclo (Behl *et al.*, 2007).

A par dos PMF, os hidrogéis são uma classe de materiais bem estabelecida na impressão 4D. Os hidrogéis consistem em redes de cadeias poliméricas, que ao contactarem com um solvente, seja este a água ou outro solvente, vão intumescer e, conseqüentemente, alterar o seu volume (Mirani *et al.*, 2017). Os hidrogéis podem ser constituídos por polímeros naturais ou por polímeros sintéticos (Liu *et al.*, 2019). Os polímeros de origem natural, como o alginato, o quitosano ou o colagénio, apresentam uma excelente biocompatibilidade e biodegradabilidade. Por outro lado, os polímeros sintéticos, como o polietilenoglicol (PEG) ou o álcool polivinílico, apresentam uma biocompatibilidade e biodegradabilidade inferiores relativamente aos polímeros naturais. No entanto, a preparação destes é mais controlada culminando com uma melhoria das suas propriedades mecânicas (Liu *et al.*, 2019).

Os materiais sensíveis a estímulos possuem um grande potencial para serem usados em biotintas, uma vez que são biocompatíveis e facilmente impressos. Estes materiais têm a capacidade de responder a determinados estímulos, sejam estes físicos (como a humidade, a temperatura, a luz, o campo elétrico ou campo magnético), biológicos (como a glicose ou certas enzimas) ou químicos (como o pH ou a concentração de iões) (Gao *et al.*, 2016).

3.3.1 Materiais sensíveis a variações de temperatura

Os materiais que respondem às variações de temperatura são conhecidos por terem a capacidade de alterar as suas propriedades físico-químicas sempre que ocorra um aumento ou decréscimo da temperatura envolvente (Ashammakhi *et al.*, 2018). Neste tipo de materiais é muito importante termos em conta a temperatura crítica de solução (TCS). Esta corresponde à temperatura que define o estado físico do material: caso a temperatura seja inferior à TCS, o material encontra-se completamente dissolvido.

Um dos materiais mais utilizados é o PNIPAM – poli(N-isopropilacrilamida) - que possui um TCS de aproximadamente 33°C, quando se encontra em meio aquoso. Quando este polímero se encontra abaixo dos 33°C, as cadeias poliméricas estão distendidas e o polímero encontra-se dissolvido na fase aquosa. Quando a temperatura é superior à TCS, as cadeias poliméricas encontram-se condensadas e agrupadas tornando-se insolúveis em meio aquoso (Wei *et al.*, 2009).

A versatilidade do PNIPAM permitiu a sua aplicação com outros polímeros hidrofóbicos, formando estruturas micelares constituídas por um núcleo e uma ou várias camadas envolventes. Estas estruturas têm sido utilizadas como transportadores de fármacos e permitiram uma libertação controlada dos mesmos. A libertação dos fármacos está dependente da TCS da estrutura micelar. Deste modo, a temperatura envolvente à estrutura micelar vai definir quando é que ocorre ou não a libertação do fármaco, permitindo assim um maior controlo e eficácia da libertação do fármaco na(s) célula(s) alvo (Wei *et al.*, 2009).

Um exemplo da utilização do PNIPAM no transporte de material biológico, consistiu na criação de uma cápsula auto-dobrável em forma de estrela de seis pontas para encapsular leveduras, composta por duas camadas poliméricas. A primeira camada é constituída por policaprolactona (PCL) que se caracteriza por ser biodegradável e hidrofóbica, enquanto que a segunda camada é constituída por PNIPAM e 4-acrilobenzofenona (ABP), formando o copolímero poli (NIPAM-ABP). Esta última vai ser responsável pela condensação/expansão da cápsula, de acordo com a temperatura envolvente (Stoychev *et al.*, 2011).

De uma forma simplificada, numa fase inicial a cápsula encontra-se totalmente expandida, devido à temperatura envolvente ser superior à TCS, permitindo assim o encapsulamento das leveduras no seu interior. Após esta fase, ocorre o decréscimo da temperatura, promovendo o intumescimento da camada que contém o PNIPAM e a dobragem da cápsula. Numa fase final, quando a temperatura envolvente volta a ser superior à TCS, ocorre a abertura da cápsula e conseqüente libertação do material celular (Stoychev *et al.*, 2011).

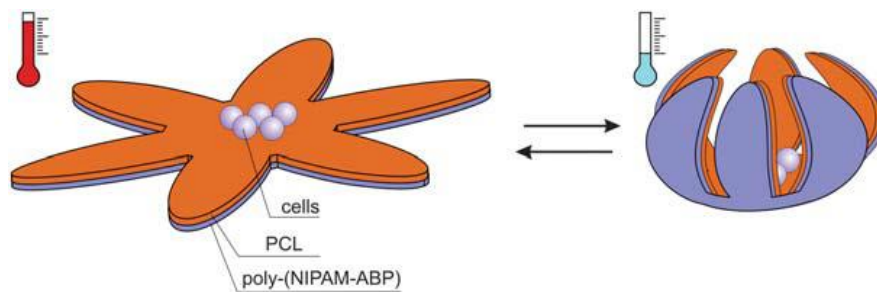


Figura 6: Representação ilustrativa da cápsula em estrela de seis pontas, nos seus dois estados “distendido” e “condensado”. O estado “distendido” ocorre quando a temperatura é superior à TCS, e o estado “condensado” ocorre quando a temperatura é inferior à TCS. Retirado com permissão de (Stoychev, Puretskiy e Ionov, 2011).

3.3.2 Materiais sensíveis à humidade

Os materiais suscetíveis às variações de humidade têm a capacidade de expandir ou condensar consoante a humidade envolvente. Este processo de expansão e condensação do material permite que haja uma alteração da forma do mesmo (Haan, De *et al.*, 2014).

Jamal e colaboradores desenvolveram uma dupla camada constituída por um hidrogel de polietilenoglicol (PEG) que se caracteriza pela sua capacidade de “auto-dobragem” (Jamal *et al.*, 2013). As duas camadas de PEG apresentam pesos moleculares distintos e são impressas uma sobre a outra. Quando a dupla camada é colocada em solução aquosa, esta automaticamente assume uma forma 3D em forma de tubo (Figura 7) (Jamal *et al.*, 2013). Neste estudo, foi ainda demonstrada a biocompatibilidade da dupla camada de PEG através da encapsulação de células pancreáticas β após incorporação no hidrogel. A biocompatibilidade foi avaliada através da capacidade de produção de insulina pelas células β (Jamal *et al.*, 2013).

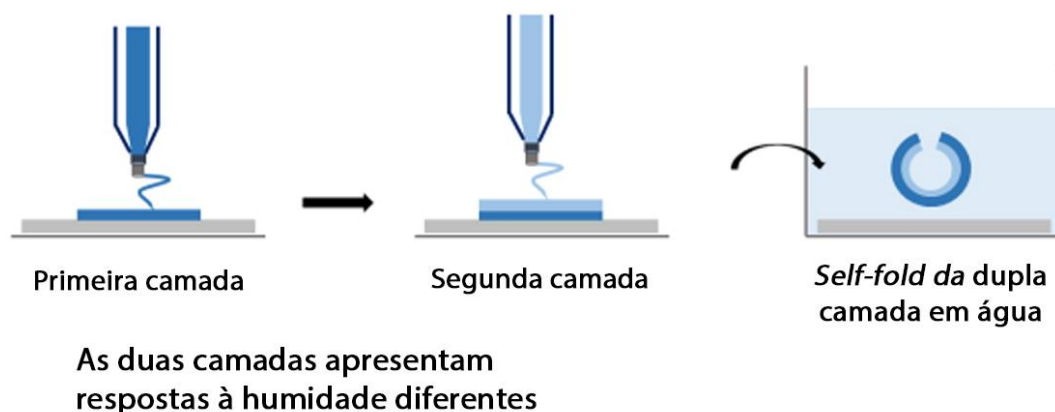


Figura 7: Ilustração da dupla camada de PEG e da sua capacidade de “auto-dobragem” em solução aquosa. Adaptado com a permissão de (Wan *et al.*, 2020).

3.3.3 Materiais sensíveis à luz

Os materiais que respondem à luz têm demonstrado particular relevância a nível da bioimpressão 4D. Estes consistem em moléculas fotocromáticas que têm a capacidade de absorver a radiação incidente e, posteriormente, convertê-la em reações fotoquímicas (Cui et al., 2019). Estes materiais são facilmente ativados, uma vez que são sensíveis a diferentes comprimentos de onda do espectro eletromagnético, como o UV, o visível, o infravermelho e o infravermelho próximo (Ashammakhi et al., 2018).

Numa fase inicial, a utilização da luz na impressão 4D passou pela utilização deste estímulo sobre o objeto impresso, promovendo uma alteração da coloração do mesmo (Ashammakhi et al., 2018). Neste âmbito, Ashammakhi e colaboradores verificaram que o uso de uma luz UV sobre um polímero constituído por um composto azo promovia uma alteração da coloração do polímero, que passaria da cor branca para a cor roxa (Ashammakhi et al., 2018).

Para além desta aplicação, num estudo recente verificou-se que a utilização de luz poderia provocar a fotoisomerização ou fotodegradação das cadeias poliméricas e, conseqüentemente, promover uma alteração na conformação da estrutura impressa. Por exemplo, Wei e colaboradores desenvolveram uma biotinta constituída por ácido poli(ácido láctico) (PLA), benzofenona (fotoiniciador) e nanopartículas (NP) de óxido ferro (Fe_3O_4), capaz de responder à luz UV. Esta era expelida pelo micro-bocal e rapidamente ocorria a evaporação do solvente. Posteriormente, sobre esta, eram incididos LEDs UV que ativavam as reações de reticulação, imprescindíveis para garantir a “memória de forma” do polímero (Wei et al., 2017). Esta biotinta permitiu a produção de diversas estruturas com forma variada, destacando-se uma estrutura em forma tubular que poderá ser aplicada no campo dos *stents* intravasculares (Wei et al., 2017).

3.3.4 Materiais sensíveis a forças magnéticas

Os materiais que respondem a forças magnéticas correspondem a uma subcategoria dos materiais inteligentes que têm a capacidade de alterar as suas propriedades físicas quando se encontram sob a presença de um campo magnético externo (Ashammakhi et al., 2018). Estes polímeros podem ser categorizados em ímãs moleculares ou compósitos. Dentro dos compósitos, estes dividem-se em compósitos rígidos e compósitos elásticos. Estes últimos, podem ser divididos em elastómeros magnéticos e em géis magnéticos, também conhecidos como ferrogéis (Filipcsei et al., 2007).

Os avanços tecnológicos mais recentes permitiram o desenvolvimento de uma nova geração de elastómeros e de géis, constituídos por um conjunto de partículas magnéticas, que se encontram à escala micro e nano, dispersas numa matriz polimérica de grande elasticidade (Filipcsei *et al.*, 2007). Relativamente aos géis, é importante referir que estes consistem num conjunto de polímeros bastante flexíveis em solução, que envolvem nanopartículas magnéticas (Filipcsei *et al.*, 2007).

De modo a demonstrar a aplicabilidade deste tipo de materiais, Zhang e colaboradores desenvolveram um sistema de libertação de fármacos recorrendo ao uso de nanopartículas magnéticas. Este sistema consistia no uso de nanopartículas mesoporosas de óxido de ferro (Fe_3O_4) que continham no seu interior polietilenoglicol 2000 (PEG2000), um material de mudança de fase (MMF), nomeadamente o 1-tetradecanol e um fármaco (Zhang *et al.*, 2017). A escolha recaiu sobre as nanopartículas de Fe_3O_4 , uma vez que estas são biocompatíveis, apresentam baixos custos, baixa toxicidade e apresentam propriedades magnéticas visíveis através de ressonância magnética (Zhang *et al.*, 2017). O fármaco utilizado neste estudo foi a doxorrubicina (DOX) que consiste num antibiótico da família das antraciclinas, sendo amplamente utilizado no tratamento do cancro (Shafei *et al.*, 2017). De acordo com este estudo, foi evidenciado que a existência de uma alteração do campo magnético permitia uma libertação controlada de cerca de 80% de DOX. Para além disso, foi demonstrada a importância do PEG 2000 na solução, uma vez que a presença deste permitia uma libertação controlada de DOX, quando comparado com as nanopartículas que não possuíam este polímero (Zhang *et al.*, 2017).

Noutro estudo, Du e colaboradores avaliaram o uso de nanopartículas de óxido de ferro (Fe_3O_4) em células estaminais embrionárias (CEE) e a capacidade destas formarem corpos embrióides (CE) na presença de um campo magnético (Du *et al.*, 2017). De uma forma simplificada, o estudo foi dividido em três fases: uma primeira, onde foram colocadas as NP de óxido de ferro nas CEE; uma segunda, onde ocorreu a estimulação magnética das CEE, através de uma microagulha magnética e a consequente formação dos CE e uma terceira, onde ocorreu a formação de uma estrutura 3D, com auxílio de um íman (Figura 7) (Du *et al.*, 2017). Este estudo permitiu desenvolver um novo método, onde são obtidos CE a partir CEE na presença de um campo magnético, garantindo sempre a funcionalidade e a diferenciação das células. Assim sendo, este método torna-se uma alternativa de interesse a outros métodos convencionais, como o método da gota pendente, na formação de CE (Du *et al.*, 2017).

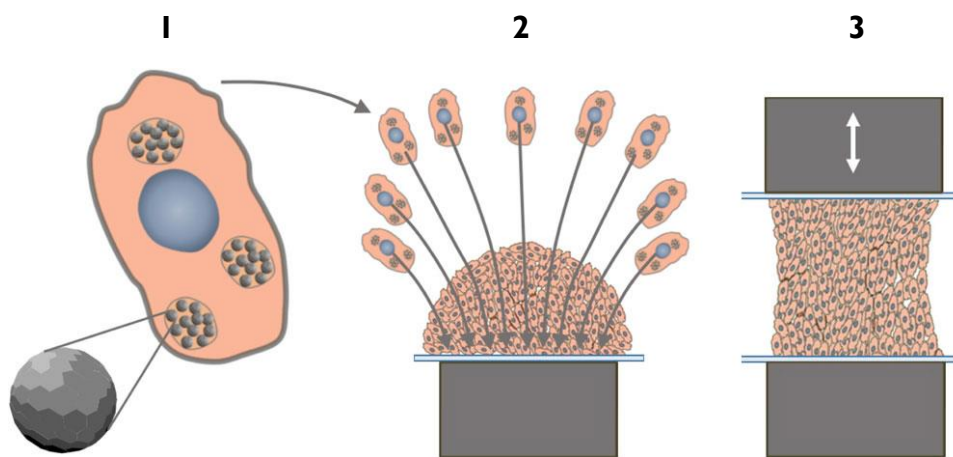


Figura 8: Representação ilustrativa da formação de CE. **1** - CEE e as NP no seu interior; **2**- Formação dos CE com auxílio de uma microagulha magnética; **3** - Formação de uma estrutura 3D recorrendo a um ímã. Adaptado de (Du *et al.*, 2017).

3.3.5 Materiais sensíveis ao pH

Os materiais que respondem a variações do pH fazem parte do grupo de materiais que reagem a estímulos químicos. Estes materiais, na sua maioria polímeros, são constituídos por grupos funcionais ácidos ou básicos, como carboxilo, piridina ou fosfato que têm a capacidade de libertar ou receber protões tendo em conta o pH do ambiente que os rodeia (Kocak *et al.*, 2017). A ionização destes grupos, que ocorre consoante o pH do meio envolvente, promove uma alteração da conformação do polímero (Kocak *et al.*, 2017).

Os polímeros que respondem ao pH, podem ser divididos em dois grupos tendo em conta os seus grupos funcionais: os polímeros com grupos funcionais de natureza ácida (poliácidos) e os polímeros com grupos funcionais de natureza básica (polibases) (Kocak *et al.*, 2017).

As polibases são caracterizadas pela presença de grupos de caráter básico, como as aminas terciárias (triethylamina), a piridina, a pirrolidina e a piperazina. Estas têm a capacidade de aceitar protões e apresentar carga positiva, quando os valores de pH assumem um caráter ácido, inferior a 7. Quando o valor de pH assume valores de caráter básico, superior a 7, ocorre a libertação dos protões e o polímero fica com carga neutra. Um dos exemplos mais utilizados de polibases, é a poli(N,N-dimetilacrilamida) (PDMA), que se apresenta como uma polibase versátil, uma vez que não só é sensível ao pH como também a variações de temperatura (Kocak *et al.*, 2017).

Os poliácidos caracterizam-se pela presença de grupos de caráter ácido, como o grupo carboxílico (-COOH), o ácido sulfónico (-SO₃H) ou o ácido fosfórico (H₃PO₄). Estes, à

semelhança das polibases, têm a capacidade de aceitar prótons quando os valores de pH assumem um caráter ácido. No entanto, quando o valor de pH assume valores de caráter básico, superior a 7, ocorre a desprotonação e o polímero assume uma carga negativa. Alguns dos exemplos mais conhecidos são o ácido polimetacrílico (PMAAc) e o ácido poliacrílico (PAAC) que possuem um grupo carboxílico e o poli(2-acrilamido-2-metilpropano ácido sulfônico) (PAMPS) e o poli(4-estireno ácido sulfônico) (PSSA), que possuem o ácido sulfônico (Kocak *et al.*, 2017).

Para além desta classificação, os polímeros podem ser agrupados em polímeros de origem sintética ou polímeros de origem natural. Nos últimos anos, vários foram os desenvolvimentos realizados no âmbito dos polímeros sintéticos biodegradáveis. No entanto, o foco virou-se para os polímeros naturais, que para além de serem biodegradáveis, apresentam uma excelente biocompatibilidade (Kocak *et al.*, 2017). Alginato, ácido hialurónico, dextrano e quitosano, são alguns exemplos dos polímeros naturais mais utilizados (Kocak *et al.*, 2017). O alginato, por exemplo, já apresenta uma dimensão bem estabelecida no mundo da bioimpressão 3D (Ashammakhi *et al.*, 2018). Um estudo relata que o uso de alginato em simultâneo com nanocelulose permite a formação de uma biotinta capaz de imprimir estruturas 3D com elevada reprodutibilidade e estabilidade. No estudo em questão, foram utilizados condrócitos humanos do septo nasal que foram incorporados na biotinta constituída por alginato e nanocelulose (Markstedt *et al.*, 2015). Nas estruturas impressas observou-se uma distribuição homogénea dos condrócitos e uma elevada viabilidade celular 7 dias após a impressão das estruturas. Estes resultados demonstram a biocompatibilidade e viabilidade desta biotinta e o potencial que esta pode vir a ter no mundo da bioimpressão 4D (Markstedt *et al.*, 2015).

3.4. Forças de tração celular

Para além do uso de materiais sensíveis a estímulos para a bioimpressão 4D, vários autores referem que as forças de tração celular (FTC) poderão ter alguma aplicação nesta técnica. As FTC foram referenciadas pela primeira vez em 2012 por alguns cientistas japoneses (Kuribayashi-Shigetomi *et al.*, 2012).

Nos últimos anos, o conceito de *origami*, tem sido investigado como método de obtenção de diversos produtos com aplicação tecnológica como *stents*, painéis solares, ou até nano objetos constituídos por ácido desoxirribonucleico (ADN) (Kuribayashi-Shigetomi *et al.*, 2012). O *origami* trata-se de uma tradição japonesa onde através de uma folha (2D)

conseguimos obter uma estrutura tridimensional com forma variada. Essa estrutura é obtida através de um seguimento de dobras em determinados locais, de acordo com uma ordem lógica. O *origami* começou então a ser aplicado na obtenção de microestruturas a três dimensões que podem conter ou não material biológico, acabando por ter alguma relevância na criação de tecidos artificiais ou microestruturas carregadas de células (Kuribayashi-Shigetomi et al., 2012).

Tendo por base o *origami*, cientistas recorreram ao uso de células com capacidade de se re-arranjarem, formando estruturas tridimensionais previamente definidas. Esta aplicação deu o nome à técnica denominada *origami* celular (Kuribayashi-Shigetomi et al., 2012).

Esta técnica tem como princípio a capacidade contrátil da célula que é uma capacidade inerente ao bom funcionamento celular (Kuribayashi-Shigetomi et al., 2012). Esta ocorre através das interações intracelulares da actomiosina (composto constituído por actina e miosina) e da polimerização de actina, que promovem as forças de tração para a zona central da célula. Além disso, as FTC apresentam um papel relevante em alguns processos biológicos, como a migração, a diferenciação ou a proliferação celular.

O estudo realizado por Kuribayashi-Shigetomi e colaboradores teve como objetivo avaliar a técnica de *origami* celular e o impacto de FTC. Inicialmente, foram colocadas várias células, segundo um determinado padrão ao longo de 2 microplacas distintas, umas com uma junta flexível e outras sem a mesma. As microplacas eram feitas de poli(p-xilileno), sendo revestidas posteriormente por fibronectina, o que lhes permitia uma melhor alongação e crescimento celular (Kuribayashi-Shigetomi et al., 2012). A sustentar as microplacas foi considerada uma camada de gelatina que permitia a libertação das microplacas do vidro que continha o substrato (Kuribayashi-Shigetomi et al., 2012).

Neste estudo, foi demonstrado o efeito das FTC nas diferentes microplacas, tendo sido observado um maior controlo do ângulo de dobragem nas microplacas que continham a junta flexível, permitindo assim um maior controlo na produção das microestruturas 3D. O ângulo de dobragem é o ângulo que se forma entre as microplacas e o substrato, sendo controlado pelo número de células na microplaca e pela junta móvel. Para além disso, permitiu produzir várias micro-estruturas com diferentes formas como, um cubo, um tubo em forma de hélice ou dodecaedro. Por último, foi demonstrada a viabilidade das células presentes nas microestruturas, após a cultura destas durante um período de 7 dias (Kuribayashi-Shigetomi et al., 2012).

De uma forma geral, foi demonstrado o potencial das FTC para criar microestruturas 3D carregadas de células. A técnica de *origami* celular provou ser eficiente, uma vez que apresenta uma elevada biocompatibilidade e simplicidade, quando comparada com outras técnicas de impressão 3D. Esta demonstrou grande potencial na produção de variadas estruturas com conteúdo celular, que podem ter uma futura aplicabilidade no mundo da produção de tecidos artificiais ou na produção de dispositivos médicos como *stents* (Kuribayashi-Shigetomi *et al.*, 2012).

4. Aplicações da bioimpressão 4D

A impressão 4D é uma técnica revolucionária com um infindável número de aplicações e um potencial de crescimento promissor. Esta técnica permitiu-nos ultrapassar as limitações inerentes à impressão 3D e permitiu-nos o desenvolvimento de novas metodologias. Nos últimos anos, esta tem sido maioritariamente aplicada a nível dos dispositivos médicos e da engenharia de tecidos com grande sucesso, mas ainda com grande margem de progresso. Neste sentido, serão abordados alguns dos trabalhos que têm vindo a ser realizados nos últimos anos na área da bioimpressão 4D.

4.1 Stents

Stents são estruturas em forma de tubo que foram inicialmente utilizados em intervenções a nível vascular, nomeadamente na angioplastia coronária. Estes tubos foram desenvolvidos para aumentar o lúmen da estrutura onde são inseridos, impedindo assim a obstrução de vasos sanguíneos e o desenvolvimento de aterosclerose (Yang *et al.*, 2020).

Atualmente, a colocação do *stent* no coração passa pela realização de uma cirurgia que permite a transplantação do mesmo. No entanto, a bioimpressão 4D permitiu o desenvolvimento de *stents* de menores dimensões que após colocados no organismo, vão ser estimulados de modo a assumir a sua forma final e, conseqüentemente, realizar a sua função. O facto de estes possuírem um tamanho inferior ao dos *stents* tradicionais permite que haja uma menor invasão aquando da realização a cirurgia (Zhang *et al.*, 2019).

Neste âmbito, Kirillova e colaboradores desenvolveram uma biotinta constituída por biopolímeros capazes de alterar a sua morfologia. Especificamente, utilizaram alginato e ácido hialurónico como biopolímeros, uma vez que apresentam reduzida toxicidade, baixo custo e boa capacidade para garantir a sobrevivência e diferenciação celular *in vitro* (Kirillova *et al.*, 2017). Aos biopolímeros, foi adicionado anidrido metacrílico, que permitiu a formação de compostos foto-reticuláveis, como o alginato-metacrilado (AM) e o ácido hialurónico

metacrilado (AHM) (Kirillova *et al.*, 2017). Estes compostos foram expostos a uma radiação no comprimento de onda do visível, o que permitiu a sua foto-reticulação, os quais quando em meio líquido (água ou solução tampão), intumesceram, e adquiriram a conformação em tubo (hidrogéis “auto-dobráveis”) (Kirillova *et al.*, 2017).

De realçar que o processo de foto-reticulação levou a uma alteração das propriedades reológicas, como a viscosidade dos hidrogéis criados. No caso específico do hidrogel alginato, foi constatado que a presença do íon de cálcio em solução promoveu a reticulação com o AM, resultando no desdobramento da estrutura tubular inicialmente criada (Kirillova *et al.*, 2017). Além disso, foi demonstrado que a estrutura tubular consegue garantir a sobrevivência e viabilidade celular durante um período de pelo menos 7 dias (Kirillova *et al.*, 2017).

A aplicação dos *stents* não se resume apenas ao sistema circulatório, podendo ter aplicação a nível do sistema respiratório (Yang *et al.*, 2020). O trato respiratório pode ser dividido em trato respiratório superior e trato respiratório inferior. O trato respiratório inferior é constituído pela traqueia, que é uma estrutura tubular, flexível, com o comprimento de 12 centímetros e um lúmen de 2 centímetros de diâmetro num adulto (Jungebluth *et al.*, 2012). A traqueia é o elo de ligação entre a laringe e os brônquios, sendo responsável por garantir o fluxo de ar e por libertar e expelir as secreções provenientes dos brônquios (Jungebluth *et al.*, 2012).

Atualmente, o uso de *stents* a nível traqueal permite o alívio de sintomas associados a certas patologias, com o objetivo de manter o fluxo de ar. No entanto, esta solução não é permanente e, muitas vezes, o *stent* pode-se fraturar ou migrar para outra zona (Zarek *et al.*, 2017). Além disso, a FDA só recomenda o uso de *stents* metálicos como último recurso, devido ao elevado risco do *stent* falhar (U.S. Food and Drug Administration, 2005).

Neste sentido, de forma a evitar as complicações previamente abordadas e com o intuito de obter um dispositivo mais seguro e viável, os PMF ganharam algum destaque como alternativas aos *stents* convencionais, uma vez que apresentam uma versatilidade e personalização superior quando comparados com os *stents* convencionais (Zarek *et al.*, 2017).

Um dos PMF utilizados no seu fabrico foi a policaprolactona (PCL), que consiste num poliéster hidrofóbico, biocompatível e biodegradável. Para além da PCL, foram adicionados dois grupos terminais de metacrilato, permitindo a impressão dos *stents* através da estereolitografia como técnica de impressão (Zarek *et al.*, 2017). Os *stents* produzidos são caracterizados pela sua sensibilidade à variação de temperatura, verificando-se que, quando a temperatura envolvente é inferior à temperatura de fusão dos *stents*, estes assumem uma

forma rígida. No caso da temperatura envolvente ser superior à temperatura de fusão, o *stent* assumirá uma forma elástica (Zarek *et al.*, 2017).

Relativamente às alterações de propriedades do *stent*, é importante referir que as mesmas foram avaliadas *in vitro* recorrendo a uma câmara térmica personalizada (Zarek *et al.*, 2017). Nesta foi avaliado comportamento do *stent*, tendo-se verificado que numa fase inicial o *stent* apresenta-se na fase temporária, sendo esta a fase onde se colocaria o mesmo no ser humano. Posteriormente, o *stent* atinge a temperatura ideal permitindo assim que este assuma uma conformação permanente a nível traqueal (Zarek *et al.*, 2017).

4.2 Transporte de fármacos

Num mundo onde a evolução tecnológica é visível dia após dia, o medicamento e forma como o utilizamos ganha uma posição de destaque numa sociedade onde a preocupação pelo bem-estar, físico e psicológico, está mais presente. Neste sentido, vários desenvolvimentos tecnológicos têm vindo a ser implementados nas formulações farmacêuticas, tendo sempre como objetivo melhorar a absorção e eficácia dos princípios ativos.

A biompressão 4D não foge à regra, assumindo-se como uma ferramenta útil que permitiu uma abordagem mais rigorosa e eficaz no transporte de fármacos. Através da bioimpressão 4D são criadas diversas estruturas com capacidade de alterar a sua forma, tendo por base o meio onde estão inseridas. Esta característica permite encapsular fármacos e material biológico de interesse e posteriormente libertar os mesmos de uma forma eficaz e programada (Zhang *et al.*, 2019).

Um exemplo da aplicação da bioimpressão 4D são os multissomas (Yang *et al.*, 2020). Estes consistem numa gota de óleo que no seu interior possui um conjunto de pequenas gotículas de água ligadas entre si através de bicamadas lipídicas, formando uma estrutura em rede (Needham, 2011). A comunicação entre as gotículas de água é então realizada através dos poros presentes nas camadas (Needham, 2011). Para além das gotículas de água, o multissoma pode conter outros compartimentos que estão em contacto com o meio externo. Estes componentes podem ser sensíveis a estímulos externos, como temperatura e pH, permitindo uma libertação de fármaco programada e adequada (Khademhosseini *et al.*, 2018).

Para além disso, os multissomas podem ser programados para alterar a sua morfologia através da variação da osmolaridade. Através desta característica será possível encapsular e/ou libertar determinados fármacos de forma adequada, tornando-se assim um ponto de partida no transporte de fármacos (Needham, 2011).

Outro exemplo, consiste num dispositivo “auto-dobrável” constituído por três camadas, duas de hidrogel com diferentes velocidades de intumescimento e uma terceira camada mucoadesiva que contém o fármaco, PCL e PVA (He *et al.*, 2006). A primeira camada, à base de poli (ácido metacrílico), é sensível a variações de pH e retém água quando em contacto com fluidos corporais. A outra camada, à base de poli (hidroxietil metacrilato) é caracterizada por não reter água e não intumescer, podendo assumir a função de barreira, reduzindo a perda de fármaco no intestino. De uma forma simplificada, numa fase inicial o dispositivo “auto-dobrável” encontra-se inserido dentro de uma cápsula que permitirá o seu transporte até à mucosa desejada, por exemplo, mucosa intestinal. Nesta vai ocorrer a degradação da cápsula e a libertação deste dispositivo que vai contactar com os fluidos corporais, e ao contactar com estes, vai enrolar-se sobre si promovendo um efeito mucoadesivo eficaz e a consequente libertação de fármaco (He *et al.*, 2006).

Noutro estudo, Malachowski e seus colaboradores desenvolveram um dispositivo em forma de pinças, sensível a variações de temperatura. Este foi denominado de “Theragrippers” e foi criado com o objetivo de transportar e libertar de forma controlada o fármaco ao nível do trato gastrointestinal (Malachowski *et al.*, 2014). Os “Theragrippers” são constituídos por segmentos de poli(propileno-fumarato) (PPF), e por segmentos de poli(N-isopropilacrilamida-co-ácido acrílico) (PNIPAMAAc), ambos polímeros biocompatíveis (Malachowski *et al.*, 2014). O PNIPAMAAc é o polímero sensível às variações de temperatura que permite as alterações de conformação do “Theragrippers”. Estes quando se encontram à temperatura de 4°C, apresentam-se como estrutura condensada; no entanto, à medida que a temperatura vai aumentando a estrutura vai distendendo. Por volta dos 37°C os “Theragrippers” voltam a condensar-se de forma a fixarem-se na mucosa intestinal e consequentemente libertarem o fármaco no seu interior (Malachowski *et al.*, 2014) (Figura 9). A DOX e a messalazina foram os fármacos utilizados para avaliar a eficácia do dispositivo, uma vez que patologias como o cancro gastrointestinal ou doenças inflamatórias intestinais beneficiariam de uma libertação de fármacos a nível local (Malachowski *et al.*, 2014).

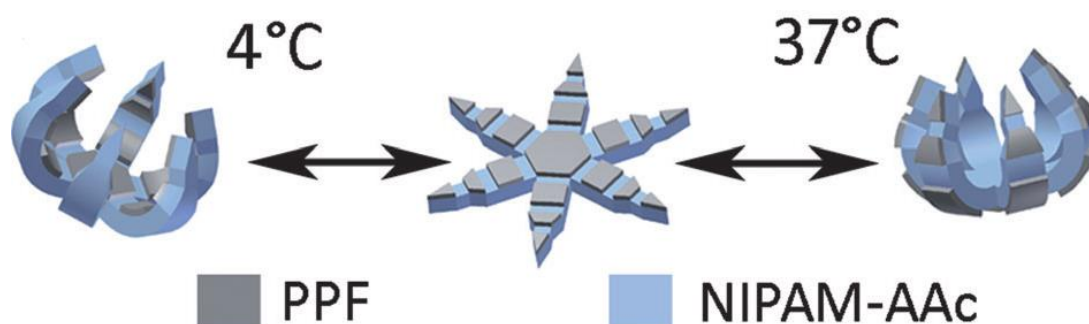


Figura 9: Representação ilustrativa do *theragrippers* nas suas diferentes conformações. Retirado com permissão de (Malachowski *et al.*, 2014).

4.3 Regeneração de defeitos ósseos

A área da saúde tem sido uma das áreas de eleição para aplicação da técnica de bioimpressão 4D. Neste sentido, vários investigadores têm avaliado a aplicação desta técnica no tratamento de patologias ósseas, musculares ou neuronais, abrindo-se assim uma nova porta no futuro da bioimpressão (Gao *et al.*, 2016).

As patologias ósseas, geralmente associadas a feridas, tumores ou infeções (osteomielite), são caracterizadas pela perda parcial do tecido ósseo (O'Keefe *et al.*, 2011). O tratamento destas patologias passa pelo recurso a autotransplantes. Os autotransplantes promovem o desenvolvimento de nova massa óssea através do recrutamento de células estaminais mesenquimatosas do recetor do transplante, mecanismo denominado osteoindução (Zhang *et al.*, 2008). Para além deste processo, o autotransplante tem a capacidade de produzir uma nova estrutura óssea, denominada osteogénese (Zhang *et al.*, 2008). Apesar de ser um grande passo no tratamento de patologias ósseas, a viabilidade desta técnica não é a melhor e os custos associados são muito elevados (Tseng *et al.*, 2016).

Conhecendo as limitações dos autotransplantes, várias alternativas foram exploradas para inovar o tratamento de patologias ósseas. Neste âmbito, os PMF começaram a suscitar interesse, uma vez que a sua aplicação é pouco invasiva no organismo recetor e têm a capacidade de preencher as zonas degradadas do tecido ósseo (Tseng *et al.*, 2016). Nos primeiros estudos realizados por Zhang e colaboradores, avaliou-se *in vitro* a capacidade que as estruturas PMF têm para garantir a adesão, proliferação dos osteoblastos e a expressão de genes indutores da formação de osso (Zhang *et al.*, 2014). Neste criaram-se estruturas porosas maleáveis à base de PCL que foram posteriormente revestidas por polidopamina (PDA). A PDA é um polímero natural, biocompatível utilizado no revestimento das paredes das

estruturas que permite uma melhor adesão dos osteoblastos às estruturas e uma melhor capacidade de formação de cristais de hidroxiapatite (Zhang *et al.*, 2014).

Num outro estudo, realizado por Liu e colaboradores foi avaliado o impacto da utilização de PMF no tratamento de patologias ósseas *in vivo*, através da criação de estruturas porosas de PMF com capacidade para libertar fatores de crescimento de uma forma controlada (Liu *et al.*, 2014). A estrutura porosa era constituída por PCL e por nanopartículas de hidroxiapatite (Liu *et al.*, 2014), à qual foi adicionada *Bone Morphogenetic protein-2*(BMP-2) através do revestimento das paredes dos poros em conjunto com alginato de cálcio (Liu *et al.*, 2014). Relativamente aos materiais utilizados, foi selecionada PCL, devido à sua excelente biocompatibilidade e biodegradabilidade, e nanopartículas de hidroxiapatite, visto permitirem uma melhor estabilidade da estrutura porosa (Liu *et al.*, 2014). Este estudo foi realizado em duas vertentes, *in vitro* e *in vivo*: no estudo *in vitro* foi avaliada a citocompatibilidade das estruturas em células estaminais do coelho, enquanto que o estudo *in vivo* foi realizado numa mandíbula de coelho, com falta de tecido ósseo (Liu *et al.*, 2014). Passando para as conclusões do estudo, este permitiu fabricar uma estrutura porosa de PMF eficaz no transporte e entrega de BMP-2, demonstrando excelentes resultados no crescimento de tecido ósseo e no tratamento de patologias ósseas, quando comparado com estruturas controlo (Liu *et al.*, 2014). Além disso, permitiu a criação de uma estrutura à base de PMF que mantém as suas características com o passar do tempo, permitindo uma aplicação menos invasiva a nível cirúrgico (Liu *et al.*, 2014).

4.4. Tratamento de feridas

O valor de pH da epiderme é um indicador relevante quando se pretende avaliar o estado de uma ferida, podendo estar relacionado com infeções bacterianas. Geralmente, os valores da epiderme são ligeiramente acídicos (4,0-6,0), no entanto, quando a pele apresenta uma lesão estes valores sobem ligeiramente, visto que a pele fica exposta aos fluidos corporais (Schneider *et al.*, 2007). Neste contexto, Mirani e colaboradores desenvolveram um penso “dois em um” (GelDerm[®]), que utiliza um esquema de cores, sensível ao pH da pele, para avaliar a existência de uma infeção bacteriana. Além disso, este dispositivo tem a capacidade de libertar antibiótico na ferida sempre que necessário (Mirani *et al.*, 2017). O penso multifuncional é constituído por um conjunto de sensores porosos sensíveis ao pH e estruturas que funcionam como reservatórios de fármaco. Os sensores são compostos por fibras de alginato impressas a três dimensões, que têm a capacidade de mudar a sua cor. Posteriormente, foram adicionadas a estas fibras mesoporos de resinas com corante correspondente a um determinado valor de pH. Além disso, foi adicionado glicerol ao penso,

permitindo uma melhoria da integridade e flexibilidade do mesmo (Mirani *et al.*, 2017). O fármaco utilizado no Gelderm[®] foi a gentamicina que corresponde a um antibiótico que pertence à classe dos aminoglicosídeos. Este demonstra-se eficaz contra bactérias Gram-Positivas como *Staphylococcus aureus* e bactérias Gram-Negativas como *Pseudomonas aeruginosa* (Mirani *et al.*, 2017). Relativamente aos indicadores de pH utilizados no penso foram avaliados dois tipos: um de origem natural, *cabbage juice*, e um sintético, *brilliant yellow*. O indicador *cabbage juice* apresenta uma coloração roxa em meio ácido e uma coloração esverdeada em meio básico. Já o indicador *brilliant yellow* apresenta uma coloração laranja em meio ácido e uma coloração avermelhada em meio básico (Mirani *et al.*, 2017).

Um ponto inovador do Gelderm[®] consiste numa interface digital criada para o *smartphone*, iDerm, que permite o registo dos valores de pH e consequentemente avalia o estado da ferida. Estes registos podem ser enviados diretamente ao profissional de saúde responsável, de forma a avaliar qual a melhor abordagem terapêutica (Mirani *et al.*, 2017). De uma forma geral, o Gelderm[®] apresenta-se como uma tecnologia inovadora, uma vez que contempla o diagnóstico e o tratamento de infeções localizadas num penso multifuncional. Esta abordagem permite uma melhor avaliação das feridas a nível da pele e, consequentemente, uma diminuição do consumo de antibióticos a nível sistémico. O Gelderm[®] poderá ser utilizado no controlo de lesões agudas ou crónicas que podem estar associadas a diabetes ou procedimentos cirúrgicos (Mirani *et al.*, 2017).

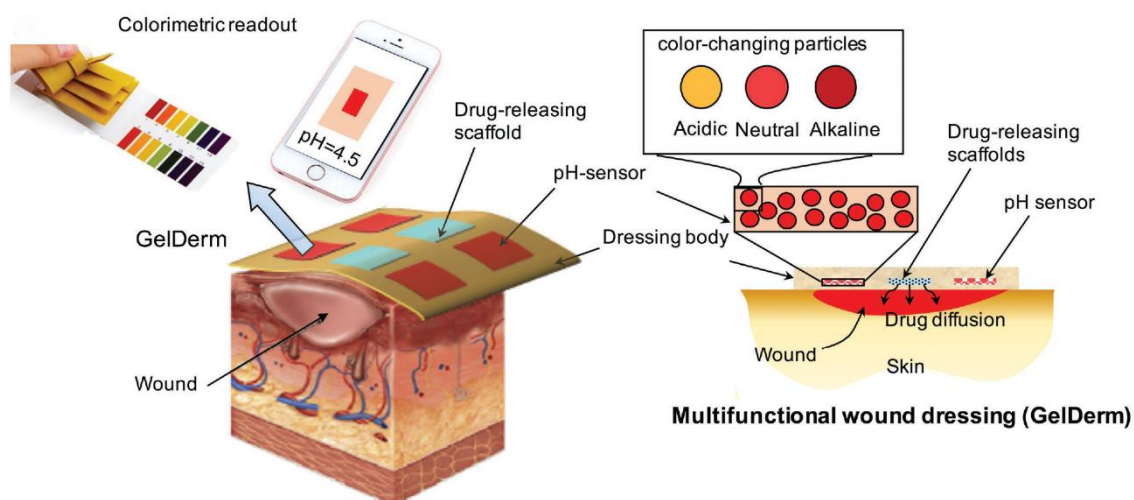


Figura 10: Representação ilustrativa do penso multifuncional (Gelderm[®]). Retirado com permissão de (Mirani *et al.*, 2017).

5. Perspetivas futuras e desafios inerentes

A bioimpressão 4D apresenta-se como uma tecnologia inovadora no mundo da bioimpressão, com capacidade de ser aplicada em diversas áreas, como engenharia de tecidos, transporte de fármacos ou dispositivos médicos. Apesar de ser uma técnica inovadora e com elevado potencial para crescimento, é ainda necessário percorrer um longo caminho até ter uma aplicação estabelecida a nível clínico (Yang *et al.*, 2020).

A bioimpressão 4D demonstra ser uma tecnologia sem falhas na teoria, no entanto, existem alguns aspetos a ser colmatados quando abordada do ponto de vista prático. Um dos maiores desafios desta tecnologia, consiste na ausência de um programa informático capaz de prever de forma eficaz a evolução de uma estrutura, após o contacto com um estímulo externo (Zhang *et al.*, 2019). A avaliação da evolução das estruturas passa pela realização de vários ensaios experimentais e a informação empírica. A existência de um programa com capacidade de prever a evolução de uma estrutura permitiria poupar tempo e recursos dos estudos realizados (Yang *et al.*, 2020). Outro grande desafio desta tecnologia, prende-se com o facto de existirem materiais que não são capazes de garantir uma biocompatibilidade necessária para serem aplicados *in vivo*. Além disso, a existência de materiais que respondem a vários estímulos ainda é um campo que necessita de alguma investigação, uma vez que o ambiente *in vivo* não é tão controlável como o *in vitro* e a existência de múltiplos estímulos é uma realidade inerente à fisiologia humana (Yang *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2019).

O futuro da bioimpressão 4D passará por definir quais as verdadeiras aplicações desta tecnologia, assim como garantir uma funcionalidade *in vivo* de excelência onde a segurança do ser humano e o controlo do material polimérico sejam garantidos (Yang *et al.*, 2020).

6. Considerações Finais

A ciência sempre nos demonstrou que a evolução é constante e dinâmica proporcionando o aparecimento de novos conceitos e tecnologias. Esta evolução verificou-se no mundo da impressão, onde nos anos 80 foi introduzido o conceito de impressão 3D e, nos últimos anos, esse conceito expandiu-se e deu origem ao conceito de impressão 4D.

A tecnologia de impressão 4D, apareceu como um “irmão mais novo” da impressão 3D. Esta, para além de considerar as três variáveis da impressão 3D, contempla também a variável tempo e, deste modo, colmatou uma das limitações mais evidentes da impressão 3D. A impressão 4D, apesar de ser uma técnica recente, apresenta um crescimento notável, e uma aplicação conjunta com material biológico levou ao aparecimento de uma variação da impressão 4D, a bioimpressão 4D.

A bioimpressão 4D é uma tecnologia com poucos anos de vida, que garantiu uma posição de destaque na ciência atual. Os PMF e os hidrogéis permitiram a incorporação do variável tempo nas estruturas impressas, promovendo uma alteração da sua forma, função ou tamanho, sendo esta alteração proporcionada pela exposição a um estímulo externo. Esta funcionalidade, permitiu a aplicação desta tecnologia em inúmeras áreas de interesse científico, como a engenharia de tecidos, a área da tecnologia farmacêutica ou até a área de dispositivos médicos. O desenvolvimento desta tecnologia não fica por aqui, sendo expectável uma maior aplicação *in vivo*, ao longo dos próximos anos.

A regeneração de tecidos, o transporte de fármacos e os dispositivos médicos, são algumas das áreas onde a bioimpressão 4D já deu os primeiros passos, apresentando-se assim como uma tecnologia de interesse na área das ciências biomédicas. É uma tecnologia que certamente terá um futuro promissor nas décadas que se seguem, onde cada vez mais a segurança e a inovação são uma prioridade.

7. Bibliografia

APRECIA PHARMACEUTICALS, - **About Spritam** (2015) [Acedido 25/06/2020] Disponível em <https://www.spritam.com/#/patient/zipdose-technology/making-medicine-using-3d-printing>

APRECIA PHARMACEUTICALS, - **Taking Spritam** (2015) [Acedido 15/08/2020] Disponível em <https://www.spritam.com/#/patient/about-spritam/taking-spritam>

ASHAMMAKHI, Nureddin; AHADIAN, Samad; ZENGJIE, Fan; SUTHIWANICH, Kasinan; LORESTANI, Farnaz; ORIVE, Gorka; OSTROVIDOV, Serge; KHADEMHOSEINI, Ali - **Advances and Future Perspectives in 4D Bioprinting**. Biotechnology Journal. . ISSN 18607314. 13:12 (2018) 1–12. doi: 10.1002/biot.201800148.

BEHL, Marc; LENDLEIN, Andreas - **Shape-memory polymers**. Materials Today. . ISSN 13697021. 10:4 (2007) 20–28. doi: 10.1016/S1369-7021(07)70047-0.

BOHANDY, J.; KIM, B. F.; ADRIAN, F. J. - **Metal deposition from a supported metal film using an excimer laser**. Journal of Applied Physics. . ISSN 00218979. 60:4 (1986) 1538–1539. doi: 10.1063/1.337287.

CUI, Haitao; MIAO, Shida; ESWORTHY, Timothy; LEE, Se Jun; ZHOU, Xuan; HANN, Sung Yun; WEBSTER, Thomas J.; HARRIS, Brent T.; ZHANG, Lijie Grace - **A novel near-infrared light responsive 4D printed nanoarchitecture with dynamically and remotely controllable transformation**. Nano Research. . ISSN 19980000. 12:6 (2019) 1381–1388. doi: 10.1007/s12274-019-2340-9.

DERAKHSHANFAR, Soroosh; MBELECK, Rene; XU, Kaige; ZHANG, Xingying; ZHONG, Wen; XING, Malcolm - **3D bioprinting for biomedical devices and tissue engineering: A review of recent trends and advances**. Bioactive Materials. . ISSN 2452199X. 3:2 (2018) 144–156. doi: 10.1016/j.bioactmat.2017.11.008.

DU, Vicard; LUCIANI, Nathalie; RICHARD, Sophie; MARY, Gaëtan; GAY, Cyprien; MAZUEL, François; REFFAY, Myriam; MENASCHÉ, Philippe; AGBULUT, Onnik; WILHELM, Claire - **A 3D magnetic tissue stretcher for remote mechanical control of embryonic stem cell differentiation**. Nature Communications. . ISSN 20411723. 8:1 (2017). doi: 10.1038/s41467-017-00543-2.

FILIPCSEI, Genovéva; CSETNEKI, Ildikó; SZILÁGYI, András; ZRÍNYI, Miklós - **Magnetic field-responsive smart polymer composites**. Advances in Polymer Science. . ISSN 00653195. 206:1 (2007) 137–189. doi: 10.1007/12_2006_104.

FIRTH, Jack; GAISFORD, Simon; BASIT, Abdul W. - **A new dimension: 4D printing opportunities in pharmaceuticals**. AAPS Advances in the Pharmaceutical Sciences Series. . ISSN 2210738X. 31:2018) 153–162. doi: 10.1007/978-3-319-90755-0_8.

GAO, Bin; YANG, Qingzhen; ZHAO, Xin; JIN, Guorui; MA, Yufei; XU, Feng - **4D Bioprinting for Biomedical Applications**. Trends in Biotechnology. . ISSN 18793096. 34:9 (2016) 746–756. doi: 10.1016/j.tibtech.2016.03.004.

HAAN, Laurens T. DE; VERJANS, Julien M. N.; BROER, Dirk J.; BASTIAANSEN, Cees W. M.; SCHENNING, Albertus P. H. J. - **Humidity-responsive liquid crystalline polymer actuators with an asymmetry in the molecular trigger that bend, fold, and curl**. Journal of the American Chemical Society. . ISSN 15205126. 136:30 (2014) 10585–10588. doi: 10.1021/ja505475x.

HE, Hongyan; GUAN, Jingjiao; LEE, James L. - **An oral delivery device based on self-folding hydrogels**. Journal of Controlled Release. . ISSN 01683659. 110:2 (2006) 339–346. doi: 10.1016/j.jconrel.2005.10.017.

HULL, Charles W.; ARCADIA; CALIF - **United States Patent (19)**. 19 (1984) 16.

JAMAL, Mustapha; KADAM, Sachin S.; XIAO, Rui; JIVAN, Faraz; ONN, Tzia Ming; FERNANDES, Rohan; NGUYEN, Thao D.; GRACIAS, David H. - **Bio-origami hydrogel scaffolds composed of photocrosslinked PEG bilayers**. Advanced Healthcare Materials. . ISSN 21922659. 2:8 (2013) 1142–1150. doi: 10.1002/adhm.201200458.

JUNGEBLUTH, P.; MOLL, G.; BAIGUERA, S.; MACCHIARINI, P. - **Tissue-engineered airway: A regenerative solution**. Clinical Pharmacology and Therapeutics. . ISSN 00099236. 91:1 (2012) 81–93. doi: 10.1038/clpt.2011.270.

KAČAREVIĆ, Željka P.; RIDER, Patrick M.; ALKILDANI, Said; RETNASINGH, Sujith; SMEETS, Ralf; JUNG, Ole; IVANIŠEVIĆ, Zrinka; BARBECK, Mike - **An introduction to 3D bioprinting: Possibilities, challenges and future aspects**. Materials. . ISSN 19961944. 11:11 (2018). doi: 10.3390/ma11112199.

KHADEMHOSEINI, Ali; CAMCI-UNAL, G. (EDS.) - **3D Bioprinting in Regenerative Engineering Principles and Applications**. ISBN 9781138197176.

KIRILLOVA, Alina; MAXSON, Ridge; STOYCHEV, Georgi; GOMILLION, Cheryl T.; IONOV, Leonid - **4D Biofabrication Using Shape-Morphing Hydrogels**. Advanced Materials. . ISSN 15214095. 29:46 (2017) 1–8. doi: 10.1002/adma.201703443.

KOCAK, G.; TUNCER, C.; BÜTÜN, V. - **PH-Responsive polymers**. Polymer Chemistry. .

ISSN 17599962. 8:1 (2017) 144–176. doi: 10.1039/c6py01872f.

KURIBAYASHI-SHIGETOMI, Kaori; ONOE, Hiroaki; TAKEUCHI, Shoji - **Cell Origami: Self-Folding of Three-Dimensional Cell-Laden Microstructures Driven by Cell Traction Force**. PLoS ONE. . ISSN 19326203. 7:12 (2012) 1–8. doi: 10.1371/journal.pone.0051085.

LI, Yi Chen; ZHANG, Yu Shrike; AKPEK, Ali; SHIN, Su Ryon; KHADEMHOSEINI, Ali - **4D bioprinting: The next-generation technology for biofabrication enabled by stimuli-responsive materials**. Biofabrication. . ISSN 17585090. 9:1 (2017). doi: 10.1088/1758-5090/9/1/012001.

LIU, Sijun; CHEN, Xuelong; ZHANG, Yilei - **Hydrogels and hydrogel composites for 3D and 4D printing applications** : Elsevier Inc., (2019). ISBN 9780128168059. doi: 10.1016/B978-0-12-816805-9.00014-4

LIU, Xian; ZHAO, Kun; GONG, Tao; SONG, Jian; BAO, Chongyun; LUO, En; WENG, Jie; ZHOU, Shaobing - **Delivery of growth factors using a smart porous nanocomposite scaffold to repair a mandibular bone defect**. Biomacromolecules. . ISSN 15257797. 15:3 (2014) 1019–1030. doi: 10.1021/bm401911p.

MALACHOWSKI, Kate; BREGER, Joyce; KWAG, Hye Rin; WANG, Martha O.; FISHER, John P.; SELARU, Florin M.; GRACIAS, David H. - **Stimuli-Responsive Theragrippers for Chemomechanical Controlled Release**. Angewandte Chemie. 2014) 1–6. doi: 10.1002/anie.201311047.

MARKSTEDT, Kajsa; MANTAS, Athanasios; TOURNIER, Ivan; MARTÍNEZ ÁVILA, Héctor; HÄGG, Daniel; GATENHOLM, Paul - **3D bioprinting human chondrocytes with nanocellulose-alginate bioink for cartilage tissue engineering applications**. Biomacromolecules. . ISSN 15264602. 16:5 (2015) 1489–1496. doi: 10.1021/acs.biomac.5b00188.

MILLS, David K.; TAPPA, Karthik; JAMMALAMADAKA, Uday; MILLS, Patrick A. S.; ALEXANDER, Jonathan S.; WEISMAN, Jeffery A. - **Medical Applications for 3D Printing**. Advances in Manufacturing and Processing of Materials and Structures. February (2018) 163–186. doi: 10.1201/b22020-8.

MIRANI, Bahram; PAGAN, Erik; CURRIE, Barbara; SIDDIQUI, Mohammad Ali; HOSSEINZADEH, Reihaneh; MOSTAFALU, Pooria; ZHANG, Yu Shrike; GHAHARY, Aziz; AKBARI, Mohsen - **An Advanced Multifunctional Hydrogel-Based Dressing for**

Wound Monitoring and Drug Delivery. Advanced Healthcare Materials. . ISSN 21922659. 6:19 (2017) 1–15. doi: 10.1002/adhm.201700718.

MORONI, Lorenzo; BOLAND, Thomas; BURDICK, Jason A.; MARIA, Carmelo DE; DERBY, Brian; FORGACS, Gabor; GROLL, Jürgen; LI, Qing; MALDA, Jos; MIRONOV, Vladimir A.; MOTA, Carlos; NAKAMURA, Makoto; SHU, Wenmiao; TAKEUCHI, Shoji; WOODFIELD, Tim B. F.; XU, Tao; YOO, James J.; VOZZI, Giovanni - **Biofabrication: A Guide to Technology and Terminology.** Trends in Biotechnology. . ISSN 18793096. 36:4 (2018) 384–402. doi: 10.1016/j.tibtech.2017.10.015.

MURPHY, Sean V.; ATALA, Anthony - **3D bioprinting of tissues and organs.** Nature Biotechnology. . ISSN 15461696. 32:8 (2014) 773–785. doi: 10.1038/nbt.2958.

NEEDHAM, David - **Lipid structures: A brief history of multivesicles.** Nature Nanotechnology. . ISSN 17483395. 6:12 (2011) 761–792. doi: 10.1038/nnano.2011.218.

O'KEEFE, Regis J.; MAO, Jeremy - **Bone tissue engineering and regeneration: From discovery to the clinic-an overview.** Tissue Engineering - Part B: Reviews. . ISSN 19373368. 17:6 (2011) 389–392. doi: 10.1089/ten.teb.2011.0475.

OZBOLAT, Ibrahim T. - **Applications of 3D Bioprinting * *With minor contributions by Dr. Weijie Peng, The Pennsylvania State University.** ISBN 9780128030103.

OZBOLAT, Ibrahim T.; HOSPODIUK, Monika - **Current advances and future perspectives in extrusion-based bioprinting.** Biomaterials. . ISSN 18785905. 76:(2016) 321–343. doi: 10.1016/j.biomaterials.2015.10.076.

SAPTARSHI, Sourabh Manoj; ZHOU, Dr. Chi - **Basics of 3D Printing** : Elsevier Inc., (2019). ISBN 9780323581189. doi: 10.1016/B978-0-323-58118-9.00002-6

SCHNEIDER, Lars Alexander; KORBER, Andreas; GRABBE, Stephan; DISSEMOND, Joachim - **Influence of pH on wound-healing: A new perspective for wound-therapy?.** Archives of Dermatological Research. . ISSN 03403696. 298:9 (2007) 413–420. doi: 10.1007/s00403-006-0713-x.

SHAFEI, Ayman; EL-BAKLY, Wesam; SOBHY, Ahmed; WAGDY, Omar; REDA, Ahmed; ABOELENIN, Omar; MARZOUK, Amr; HABAK, Khalil EL; MOSTAFA, Randa; ALI, Mahmoud A.; ELLITHY, Mahmoud - **A review on the efficacy and toxicity of different doxorubicin nanoparticles for targeted therapy in metastatic breast cancer.** Biomedicine and Pharmacotherapy. . ISSN 19506007. 95:June (2017) 1209–1218. doi: 10.1016/j.biopha.2017.09.059.

- STOYCHEV, Georgi; PURETSKIY, Nikolay; IONOV, Leonid - **Self-folding all-polymer thermoresponsive microcapsules**. *Soft Matter*. . ISSN 1744683X. 7:7 (2011) 3277–3279. doi: 10.1039/c1sm05109a.
- TEKIN, Emine; SMITH, Patrick J.; SCHUBERT, Ulrich S. - **Inkjet printing as a deposition and patterning tool for polymers and inorganic particles**. *Soft Matter*. . ISSN 17446848. 4:4 (2008) 703–713. doi: 10.1039/b711984d.
- TIBBITS, Skylar - **4D printing: Multi-material shape change**. *Architectural Design*. . ISSN 00038504. 84:1 (2014) 116–121. doi: 10.1002/ad.1710.
- TSENG, Ling-Fang; WANG, Jing; BAKER, Richard M.; WANG, Guirong; MATHER, Patrick T.; HENDERSON, James H. - **Osteogenic Capacity of Human Adipose-Derived Stem Cells is Preserved Following Triggering of Shape Memory Scaffolds**. (2016) 812–855.
- U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION - **FDA public health notification: complications from metallic tracheal stents in patients with benign airway disorders**. Food and Drug Administration. (2005) 1–3.
- WAN, Zhuqing; ZHANG, Ping; LIU, Yunsong; LV, Longwei; ZHOU, Yongsheng - **Four-dimensional bioprinting: Current developments and applications in bone tissue engineering**. *Acta Biomaterialia*. . ISSN 18787568. 101:(2020) 26–42. doi: 10.1016/j.actbio.2019.10.038.
- WEI, Hongqiu; ZHANG, Qiwei; YAO, Yongtao; LIU, Liwu; LIU, Yanju; LENG, Jinsong - **Direct-write fabrication of 4D active shape-changing structures based on a shape memory polymer and its nanocomposite**. *ACS Applied Materials and Interfaces*. . ISSN 19448252. 9:1 (2017) 876–883. doi: 10.1021/acsami.6b12824.
- WEI, Hua; CHENG, Si Xue; ZHANG, Xian Zheng; ZHUO, Ren Xi - **Thermo-sensitive polymeric micelles based on poly(N-isopropylacrylamide) as drug carriers**. *Progress in Polymer Science (Oxford)*. . ISSN 00796700. 34:9 (2009) 893–910. doi: 10.1016/j.progpolymsci.2009.05.002.
- XU, Tao; JIN, Joyce; GREGORY, Cassie; HICKMAN, James J.; BOLAND, Thomas - **Inkjet printing of viable mammalian cells**. *Biomaterials*. . ISSN 01429612. 26:1 (2005) 93–99. doi: 10.1016/j.biomaterials.2004.04.011.
- YANG, Qingzhen; GAO, Bin; XU, Feng - **Recent Advances in 4D Bioprinting**. *Biotechnology Journal*. . ISSN 18607314. 15:1 (2020) 1–10. doi: 10.1002/biot.201900086.
- ZAREK, Matt; MANSOUR, Nicola; SHAPIRA, Shir; COHN, Daniel - **4D Printing of Shape**

Memory-Based Personalized Endoluminal Medical Devices. Macromolecular Rapid Communications. . ISSN 15213927. 38:2 (2017) 1–6. doi: 10.1002/marc.201600628.

ZHANG, Dawei; GEORGE, Olivia J.; PETERSEN, Keri M.; JIMENEZ-VERGARA, Andrea C.; HAHN, Mariah S.; GRUNLAN, Melissa A. - **A bioactive «self-fitting» shape memory polymer scaffold with potential to treat cranio-maxillo facial bone defects.** Acta Biomaterialia. . ISSN 18787568. 10:11 (2014) 4597–4605. doi: 10.1016/j.actbio.2014.07.020.

ZHANG, Qi; LIU, Jian; YUAN, Kunjie; ZHANG, Zhengguo; ZHANG, Xiaowen - **A multi-controlled drug delivery system based on magnetic mesoporous Fe₃O₄ nanoparticles and a phase change material for cancer thermo-chemotherapy.** Geophysical Research Letters. in press:(2017) 0–31.

ZHANG, Xinping; AWAD, Hani A.; O'KEEFE, Regis J.; GULDBERG, Robert E.; SCHWARZ, Edward M. - **A perspective: Engineering periosteum for structural bone graft healing.** Clinical Orthopaedics and Related Research. . ISSN 15281132. 466:8 (2008) 1777–1787. doi: 10.1007/s11999-008-0312-6.

ZHANG, Zhizhou; DEMIR, Kahraman G.; GU, Grace X. - **Developments in 4D-printing: a review on current smart materials, technologies, and applications.** International Journal of Smart and Nano Materials. . ISSN 1947542X. 10:3 (2019) 205–224. doi: 10.1080/19475411.2019.1591541.