

Aplicação da Equação de Biocalor em um Modelo Computacional de Biorreator para a Manutenção de Tecidos Vivos

Ellen Cavalcante Alves, Universidade Estadual de Campinas, ellen.cav.alves@gmail.com

Julia Adami Nogueira, Universidade Estadual de Campinas, julia.nogueira@cti.gov.br

Pedro Yoshito Noritomi, Centro de Tecnologia da Informação Renato Archer, pedro.noritomi@cti.gov.br

Carlos Eduardo Keutenedjian Mady, Universidade Estadual de Campinas, cekmady@fem.unicamp.br

Resumo. O uso de simulações computacionais ganha destaque na área da bioengenharia, no qual muitos testes não podem ser executados devido, principalmente, ao custo e tempo envolvidos. Portanto, o investimento no aprimoramento dos parâmetros de simulações é essencial para o desenvolvimento desta área. Foram utilizados os softwares Rhinoceros®, para a modelagem de um biorreator de agulhas e o tecido nele inserido, na forma de esferoides e ANSYS CFX, foi optado para a simulação das condições de manutenção. Desta forma, a transferência de calor entre fluido e tecido foi simulada e comparada com o modelo teórico de Pennes. Concluiu-se que para baixos volumes teciduais há uma dificuldade de irrigação, mas controle térmico preciso.

Palavras chave: Biorreator, Bioimpressão, Pennes, Transferência de calor, biocalor.

1. INTRODUÇÃO

Em um biorreator é crucial que todas as células não apenas sejam irrigadas por um fluido nutritivo, mas também estejam dentro da estreita faixa de 36,4 a 37,6°C (Ferreira, 2001) adequadas ao seu desenvolvimento. Desta forma, a temperatura é um parâmetro crucial no desenvolvimento de um tecido saudável. Um modelo computacional pode ser utilizado para o controle da temperatura de um biorreator visando o desenvolvimento de um tecido saudável para transplante ou até para a análise dos efeitos de ambientes de temperatura extrema em alguns tecidos. O presente artigo apresenta uma comparação entre análise clássica de transferência de calor por convecção entre sólido e fluido e o modelo do biocalor de Pennes (1948) para diferentes condições de temperatura do fluido e diâmetro dos esferoides.

2. METODOLOGIA

2.1. Terminologia Fisiológica

O conjunto de processos químicos que possibilitam a sobrevivência celular, liberando energia proveniente da queima de carboidratos, gorduras e proteínas é denominado de metabolismo. Como sua eficiência é inferior a 20%, grande parte desta energia obtida é dissipada na forma de calor. Desta forma, órgãos com metabolismo elevado, tais como o fígado, cérebro e rim, apresentam temperaturas maiores que a do sangue arterial (Ferreira, 2001). A taxa metabólica não apenas influencia a temperatura do tecido, quanto sofre grande influência dela. Estipula-se que, sob a mesma condição de repouso, a cada ganho positivo de 10°C, o metabolismo deve dobrar. Efeito este denominado de Efeito Q10.

A biofabricação é definida por Dernowsek (2016) como a “construção automatizada de produtos biologicamente funcionais, com organização estrutural de células vivas, biomoléculas, agregados celulares como micro tecidos e organoides através da bioimpressão e subsequente maturação em biorreatores”. No processo da bioimpressão, tipos celulares contidos em esferoides de alginato são posicionados de acordo com o órgão desejado. Os esferoides passam um período em um biorreator, que deve irrigar, nutrir e estimular a multiplicação das células, fundindo assim estes esferoides.

2.1. Transferência de Calor e Equação do Biocalor

O mecanismo no qual um fluido troca calor com um sólido é denominado convecção. Além da transferência de calor devido ao movimento das partículas (difusão) há a transferência devido ao movimento do fluido. A taxa de transferência de calor por área é obtida pelo produto da diferença de temperatura entre o sólido e o fluido e uma variável denominada de coeficiente de transferência de calor convectivo, obtida em função da velocidade, viscosidade e condutividade térmica do fluido além da geometria do sólido. Neste estudo foi aplicado a Eq. (1), referente a uma esfera em um fluxo linear (Incropera, Dewitt, 2008).

$$h \frac{D}{k} = 2 + \left[0.4 \left(\frac{V D}{\nu} \right)^{\frac{1}{2}} + 0.06 \left(\frac{V D}{\nu} \right)^{\frac{2}{3}} \right] \left(\frac{c_P \mu}{k} \right)^{0.4} \left(\frac{\mu}{\mu_s} \right)^{\frac{1}{4}} \quad (1)$$

Na Eq. (1) a condutividade térmica (k), viscosidade cinemática (ν) e dinâmica (μ) e calor específico à pressão constante (c_p) são características do fluido na temperatura média do mesmo, enquanto μ_s é característico do fluido na temperatura da superfície do sólido. A velocidade (V) e diâmetro da esfera (D) são parâmetros do modelo.

O estudo da determinação da temperatura interna do corpo tem como base a publicação de Pennes (1948). Nele, a hipótese tomada é de que a transferência de calor entre o sangue e o tecido ocorra principalmente nos capilares. Logo, supõe-se que o sangue arterial alcança o leito capilar, onde há o equilíbrio térmico com os tecidos ao redor, para então juntar-se ao escoamento venoso. Tal modelo levou ao desenvolvimento da Eq. (2), retirada de Wissler (2011).

$$\rho c \frac{\partial T}{\partial t} = \nabla(k \nabla T) - \rho_B c_B w_P (T - T_a) + M''' \quad (2)$$

A Eq.(2) avalia a variação no tempo da temperatura de um dado tecido (T) em função das massa específica (ρ), condutividade térmica (k), calor específico (c) e metabolismo por metro cubico (M''') do tecido e temperatura arterial (T_a) massa específica (ρ_B), calor específico (c_B) e perfusão (w_P) do sangue. Ajustando esta equação para um volume de controle de propriedades uniformes, coordenadas esféricas e com fluxo de calor específico na superfície, obtém-se as Eq.(3), Eq.(4) e Eq.(5) (Becker & Kuznetsov, 2015).

$$T(r, t) = \int_{r'=0}^R G^P(r, t|r', 0) F(r') 4\pi(r')^2 dr' + \int_{\tau=0}^t \int_{r'=0}^R \frac{\alpha}{k} G^P(r, t|r', \tau) g(r', \tau) 4\pi(r')^2 dr' d\tau \quad (3)$$

$$G^P(r, t|r', \tau) = \frac{3}{4\pi R^3} \exp(-\alpha \omega^2(t - \tau)) + \frac{1}{2\pi R r r'} \left[\sum_{n=1}^{\infty} \frac{\lambda_n + \frac{1}{R^2}}{\lambda_n^2} \sin(\lambda_n r) \sin(\lambda_n r') \exp(-\alpha(\lambda_n^2 - \omega^2)(t - \tau)) \right] \quad (4)$$

$$\cot(\lambda_n R) = 1/(\lambda_n R) \quad (5)$$

O primeiro termo da Eq. (3) descreve as condições iniciais enquanto o segundo termo, a geração de energia. Diferentemente das outras, estas equações adotam T como a diferença entre a temperatura do tecido e a arterial, enquanto $F(r')$ representa esta diferença no instante inicial. A difusidade térmica (α) é caracterizada pelas propriedades do tecido enquanto a variável ω , as do sangue. O metabolismo, entretanto, é determinado pela função de g , em função da posição e do tempo. A equação de Green descrita na Eq. (4) faz uso de uma variável λ , solução da Eq. (5).

3. MATERIAIS E METODOS

3.1. Modelo de Biorreator

O modelo de biorreator utilizado foi o proposto por Nogueira (2015), com uma agulha de entrada e outra de remoção de fluidos, de micro porosidade de 40 μ m adicionando-se apenas o tecido em seu interior. Com o objetivo de avaliar a distribuição de temperatura em um biorreator, criou-se dois modelos de tecido, um com esferoides de 200 μ m agrupados com 10% de fusão e outro com uma esfera de 600 μ m equivalente. O primeiro modelo representa um tecido recém impresso enquanto o segundo modelo, um tecido maturado. Para a simulação, devido ao baixo volume tecidual, optou-se por fixá-lo na posição central do biorreator. Desta forma, a comparação entre as taxas de transferência de calor pode ser melhor feita, além de diminuir o tempo computacional. Inicialmente, os biorreatores estão preenchidos por alginato, até uma vazão de fluido nutritivo passe a irrigar o tecido. A modelagem foi realizada no programa *Rhinoceros®*. As propriedades dos materiais adotados podem ser observadas na Tab. (1). Optou-se por utilizar valores de tecido cardíaco devido à disponibilidade de dados sobre o mesmo e o fluido nutritivo teve suas propriedades determinadas com base no sangue humano. Para o alginato, foi aplicado um modelo de viscosidade não newtoniana, enquanto para o sangue, foi utilizado o valor médio encontrado em um banco de dados. Para o modelo não-newtoniano, são necessários os parâmetros da Tab. (2).

Tabela 1. Propriedades dos materiais utilizados (Ferreira, 2001) (Nogueira, 2015) (Rezende, 2010)

Material	Alginato	Sangue	Tecido
Estado Termodinâmico	Líquido	Líquido	Sólido
Massa Específica [kg/m ³]	1400	1069	1080
Massa Molar [g/mol]	18.02	65700	129.3
Calor Específico [J/Kg.K]	4181.7	3594	3550
Viscosidade Dinâmica [kg/m*s]	Modelo Não Newtoniano*	0.0035	Não aplicado
Condutividade Térmica [W/m*K]	0.6069	0.52	0.47
Geração de Calor [W/m ³]	Não aplicado	Não aplicado	24128

Tabela 2. Propriedades da viscosidade aplicada ao Alginato (Rezende, 2010).

Modelo	Ostwald de Waele
Máxima taxa de tensão cisalhante [s^{-1}]	100
Mínima taxa de tensão cisalhante [s^{-1}]	0.01
Índice no modelo de potência	0.84
Constante de tempo	1
Consistência viscosa	6

O problema transiente foi resolvido utilizando análise de elementos finitos, no qual cada modelo serviu como guia para uma malha de elementos de transição lenta e área de face máxima de $7,1518e-002$ mm. Tomou-se o cuidado de manter os elementos coincidentes no encontro entre as faces das agulhas e corpo do biorreator. A malha do modelo de $200\ \mu m$ possui 481.753 nós e 2.553.008 elementos, arrecadando uma malha de qualidade de elemento 0,83493. No modelo de $600\ \mu m$, estes valores são corrigidos para 459.283 nós e 2.436.396 elementos e qualidade de elemento de 0,83494.

3.2. Variáveis de Simulação

Dentro do biorreator, a transferência de calor se dá principalmente na forma convectiva entre o tecido e o fluido nutritivo, e condutiva entre as regiões do tecido. Desta forma, pode-se considerar uma situação de equilíbrio no qual o calor perdido para o fluido equivale ao calor gerado pelo tecido. Nota-se que o calor perdido pela convecção cresce com a diferença de temperatura entre o fluido e o tecido. Simultaneamente, o coeficiente de transferência de calor convectiva varia com o perfil de velocidade, segundo a Eq. (1). Desta maneira, para cada modelo, foi simulado um fluido de entrada a $25^{\circ}C$ e outro a $36^{\circ}C$ e a velocidade adotada, em concordância com Nogueira (2015), foi de $0,2\ mm/s$.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Fração Volumétrica

Por meio da ferramenta ANSYS CFD-Post, aplicou-se a expressão “*ave(Sangue.Volume Fraction)@Default Fluid Solid Interface Side 1*” que quantifica o contato entre fluido e tecido a partir do início da simulação. Os valores se encontram na Fig. (1). Uma análise inicial indica que, independente da temperatura do fluido, o tecido maturado é capaz de um contato quase completo com o fluido em 3 minutos, enquanto, por extrapolação, os esferoides recém impressos dependem de 22 minutos aproximadamente. Vale ressaltar que a falta prolongada de irrigação pelo período estipulado pode levar à necrose de regiões do tecido, sendo estas as regiões estreitas criadas pelo tecido com 10% de fusão, que dificultam significativamente a irrigação completa pelo fluido.

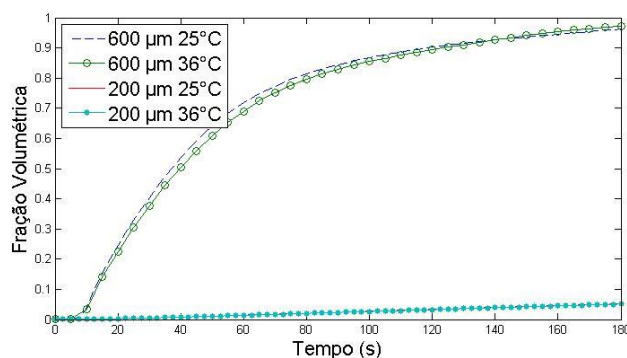


Figura 1. Fração Volumétrica em função do tempo para diferentes temperaturas de entrada de fluxo

4.2. Fluido de Irrigação a $25^{\circ}C$

Com o propósito de averiguar os efeitos do metabolismo na temperatura do tecido, os sistemas foram simulados com fluido de alimentação a $25^{\circ}C$ e condição inicial em equilíbrio térmico a $25^{\circ}C$, i.e, condições abaixo das ideais. A simulação rodou por 180 s oferecendo os resultados da Fig. (2). Vale-se ressaltar que, para o modelo de $200\ \mu m$, devido à fusão dos esferoides, não há tecido a partir de um raio de $280\ \mu m$, logo, a linha de $300\ \mu m$ avalia a temperatura do fluido.

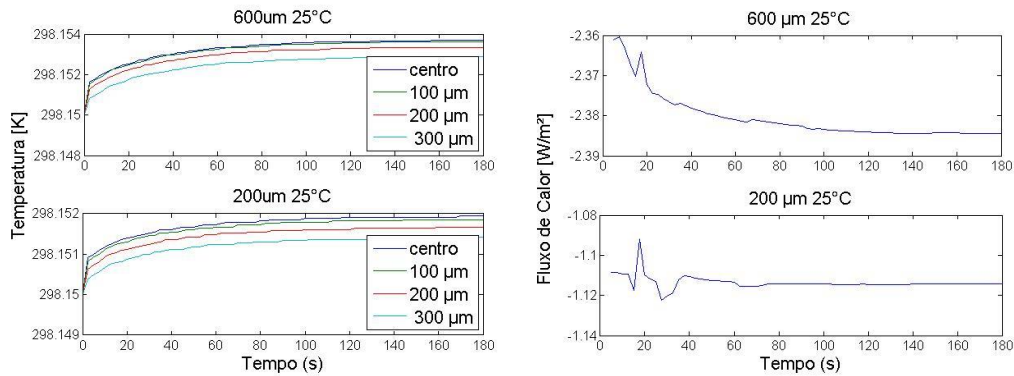


Figura 2. Perfil de Temperatura em função do raio (esquerda) e fluxo de calor médio na superfície (direita) para os modelos de 600 μm (acima) e 200 μm (abaixo) irrigados a 25°C

Em ambos os casos, o metabolismo não foi capaz de aquecer o tecido de maneira significativa, obtendo uma variação de temperatura de $1.0807\text{E-}03$ °C para o modelo de 600 μm e $5.6739\text{E-}4$ °C para o modelo de 200 μm , logo, pode-se concluir que o tecido está próximo da temperatura estável e não é capaz de atingir a temperatura saudável de 36.1°C. Pode-se observar que em ambos os casos os valores se estabilizam em torno de 100 segundos, mantendo uma transferência de calor constante na superfície do tecido, afirmando, assim, a insuficiência do metabolismo.

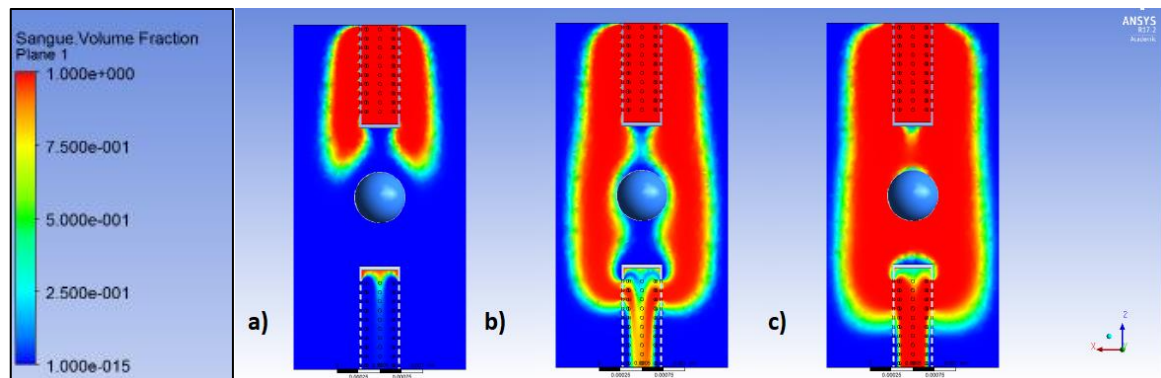


Figura 3. Distribuição de fluido nutritivo no modelo de 600 μm no primeiro (a), segundo (b) e terceiro (c) períodos

A Figura (3) fornece a informação necessária para compreender os picos observados nos gráficos de fluxo de calor da Fig. (2) próximo aos 20 segundos. Ressalta-se que, como os valores do gráfico são negativos, característicos de um fluxo térmico do tecido para os fluidos, o pico representa não um aumento no fluxo, mas sim uma redução em seu valor absoluto.

Observando a distribuição do fluido nutritivo neste período pode-se então estabelecer três períodos. O primeiro é caracterizado pelo crescimento da velocidade superficial do alginato em relação ao tecido, ou seja, o fluido nutritivo desloca o alginato para fora do biorreator, proporcionando assim uma crescente taxa de transferência de calor. No segundo período, entre 15 e 20 segundos, o fluido alcança a agulha de saída, barrando assim a saída do alginato, reduzindo sua velocidade e criando uma bolha com menor velocidade próxima ao tecido, proporcionando uma queda no coeficiente de troca de calor convectivo e assim, no fluxo de calor. O terceiro período consiste no lento avanço do sangue na região do tecido, removendo assim o alginato e estabilizando a transferência de calor. Observe que, esta variação se deve apenas devido à velocidade, pois tanto o alginato quanto o fluido estão na mesma temperatura e possuem condutividade térmica semelhante.

4.3. Fluido de Irrigação a 36°C

Repetindo a análise anterior, a Fig. (4) contém os valores obtidos. Para este caso, quase não há variação de temperatura em função do raio em ambos os modelos. Isto se deve, pois, o valor absoluto de fluxo de calor é cerca de cem vezes maior em relação às simulações anteriores, e, portanto, ao calor gerado pelo metabolismo. Desta forma, as temperaturas atingem o equilíbrio térmico com o fluido, indicado pelo fluxo de calor médio após os 180 segundos de -0.928 W/m² e -0.242124 W/m² para os modelos de 600 μm e 200 μm respectivamente.

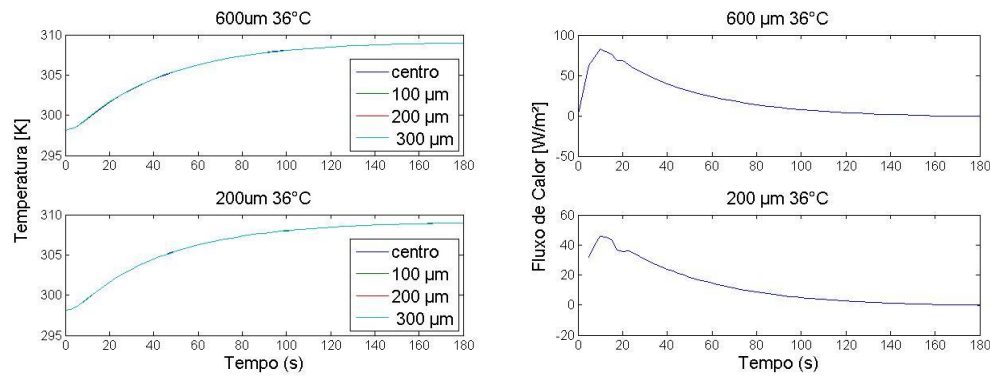


Figura 4. Perfil de Temperatura em função do raio (esquerda) e fluxo de calor médio na superfície (direita) para os modelos de 600 μm (acima) e 200 μm (abaixo) irrigados a 36°C

Em concordância com a análise anterior, observando o perfil das temperaturas, o calor gerado pelo metabolismo não é suficiente para causar uma elevação na temperatura do tecido além de 37,6°C. Entretanto, em contrapartida aos resultados anteriores, devido à diferença de temperatura entre o fluido e o alginato, a variação na velocidade causa apenas um leve declínio no valor absoluto do fluxo de calor, pois nesta situação, a diferença de temperatura entre o alginato e o fluido é grande o suficiente para encobrir este evento. A tendência deste gráfico é reflexo do aumento da temperatura do tecido, e assim, redução da diferença de temperatura, e com ela, do fluxo térmico.

4.4. Solução Numérica

As Equações (3) a (5) foram aplicadas, por meio do software Matlab® nas condições simuladas. Uma observação inicial da Fig. (5) mostra que o modelo analítico (curva azul) não é preciso para a condição inicial, fornecendo temperaturas mais elevadas para a entrada a 25°C e inferiores quando 36°C. Entretanto, esta diferença é inferior a 0.004 °C para o fluido a 25°C em ambos os modelos simulados. Nas condições de fluxo estável, a temperatura simulada tende à temperatura analítica, novamente, para ambos os casos.

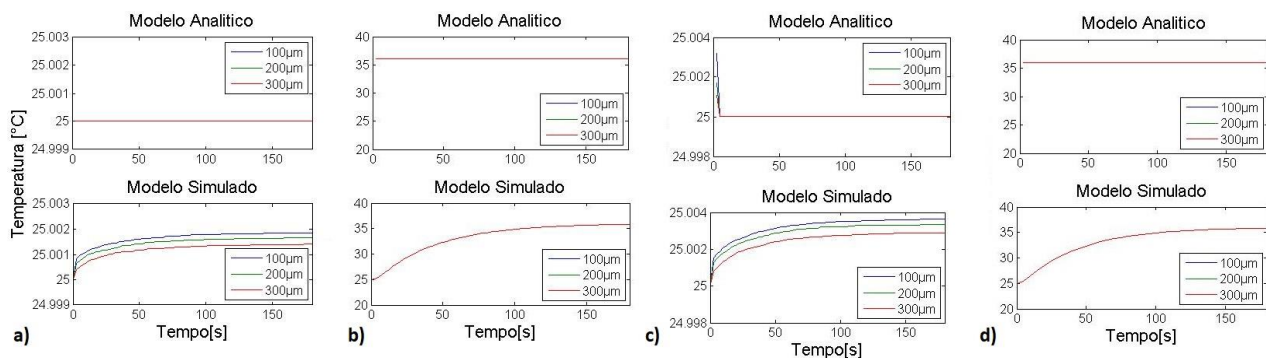


Figura 5. Perfil de temperatura correlacionando resultados do modelo analítico (superior) com o modelo simulado (inferior) para as condições de: 200 μm e 25°C (a), 200 μm e 36°C (b), 600 μm e 25°C (c) e 600 μm e 36°C (a)

5. CONCLUSÃO

Em vista dos resultados obtidos com a fração volumétrica de fluido nutritivo em contato com o tecido, em concordância com Dernowsek (2016), o biorreator não é capaz de irrigar propriamente o tecido recém impresso, independente da temperatura do fluido de irrigação. Outro fator importante do fluxo no biorreator é a criação de uma região de alginato entre o tecido e o sangue, gerada devido ao fluxo de sangue que ao chegar na agulha de saída dificulta a remoção do alginato. Isso se deve à configuração das agulhas do biorreator, que estimulam um fluxo externo mais elevado em relação ao interno. Desta forma, esta configuração, que ao mesmo tempo estimula a diferenciação de tecido devido a força cisalhante na superfície dos esferoides, dificulta a difusão de nutrientes no interior da massa tecidual.

Do ponto de vista térmico, a simulação com fluido de alimentação a 25°C demonstra que, no perfil de velocidade simulado, o metabolismo não é capaz de aquecer o tecido, pois a troca térmica com o fluido nutritivo impede o aumento de temperatura. Este evento pode ser notado, pois as temperaturas externas são menores em relação às regiões mais internas do tecido, onde o efeito da convecção é menos expressivo. Uma alternativa para estimular o aquecimento do

tecido pelo metabolismo é redução da velocidade de irrigação, e desta forma, redução da influência da convecção. Entretanto, reduz-se também a disponibilidade de nutrientes, aumentando o risco de necrose já presente no modelo de 200 μm . Para a simulação a 36°C, é reduzida a influência do metabolismo em detrimento da convecção, logo a velocidade se torna importante, pois impede o superaquecimento do tecido em fluxos nutritivos mais quentes. Estas simulações obtiveram tecidos homogêneos, estáveis e de temperatura saudáveis.

Comparando os resultados das simulações com os valores obtidos de forma analítica, a equação de Biocalor de Pennes possui erros muito elevados para regiões de temperatura fora da faixa normal humana (simulação a 25°C) assim como no início do fluxo, portanto, não é capaz de acessar corretamente as variações de temperatura em um tecido recém impresso. Uma futura análise com um maior volume de tecido é recomendada para averiguar se tais conclusões se mantêm em órgãos impressos.

6. REFERÊNCIAS

- BECKER, S. M. Analytical Bioheat Transfer: Solution Development of the Pennes' Model. In: BECKER, S. M. & KUZNETSOV, A. V. **Heat Transfer and Fluid Flow in Biological Processes**. London: Elsevier Inc. 2015. cap 4, p. 77-95.
- DERNOWSEK, J., 2016. Biofabricação. Available at: <<http://www.biofabricacao.com/>>. Acesso em 17 fev. 2017
- FERREIRA, M. S. & YANAGIHARA, J. I. A transient three-dimensional heat transfer model of the human body. **International Communications in Heat and Mass Transfer**, v. 36, p. 718-724, 2009.
- INCROPERA, F. P., DEWITT, D. P. Escoamento Externo. In: INCROPERA, F. P., DEWITT, D. P. **Fundamentos da Transferência de Calor e Massa**. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., 2008. cap. 7, p 270-272
- NOGUEIRA, J. A. **Estudo dos parâmetros de dinâmica de fluidos que regem um modelo computacional de biorreator para a manutenção de tecidos vivos**. 2015. Tese (Graduação em Engenharia Mecânica) – Universidade Estadual de Campinas, 2015
- PENNES, H. H. Analysis of Tissue and Arterial Blood Temperatures in the Resting Human Forearm. **Journal of Applied Physiology**, New York, v. 01, p. 93-122, 1948.
- REZENDE, R. A.; BINELI, A.R.R.; QUIROGA, A.G.; MACIEL FILHO, R. CAPE of the Physical Behaviour of Structures in Alginate for Biofabrication. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF CHEMICAL AND PROCESS ENGINEERING, 19. V. 3, p.1173-74, 2010.
- WISSLER, E. H., 2011. Pennes' 1948 paper revisited. **Journal of Applied Physiology**, 4 Abril, pp. 35-41

7. AGRADECIMENTOS

Este trabalho não poderia ser terminado sem a ajuda de diversas pessoas às quais presto minha homenagem:

Dr. Pedro Yoshito Noritomi, e toda a equipe da divisão de tecnologias tridimensionais pelo suporte no domínio dos softwares utilizados e constante orientação por todos. Prof. Dr. Carlos Eduardo Keutenedjian Mady pela sua supervisão e constante orientação e suporte.

8. RESPONSABILIDADE PELAS INFORMAÇÕES

O(s) autor(es) é (são) os únicos responsáveis pelas informações incluídas neste trabalho.