UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO INSTITUTO DE MACROMOLÉCULAS PROFESSORA ELOISA MANO – IMA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE POLÍMEROS

RAQUEL COUTO DE AZEVEDO GONÇALVES MOTA

REVESTIMENTO CONTENDO NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDOS METÁLICOS DE ARCABOUÇOS IMPRESSOS 3D COM A FINALIDADE DE USO EM REGENERAÇÃO TECIDUAL ÓSSEA

Rio de Janeiro

RAQUEL COUTO DE AZEVEDO GONÇALVES MOTA

REVESTIMENTO CONTENDO NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDOS METÁLICOS DE ARCABOUÇOS IMPRESSOS 3D COM A FINALIDADE DE USO EM REGENERAÇÃO TECIDUAL ÓSSEA

Dissertação apresentada ao programa de pós graduação em Ciência e Tecnologia do Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências, em Ciência e Tecnologia de Polímeros.

Orientador: Prof. Emerson Oliveira da Silva Coorientador: Prof. Felipe Fortes de Lima

Rio de Janeiro

CIP - Catalogação na Publicação

M582r	Mota, Raquel Couto de Azevedo Gonçalves Revestimento contendo nanopartículas de óxidos metálicos de arcabouços impressos 3D com a finalidade de uso em regeneração tecidual óssea / Raquel Couto de Azevedo Gonçalves Mota Rio de Janeiro, 2016. 103 f.
	Orientador: Emerson Oliveira da Silva. Coorientador: Felipe Fortes de Lima. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Polímeros, 2016.
	 regeneração tecidual óssea. 2. arcabouços poliméricos. 3. nanocompósitos. 4. impressão 3D. I. da Silva, Emerson Oliveira, orient. II. de Lima, Felipe Fortes, coorient. III. Título.

Elaborado pelo Sistema de Geração Automática da UFRJ com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

RAQUEL COUTO DE AZEVEDO GONÇALVES MOTA

REVESTIMENTO CONTENDO NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDOS METÁLICOS DE ARCABOUÇOS IMPRESSOS 3D COM A FINALIDADE DE USO EM REGENERAÇÃO TECIDUAL ÓSSEA

Dissertação apresentada ao programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Polímeros do Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano, Universidade Federal do Rio de Janeiro como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciências, em Ciência e Tecnologia de Polímeros

Aprovado em: 23/02/2017

BANCA EXAMINADORA Orientador Professor Émerson Oliveira da Silva, DSc. Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano - IMA/UFRJ Coorientador Professor Felipe Fortes de Lima, DSc. Universidade Federal do Rio de Janeiro - Xerém Professor Alexandre Malta Rossi, DSc. Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas – CBPF Professor Marcos Llopes Dias, Dsc. Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano - IMA/UFRJ Professor Ricardo Cunha Michel, Dsc. Universidade Federal do Rio de Janeiro

Dedicado a minha mãe.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Lívia Rodrigues de Menezes por tudo; pela disponibilidade vinte e quatro horas, pelo cuidado, pela prontidão, pela amizade, por suportar meu drama de maneira incansável, por sempre acreditar no meu potencial e por último, mas não menos importante, todas as conversas sobre quadrinhos.

Ao amor da minha vida e melhor amigo, Antonio Carlos Santos Thiele, por ter me aturado por dez anos, por nunca ter duvidado de mim, por todo amor, carinho, dedicação e pelas piadas ruins, que fizeram dos meus dias mais felizes.

A minha família, por terem feito o possível e o impossível para que eu pudesse ter base para estudar e correr atrás dos meus sonhos, especialmente a minha mãe, que foi também minha companheira, amiga e maior incentivadora, sempre celebrando minhas conquistas, apoiando-me nos piores momentos, e me impulsionando-me a fazer e ser melhor, sempre.

Ao Professor Emerson Oliveira da Silva pela orientação, apoio, conselhos e incentivos. Ao professor Felipe Fortes de Lima, pelos anos como sua IC, que foram decisivos na minha escolha de carreira, e pela ajuda para passar no mestrado.

À Professora Maria Inês Bruno Tavares, que me inspira como pessoa, como pesquisadora e professora.

Ao Professor Ricardo Michel por me apresentar ao ramo de impressão 3D, compartilhando sua paixão comigo.

Às amigas Natalia Hanssen e Marcia Dantas, que, apesar da distância, sempre foram uma luz nos meus momentos mais difíceis.

Aos amigos Luíza Gama, Tamara Marques, Júlia Besserman, Renata Paiva, Natália Seixas, Yasmin Watanabe, Felipe Al, Ivan Baldez, Viviane Andrade, Igor Silva e Giovana Boaventura pelas conversas, desabafos, abraços, confiança, carinho e amizade. Vocês são essenciais na minha vida.

Aos amigos do laboratório, pelo companheirismo diário, que tornaram meus dias mais fáceis e prazerosos.

Ao CETEM, pelo uso do MEV.

Ao CNPq e a FAPERJ pelo apoio financeiro.

Agradeço a todos que, de alguma forma contribuíram para conclusão deste trabalho.

"You know what happens when you dream of falling? Sometimes you wake up. Sometimes the fall kills you. And sometimes, when you fall, you fly."

Neil Gaiman, The Sandman, Vol. 6: Fables and Reflections

RESUMO

Visando responder a crescente necessidade do surgimento de uma tecnologia aplicada à regeneração tecidual óssea, foram impressos arcabouços de polilactídeo com uma impressora 3D de filamento fundido que permite controlar a arquitetura e a geometria dos poros. Esses arcabouços foram recobertos com nanocompósitos à base de poli(álcool vinílico) e três diferentes nanopartículas (óxido de zinco, óxido de titânio e óxido de zircônio). Os nanocompósitos foram obtidos a partir de uma solução aquosa de PVA 7% e de duas diferentes concentrações das nanopartículas (0,1% e 0,2% m/m). Eles foram caracterizados por Difração de Raios X (DRX), Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR), Ressonância Magnética Nuclear (RMN), Análise Termogravimétrica (TGA), com base nas propriedades determinadas e na dinâmica molecular dos sistemas, escolheu-se a concentração de 0,1% por apresentar melhor dispersão nesta matriz. Assim, a cobertura com a concentração escolhida foi aplicada sobre os arcabouços de PLA com o objetivo de aumentar a hidrofilicidade do arcabouço e gerar bioatividade na sua superfície, uma vez que as partículas adicionadas apresentam capacidade de osteoindução. Após a cobertura, os arcabouços foram caracterizados pelas técnicas de relaxometria por RMN, TGA, DSC, MEV, bem como tiveram sua atividade biológica mensurada através da avaliação da deposição de hidroxiapatita sobre a superfície do arcabouço. Com base nos resultados pode-se determinar que foi possível recobrir os arcabouços com a matriz de PVA e que estas coberturas se mostram capazes de gerar atividade de deposição de sais à base de cálcio e fosfato.

Palavras-chave: Arcabouço, Impressão 3D, Engenharia tecidual, Tecido Ósseo

ABSTRACT

Aiming to respond to the growing need for the development of a technology applied to bone tissue regeneration, polylactide (PLA) scaffolds were printed with a 3D fused filament printer that allows better control of the architecture and pore geometry. These scaffolds were coated with poly(vinyl alcohol) based nanocomposites and three different types of nanoparticles (zinc oxide, titanium oxide and zirconium oxide). The nanocomposites were obtained from a 7% PVA aqueous solution and two different concentrations of the nanoparticles (0.1% and 0.2% m/m). They were characterized by X-ray diffraction (XRD), Fourier transform infrared (FTIR), nuclear magnetic resonance (NMR), thermogravimetric analysis (TGA). Based on their properties and the molecular dynamics of the systems, the 0.1% concentration was chosen because it presents better dispersion in this matrix. Thus, the coverage with the chosen concentration was applied to the PLA scaffolds in order to increase the hydrophilicity of the framework and to generate bioactivity on its surface, since the added particles have the osteoinduction capacity. After the coverage, the scaffolds were characterized by NMR, TGA, DSC, SEM, and had their biological activity measured by the evaluation of the deposition of hydroxyapatite on the surface of the scaffold. Based on the results, it can be determined that it was possible to cover the scaffold with the PVA matrix, and that these coatings can generate calcium and phosphate-based salt deposition activity.

Keywords: Scaffold, 3D printing, Tissue Engineering, Bone Tissue

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Incidência de fraturas ósseas em diversas idades
Figura 3 - Influência da porosidade nas propriedades mecânicas
Figura 4- Influência da porosidade na atividade celular
Figura 5- Influência da adição de carga nas propriedades mecânicas de um
arcabouço
Figura 6 - Arcabouco degradando depois de um mês implantado em camundongo
Figura 7 - Ciclo do PLA
Figura 8 - Estereo-isômeros levógiro e dextrogiro do ácido láctico
Figura 9 - Organização hierárquica dos componentes do tecido ósseo, da escala
macro para a nanométrica
Figura 10 - Propriedades mecânicas de materiais naturais comparadas à de
materiais utilizados na área biomédica28
Figura 11 - Ilustração mostrando como os materiais nanoestruturados são superiores
aos materiais convencionais
Figura 12 - Deposição de células BMMSC em filmes de ZrO2 após 4 dias 31
Figura 13 - Formas Estruturais do TiO2: (a) Rutilo, (b) Anatase, (c) Brookite.31
Figura 14 - Foto da E. Coli (a) sem e (b) com o híbrido quitosana-TiO2 por 12h 32
Figura 15 -(a) Fluorescência de nanofios de ZnO, (b) Biodistribuição dos nanofios de
ZnO e sua biodegradação depois de 20h
Figura 16 - Exemplos de arcabouços fabricados por impressão 3D
Figura 17 - Observação de arcabouços obtidos por lixiviação de porógenos e por
impressão 3D demonstrando a arqutetura mais precisa do impresso
Figura 18 - Representação esquemática da técnica de Sinterização
Figura 19 - Exemplo de arcabouço de PCL, produzidos por SLS, comparando o
<i>design</i> computacional e o arcabouço impresso
Figura 20 - Esquemática da técnica de estereolitografia
Figura 21 - Precisão de micrômetros conseguida por estereolitografia (a) 5mm, (b)
1mm, (c) 500 μm , (d) 100 μm

Figura 22 - Esquemática do método de impressão 3D por filamento fundido 41 Figura 23 - Efeito da velocidade de deposição na porosidade do arcabouço. 42 Figura 24 - Representação esquemática do processo de impressão por evaporação de solvente......43 Figura 25 - Caracterização das soluções poliméricas a base de PLA com nanotubos Figura 26 - Representação impressora 3D por aglutinação por jato de tinta . 45 Figura 27 - Molde impresso 3D e arcabouço de PLGA obtido através dele... 46 Figura 28 - Demonstração da importância da retirada do pó em excesso (a) estrutura recoberta pelo pó; (b) estrutura após a etapa de remoção do pó...... 46 Figura 29 - DRX dos nanocompósitos de PVA com óxido de zinco, em comparação com o filme de PVA puro...... 56 Figura 30 - DRX dos nanocompósitos de PVA com óxido de zinco, em comparação com o filme de PVA puro......56 Figura 31 - DRX dos nanocompósitos de PVA com óxido de zircônia, em comparação com o filme de PVA puro 56 Figura 34 – FTIR dos nanocompósitos de PVA com óxido de zircônia........... 59 Figura 35 – Termogramas dos nanocompósitos de PVA com óxido de titânio 60 Figura 36 – Termogramas dos nanocompósitos de PVA com óxido de zinco . 60 Figura 37 – Termogramas dos nanocompósitos de PVA com óxido de zircônia60 Figura 38 – Curva de domínio dos sistemas a base de PVA e óxidos metálicos63 Figura 39 – Imagens de MEV de arcabouços 30% de porosidade (a) puro, (b) 0,1% ZnO, (c) 0,1% ZrO₂, (d) TiO₂66 Figura 40 – Imagens de MEV de arcabouços 40% de porosidade (a) puro, (b) 0,1% ZnO, (c) 0,1% ZrO₂, (d) 0,1% TiO₂67 Figura 41 – Imagens de MEV de arcabouços 50% de porosidade (a) puro, (b) 0,1% ZnO, (c) 0,1% ZrO₂, (d)TiO₂......67 Figura 43 – Termograma dos arcabuoços 30% recobertos com nanocompósitos Figura 44 – Termograma dos arcabouços 40% recobertos com nanocompósitos

Figura 45 - Termograma dos arcabouços 50% recobertos com nanocompósitos

	71
Figura 46 – Curvas de DSC dos arcabouços com 30% de porosidade	76
Figura 47 – Curvas de DSC dos arcabouços com 40% de porosidade	76
Figura 48 – Curvas de DSC dos arcabouços com 50% de porosidade	77
Figura 49 – Curvas de domínio dos arcabouços com 30% de porosidade	79
Figura 50 – Curvas de domínio dos arcabouços com 40% de porosidade	79
Figura 51 – Curvas de domínio dos arcabouços com 30% de porosidade	80

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Sistemas de PVA/óxidos obtidos5	1
Tabela 2 - Grau de cristalinidade das amostras baseadas nos difratogramas5	7
Tabela 3 - Assinalamento das bandas do infravermelho referentes ao PVA . 5	8
Tabela 4 - Parâmetros do TGA dos filmes de nanocompósitos6	2
Tabela 5 - Tempos de relaxação spin-rede dos sistemas PVA/Óxidos m	netálicos
	4
Tabela 6 – Deposição de sais de cálcio e fósfato nos sistema de PVA/óxidos	
metálicos	65
Tabela 7 – Diâmetro do poro x porosidade dos arcabouços obtidos	69
Tabela 8 – Parâmetros do TGA dos arcabouços	72
Tabela 9 - Transições térmicas e entalpias obtidas por DSC	75
Tabela 10 - Tempos de relaxação spin-rede dos arcabouços com diferentes	
porosidades	77
Tabela 11 - Tempos de relaxação spin-rede dos arcabouços recobertos com	PVA
	77

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO 16
2	OBJETIVOS 17
2.1	OBJETIVOS GERAIS
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS 17
3	REVISÃO DE LITERATURA18
3.1	ARCABOUÇOS PARA REGENERAÇÃO ÓSSEA 18
3.2	POLÍMEROS PARA FABRICAÇÃO DE ARCABOUÇOS ÓSSEOS20
3.2.1	Poli(Ácido-láctico)
3.2.2	Poli(álcool vinílico)
3.3	APLICAÇÃO DA NANOTECNOLOGIA EM REGENERAÇÃO
TECID	JAL24
3.3.1	Óxidos Metálicos
3.4	Impressão 3D25
3.4.1	Sinterização seletiva a laser (SLS)
3.4.2	Estereolitografia (SLA) 40
3.4.3	Filamento fundido (FDM) 41
3.4.4	Evaporação de solvente43
3.4.5	Impressão 3D por aglutinação por jato de tinta
4	MATERIAIS E MÉTODOS 47
4.1	MATERIAIS 47
4.2	EQUIPAMENTOS
4.3	MÉTODOS 49
4.4	CARACTERIZAÇÃO DAS NANOESTRUTURAS E DOS SISTEMAS
4.4.1	Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM)
4.4.2	Difração de Raios-X (XRD)
4.4.3	Análise de Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) 51
4.4.4	Análise Termogravimétrica (TGA) 52
4.4.5	Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)
4.4.6	Ressonância Magnética Nuclear no domínio do tempo (NMR) 53
4.4.7	Teste de Deposição de Cálcio na Superfície dos Arcabouços 53

5	RESULTADOS E DISCUSSÕES54	
5.1	CARACTERIZAÇÕES DOS NANOCOMPÓSITOS DE PVA COM	N
ÓXIDOS	METÁLICOS	
5.1.1	Difração de raios-x (DRX)	
5.1.2	Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	
5.1.3	Análise Termogravimétrica (TGA)	
5.1.4	Relaxometria por ressonância nuclear no domínio do temp	ο
(RMN)		
5.1.5	Teste de Deposição de Cálcio na Superfície dos Arcabouços 51	
5.2	CARACTERIZAÇÕES DOS ARCABOUÇOS RECOBERTOS COM	Ν
NANOC	OMPÓSITOS	
5.2.1	Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	
5.2.2	Análise Termogravimétrica (TGA)	
5.2.3	Relaxometria por Ressonância Nuclear no domínio do temp	ο
(RMN)		
6	CONCLUSÕES	
7	SUGESTÕES	
	REFERÊNCIAS 80	
	APENDICE A – PRODUÇÕES RELACIONADAS A DISSERTAÇÃO	

1. INTRODUÇÃO

Arcabouços são estruturas tridimensionais biocompatíveis que conseguem mimetizar as propriedades da matriz extracelular (*extracellular matrix* - ECM) de um determinado tecido, como suporte mecânico e bioatividade, proporcionando uma plataforma para adesão, proliferação e diferenciação celular. Assim, arcabouços são muito utilizados em engenharia tecidual visando auxiliar a regeneração de tecidos lesados, sendo largamente aplicados à regeneração óssea (HUBBELL, 2010; MANO *et al.*, 2004; MELCHELS *et al.*, 2012; PATRÍCIO *et al.*, 2013; PATTERSON; MARTINO; WILLIAMS, 2004).

A metodologia tradicional para fabricação de arcabouços inclui técnicas como: evaporação do solvente (DEL GAUDIO *et al.*, 2011; HUANG *et al.*, 2014), lixiviação de partículas (NAM *et al.*, 2000; SALERNO *et al.*, 2015), eletrofiação (FOUAD *et al.*, 2013; WANG; WANG, 2014) ou uma combinação de todas essas técnicas (MENDOZA-BUENROSTRO; LARA; RODRIGUEZ, 2015). Embora essas técnicas apresentem larga aplicabilidade na área, nos dias atuais, as mesmas trazem várias desvantagens, tais quais: uso de solventes orgânicos tóxicos, dificuldade de remoção de partículas residuais na matriz do arcabouço (CASTILHO *et al.*, 2011; LEE *et al.*, 2007; MONMATURAPOJ; YATONGCHAI, 2011; SCALERA *et al.*, 2013; SWAIN *et al.*, 2011), longo período de fabricação, baixa reprodutibilidade da técnica (LEONG; CHEAH; CHUA, 2003) e formação de poros irregulares e estruturas finas (RYAN *et al.*, 2008). A técnica de evaporação por solvente, por exemplo, depende da forma do molde, não se podendo alterar tanto o grau de porosidade, quanto o tamanho dos poros, sem fabricação e utilização de um novo molde (LAM *et al.*, 2002).

Uma grande variedade de estudos mostra que a interação célula material rege um papel importante na engenharia tecidual, ajudando a célula migrar, proliferar e se diferenciar (ANSELME, 2000; CURRAN *et al.*, 2006; GLASS-BRUDZINSKI *et al.*, 2002; KOMMAREDDY *et al.*, 2010; RUMPLER *et al.*, 2007). Assim, o tamanho, desenho e interconectividade dos poros são fatores essenciais que precisam ser considerados durante a fabricação de um arcabouço (LEONG; CHEAH; CHUA, 2003). A impressão 3D (em três dimensões) permite maior controle da arquitetura do arcabouço, uma vez que o objeto impresso é fiel ao modelo desenvolvido. Além disso, a rapidez e facilidade do processo de modelagem e

impressão permitem ao pesquisador desenvolver vários testes (LAM *et al.*, 2002). Assim, arcabouços com poros de diversos tamanhos e desenhos podem ser criados e testados, servindo como uma plataforma para estudar o efeito da geometria e da arquitetura na resposta celular e no comportamento mecânico dessas estruturas (HOLLISTER, 2005).

Revisando a literatura, percebe-se que polímeros como policaprolactona (PCL), polilactídeo (PLA), poli(acido glicólico) (PGA), quitosana e seus copolímeros, são os mais utilizados como matriz de arcabouços (SERRA *et al.*, 2013). A larga utilização dessas matrizes poliméricas deve-se a sua biocompatibilidade e a sua biodegradabilidade em especial, que constitui um importante fator para que o arcabouço sintético possa ser substituído pelo novo tecido sem deixar resíduos (BOSE *et al.*, 2013). Neste aspecto, destaca-se o PLA que, ao ser biodegradado *in vivo*, gera ácido lático, substância intermediária no ciclo metabólico natural dos carboidratos no organismo humano (KUMARI *et al.*, 2010) e já apresenta larga utilização na área de liberação de fármacos e engenharia tecidual.

A utilização de polímeros biodegradáveis viabiliza, ainda, contornar o problema da força mecânica versus a permeabilidade a nutrientes, a partir da fabricação de compósitos e nanocompósitos tendo essas matrizes como base (CHEN *et al.*, 2008).

Um dos critérios mais importantes para desenvolver um implante ortopédico é a osteointegração entre o material sintético e o tecido ósseo. Sob este aspecto, existem vários estudos que demonstram que materiais nanoestruturados promovem interações protéicas favoráveis ao crescimento ósseo devido às suas propriedades de superfície. Isso se deve ao fato de que quando se diminui um material até a escala nanométrica, ocorre um aumento significativo na sua área de contato, o que proporciona um aumento nas propriedades físico-químicas, comparadas às do material macrométrico (ZHANG; WEBSTER, 2009).

Desta forma, a evolução que a bioimpressão pode trazer à área de arcabouços é enorme, pois ela torna factível um maior controle da arquitetura, possibilitando assim a construção de microestruturas que mimetizem a porosidade e a interconectividade entre os poros existentes no corpo humano (PATI *et al.*, 2013).

Dentre as técnicas de impressão 3D, destaca-se a de Filamento Fundido, em que o material é fundido, extrusado e depositado em uma mesa, camada por camada. Com o resfriamento do material, ele culmina por se solidificar sozinho assim que é extrusado, não se fazendo necessária a utilização de uma fonte de luz nem de uso de solvente, que poderia deixar resíduos tóxicos na estrutura do arcabouço (SHOR *et al.*, 2007).

Essa técnica apresenta certas limitações a respeito dos materiais que podem ser utilizados, já que poucos polímeros apresentam as propriedades térmicas e reológicas para serem processados. O PLA e o terpolímero de acrilonitrilabutadieno-estireno (ABS) são os mais utilizados (POSTIGLIONE *et al.*, 2015).

Entretanto, para imprimir arcabouços nanoestruturados é preciso realizar uma etapa extra; produzir filamentos sólidos de nanocompósitos para serem fundidos e extrusados pela impressora, o que aumenta a complexidade, além de encarecer o processo (POSTIGLIONE *et al.*, 2015).

Para contornar este empecilho pode-se realizar a cobertura de arcabouços obtidos por filamento fundido com uma camada de nanocompósito polimérico sem a necessidade de uma etapa extra. Uma boa opção para a cobertura dos arcabouços é a utilização do poli(álcool vinílico) (PVA) que é um polímero biodegradável, hidrofílico, atóxico e biocompatível. Devido a essa capacidade de degradar no corpo sem deixar resíduos tóxicos, esse polímero já é largamente utilizado em sistemas de liberação de fármacos (KAYAL; RAMANUJAN, 2010).

O PVA pode apresentar bioatividade quando aditivado por nanopartículas com capacidades osteocondutoras como a hidroxiapatita, fosfatos de cálcio, dióxido de titânio (OH; JIN, 2006), óxido de zinco (AINA *et al.*, 2009) e dióxido de zircônio (LIU *et al.*, 2006). A cobertura de arcabouços hidrofóbicos à base das matrizes convencionalmente utilizadas para a confecção de arcabouços com as matrizes de PVA traz ainda a vantagem de reduzir o reconhecimento e reação imune contra os mesmos, bem como facilita o processo de adesão celular na superfície por tornar a superfície do material mais hidrofílica (PATEL, 2012).

2. OBJETIVO

2.1. OBJETIVO GERAL

O objetivo principal desta pesquisa será avaliar a influência de coberturas à base de nanocompósitos de PVA com diferentes nanopartículas sobre as

propriedades térmicas e na bioatividade de arcabouços de PLA visando sua aplicação em regeneração óssea.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a dispersão das nanopartículas (os óxidos TiO₂, ZnO, ZrO₂ nas concentrações de 0,1% e 0,2%) na matriz polimérica de PVA, suas interações químicas e propriedades térmicas no nanocompósito polimérico, obtido sob forma de filme.
- Avaliar as caracterizações e inferir qual concentração obteve melhor dispersão e melhores propriedades de deposição de cálcio e fosfato na matriz de PVA para servir como melhor cobertura para os arcabouços.
- 3. Obter arcabouços de PLA com uma impressora 3D de filamento fundido com três diferentes graus de porosidade (30%, 40% e 50%), para estudar o maior controle da porosidade conferido pela técnica de impressão 3D e como a porosidade rege as propriedades biológicas do arcabouço.
- Caracterizar os arcabouços recobertos para investigar a homogeneidade da cobertura de PVA sobre os arcabouços, e avaliar o efeito das nanoestruturas nas propriedades térmicas, e na deposição de cálcio e fosfato.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. ARCABOUÇOS PARA REGENERAÇÃO ÓSSEA

O osso não só desempenha um papel na mobilidade e na proteção de outros órgãos, mas ele também desempenha um papel fundamental controlando funções fisiológicas, dentre elas o armazenamento de minerais, formação de células do sangue, homeostase e regulação do pH sanguíneo (PORTER; RUCKH; POPAT, 2009). O tecido ósseo é composto por diversos elementos, dando destaque aos osteoblastos, osteócitos e osteoclastos; os dois primeiros são responsáveis pela formação óssea, enquanto que os últimos são responsáveis pela reabsorção do tecido ósseo já existente no corpo visando sua remodelagem e garantindo ao corpo o equilíbrio dos íons envolvidos na neoformação óssea. Combinando esses efeitos em um processo completo, é possível afirmar que o osso é constituído por um tecido dinâmico que possui habilidades de manter-se em constante ciclo de remodelamento/regeneração. Todavia, essa capacidade de regeneração é limitada, de forma que grandes defeitos não conseguem ser reparados de maneira espontânea pelo corpo, levando a necessidade de uma intervenção externa (BOSE *et al.,* 2013, KIEBZAK, 1991, SANTOS *et al.,* 201)

Devido a essa limitação quanto a extensão de sua regeneração e visto que com o aumento da idade o organismo reduz sua capacidade de neoformação de tecido ósseo, as fraturas ósseas apresentam um grave problema de saúde pública (CURREY, 2004). Desse modo, a necessidade de uma tecnologia de regeneração tecidual cresce dramaticamente junto à população mundial e ao aumento da expectativa de vida (Figura 1). Essas fraturas são as principais responsáveis pelas altas taxas de morbidade e deficiência física em pacientes idosos, o que diminui drasticamente sua qualidade de vida (AREALIS; NIKOLAOU, 2015; WANG *et al.*, 2014).

Dentre as possibilidades de tratamento para fraturas oriundas de patologias como a osteoartrite, a osteoporose e os canceres ósseos, a utilização de enxertos que substituam o tecido danificado é bastante comum. Enxerto ósseo é o segundo tecido mais transplantado, perdendo apenas para o sangue (GIANNOUDIS; DINOPOULOS; TSIRIDIS, 2005). Aproximadamente 2,2 milhões de procedimentos são realizados mundialmente a cada ano e os gastos, nos Estados Unidos, estão em torno de 2,5 bilhões por ano (LAURENCIN; KHAN; EL-AMIN, 2006).



Figura 1 - Incidência de fraturas ósseas em diversas idades Fonte: ENSRUD, 2013

Um dos problemas de utilizar enxertos para substituir o tecido original são as complicações que surgem devido ao seu afrouxamento, o que leva à inflamação/infecção local seguida de osteólise, ou seja, morte do tecido ósseo,

acarretando no aumento dos danos existentes (FUCHS; NASSERI; VACANTI, 2001; NAVARRO *et al.*, 2008). Soma-se a isso o fato de que materiais sintéticos não interagem bem com o organismo humano e fracassam com o tempo devido à fadiga ou a uma resposta adversa do organismo. Assim, faz-se necessária uma nova geração de implantes, para substituir os tradicionais, que sejam biodegradáveis e biocompatíveis, eliminando a necessidade de submeter o paciente a uma segunda cirurgia para remover o implante, juntamente com os riscos associados a uma segunda intervenção cirúrgica (KIM *et al.*, 2009; KROEZE *et al.*, 2009; NAUGHTON; TOLBERT; GRILLOT, 1995; VACANTI, 1996).

O conceito de engenharia tecidual emergiu no ano de 1990 para tratar das limitações enfrentadas por enxertos e reparo de tecido, focando em métodos para sintetizar e/ou regenerar tecido e ampliar suas funções *in vivo* (DUAN; WANG, 2010). Ele se traduz em transplantar biofatores (células, genes, ou proteínas) junto com um material tridimensional poroso, biocompatível e biodegradável, conhecido como arcabouço (Figura 2). Os biofatores estimulam o reparo tecidual, enquanto que o papel dos arcabouços e da sua arquitetura porosa está longe de ser passivo, pois os mesmos devem mimetizar as propriedades da matriz extra celular (ECM), preservando o volume de tecido e fornecendo suporte mecânico para as células aderirem e proliferarem (BOSE *et al.*, 2013; REZWAN *et al.*, 2006; SALGADO; COUTINHO; REIS, 2004).

Assim, a regeneração tecidual é uma área interdisciplinar, que visa combinar conhecimento de biologia celular, biomateriais e fatores bioquímicos para criar um arcabouço funcional (COX *et al.*, 2015).



Figura 2- Fatores mais importantes na fabricação de um arcabouço para engenharia tecidual óssea Fonte: CHEN *et al.*, 2008

Os requisitos para a construção de um arcabouço ideal são: (i) biocompatibilidade, pois o arcabouço deve sustentar atividade celular, favorecendo adesão, proliferação e diferenciação, sem causar efeitos tóxicos para o tecido normal, (ii) cinética controlada de biodegradação de modo que o arcabouço se degrade a medida que o tecido se regenere e assuma o seu lugar, (iii) força mecânica suficiente para que o arcabouço possa sobreviver à esterilização, ao manuseio e transporte pré-cirurgia, e que também possa suportar forçar físicas *in vivo*, e, por fim, ele também deve possuir (iv) interconectividade entre os poros que permita a difusão de nutrientes essenciais e de oxigênio para a sobrevivência das células (LI *et al.*, 2013).

Um grande desafio encontrado na produção de arcabouços é que existe uma relação inversamente proporcional entre a força mecânica de um arcabouço e sua bioatividade; materiais fortes mecanicamente tendem a ser bioinertes, enquanto que materiais biodegradáveis são mecanicamente fracos (IGUAL; MEDRANO; PLAZA, 2013; WOO; CHEN; MA, 2003). Em outras palavras, a força mecânica de um arcabouço é inversamente relacionada com a sua porosidade, enquanto sua bioatividade é diretamente correlata (MACCHETTA; TURNER; BOWEN, 2009). Nessa perspectiva, Zhang e colaboradores (2009) mediram as propriedades mecânicas de arcabouços cerâmicos para regeneração óssea, fabricados por estereolitografia, com um teste de compressão realizado sobre tensão axial a uma velocidade de 1 mm/min. Foram obtidos diferentes arcabouços com a área de porosidade variando de 0 a 60% do volume total da peça. Com base nos resultados, os autores puderam observar que o módulo de compressão para o espécime contendo 30% de porosidade é de 18,4 MPa (Figura 3a), esse valor se compara a resistência do osso natural, fornecendo bom suporte mecânico para o reparo celular. A Figura 3b, por sua vez, mostra as propriedades mecânicas de arcabouços cerâmicos impressos 3D por sinterização a laser seletivo convencional e em micro-ondas, e apresenta resultados semelhantes; demonstrando que, quanto mais denso o arcabouço, melhores as propriedades mecânicas finais obtidas para ambas as formas de sinterização (BOSE et al., 2013).



Figura 3- Influência da porosidade nas propriedades mecânicas. Fonte: (a) ZHANG *et al.*, 2015; (b) BOSE *et al.*, 2013

Embora a porosidade represente um aspecto negativo sob a perspectiva mecânica, seu aumento está relacionado a uma elevação de sua bioatividade, porque, quanto mais poroso é um arcabouço, maior é a área superficial disponível que incentiva a adesão e proliferação celular (CHEN; ROETHER; BOCCACCINI, 2008).

Nesse sentido, o estudo realizado por Lin e colaboradores (2013) visou avaliar a relação entre a porosidade de arcabouços e atividade celular estimulada pelos mesmos. Para isso, foram obtidos por estereolitografia arcabouços a base de polietilenoglicol (PEG), um arcabouço sólido e outro com porosidades de 500 µm. Após a realização dos testes de atividade celular pode-se observar que há uma maior atividade celular no arcabouço poroso em detrimento do sólido (Figura 4); tal comportamento deve-se ao aumento da área disponível para a permeação celular, visto que, nos arcabouços sólidos o crescimento tecidual dá-se apenas em sua superfície, enquanto nos porosos há a entrada das células e proliferação por entre a estrutura do mesmo, viabilizando um reparo tecidual mais extenso.





Dentre os biofatores mais utilizados na regeneração tecidual óssea, destacam-se: proteínas angiogênicas que regulam proliferação de células endoteliais; e proteínas morfogênicas ósseas que estimulam a osteogênese, por meio da diferenciação de osteoprogenitoras e de mesenquimais em osteoblastos. Assim, o arcabouço deve ser poroso para permitir não só o transporte desses biofatores, mas também a vascularização que visa fornecer suporte sanguíneo para regeneração do tecido e viabilizar a remoção do material residual oriundo do metabolismo celular local (BOSE; VAHABZADEH; BANDYOPADHYAY, 2013).

Para que ocorra formação tecidual de maneira adequada, é necessário que os arcabouços sejam estruturas extremamente porosas, com uma porosidade média de 30-60%. A macroporosidade do arcabouço desempenha um papel crítico na regeneração de tecidos danificados, uma vez que permite a penetração das células, o que, por sua vez, permite a integração com o tecido hospedeiro (BOSE *et al.*, 2013; MURPHY; HAUGH; O'BRIEN, 2010; Tarafder *et al.*, 2013). Enquanto poros e suas interconexões na faixa de 100 a 300µm são interessantes porque estimulam as células a migrarem e proliferarem, poros menores também desempenham papéis fundamentais (BOSE *et al.*, 2013; MURPHY; HAUGH; O'BRIEN, 2013; MURPHY; HAUGH; O'BRIEN, 2010; TARAFDER *et al.*, 2013). Esses poros de poucos microns de comprimento são importante na adsorção de proteínas na superfície do material na etapa incial da regeneração (BARRADAS *et al.*, 2011; CHANG *et al.*, 2007; YUAN *et al.*, 1998). Além de possuir essa habilidade de adsorver proteínas, esses poros menores também são conhecidos por regular o comportamento celular, desempenhando um papel fundamental no diferenciamento de células tronco (PEREZ; MESTRES, 2015).

Arcabouços também podem ser usados para entrega local de fármacos. A vantagem desses sistemas é a possibilidade de reduzir a dose de fármaco necessária para obter eficácia terapêutica, bem como seus possíveis efeitos tóxicos, produzindo um padrão de liberação modificada (GBURECK *et al.*, 2007; GHALANBOR *et al.*, 2012, JONATHAN; KARIM, 2016;GITTENS; ULUDAG, 2001; GROENEVELD *et al.*, 1999; HENCH, 2002; LUGINBUEHL *et al.*, 2004; WESTEDT *et al.*, 2006).

Para contornar o problema do desempenho mecânico *versus* a atividade biológica, surgiu a fabricação de compósitos de polímeros biodegradáveis que, com a adição de uma fase inorgânica à matriz polimérica, conseguiram preencher ambos os requisitos de um arcabouço (CHEN *et al.*, 2008; TSIVINTZELIS *et al.*, 2007). Serra e colaboradores (2013) obtiveram arcabouços de PLA pela técnica de evaporação de solvente, com a finalidade de observar a variação de dois diferentes fatores. O primeiro fator avaliado dizia respeito à arquitetura de suas camadas que foram obtidas em dois padrões distintos; o ortogonal (ORTH) e a camada dupla deslocada (DISPL). A diferença entre espécimes causou uma variação no volume dos poros final. O segundo fator variante foi a inserção de partículas de cerâmicas G5 na matriz de PLA nas mesmas arquiteturas descritas anteriormente (ORTH-G5 e DISPL-G5). Após o teste de resistência à compressão (Figura 5), os autores puderam observar que arcabouços contendo a cerâmica G5 apresentaram melhor módulo de compressão do que os arcabouços que não possuíam a fase inorgânica para ambas as arquiteturas avaliadas.





Fonte: SERRA et al., 2013

Devido à semelhança de fosfatos de cálcio (CaPs) com os minerais presentes nos ossos, especialmente a hidroxiapatita $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2 - HA]$, esse grupo de

cerâmicas é bastante usado como a fase inorgânica para a produção de compósitos (ARIFIN *et al.*, 2014; BEN-NISSAN, 2003; COX *et al.*, 2015; FRANCO *et al.*, 2010; FU; SAIZ; TOMSIA, 2011; KIM; KNOWLES; KIM, 2004; MARTÍNEZ-PÉREZ *et al.*, 2012; MORADI *et al.*, 2013; RAJZER, 2014; SEBDANI; FATHI, 2011; VALLET-REGÍ; GONZÁLEZ-CALBET, 2004)

Ao revisar a literatura, percebe-se que polímeros como poli(caprolactona) (PCL), poli(acido lático) (PLA), poli(acido glicólico) (PGA), quitosana e seus copolímeros, são os mais utilizados como matriz de arcabouços (SERRA; PLANELL; NAVARRO, 2013). PLA, por exemplo, tem sido utilizado in várias aplicações tanto na área de regeneração óssea (RAGHOEBAR et al., 2006, SALERNO et al., 2015; SHAH MOHAMMADI; BUREAU; NAZHAT, 2014; TANODEKAEW et al., 2013; TANODEKAEW et al., 2013), guanto na área de liberação de fármacos (KIM; PACK, 2006; LASSALLE; FERREIRA, 2007; MORA-HUERTAS; FESSI; ELAISSARI, 2010; OUCHI et al., 2004; VILAR; TULLA-PUCHE; ALBERICIO, 2012). A larga utilização dessas matrizes poliméricas deve-se a sua biodegradabilidade (Figura 6), que constitui um importante fator para que o arcabouço sintético possa ser substituído pelo novo tecido, sem deixar resíduos. Além do tempo de degradação de cada material, outro fator que influencia o tempo de biodegradação é a porosidade do arcabouço, umas vez que aumenta a probabilidade da entrada de fluidos na estrutura (BOSE; VAHABZADEH; BANDYOPADHYAY, 2013). Idealmente, um arcabouço deveria degradar na mesma taxa que o tecido ósseo se forma (BONFIELD, 2006; PÉREZ et al., 2013).

Assim, as propriedades conseguidas pelo arcabouço variam entre o máximo previsto pela química do material e o zero previsto por teorias de compósitos. Tendo dito isso, é necessário pensar em um *design* para o arcabouço que consiga balancear as propriedades mecânicas com as propriedades de transporte de massa e com a sua biodegradação (BOSE; VAHABZADEH; BANDYOPADHYAY, 2013).



Figura 6- Arcabouço degradando depois de um mês implantado em camundongo. Fonte: SEYEDNEJAD *et al.*, 2012

3.2 POLÍMEROS PARA FABRICAÇÃO DE ARCABOUÇOS ÓSSEOS

3.2.1 Poli(ácido láctico)

O poli(ácido láctico) ou poli(lactídeo) é um polímero biodegradável devido as suas ligações ésteres hidrolisáveis, sendo assim uma alternativa sustentável para substituir polímeros derivados do petróleo (NAMPOOTHIRI; NAIR; JOHN, 2010). Além disso, é um polímero compostável e reciclável, contribuindo para preservação do meio ambiente (AURAS; HARTE; SELKE, 2004).

Ele pode ser obtido diretamente a partir da policondesação do ácido lático ou da polimerização por abertura de anel do lactídeo (Figura 7), que é derivado do ácido lático, proveniente da fermentação da glicose presente em recursos renováveis, como o milho, a beterraba e o bagaço da cana de açúcar (CARRASCO *et al.*, 2010). O Brasil foi o maior produtor de cana de açúcar em 2008, produzindo 648.921.280 milhões de toneladas por ano de acordo com a divisão estatística da FAO. A Figura 7 mostra o ciclo completo do PLA, desde a sua síntese até a sua biodegradação em gás carbônico e água.



Figura 7 - Ciclo do PLA

O ácido láctico é uma molécula quiral e existe na forma de dois isômeros; L-D-ácido-láctico (LUNT, 1998). Essas duas formas opticamente ativas estão representadas na Figura 8 exibida a seguir.



Figura 8 - Estereo-isômeros levógiro e dextrogiro do ácido láctico

As duas formas, ao serem polimerizadas, formam o poli(L-ácido láctico) (PLLA) e o poli(D-ácido láctico) (PDLA), ou uma mistura entre os tipos de estrutura, o poli(L,D-ácido láctico) (PDLLA)(LUNT, 1998). A razão entre as frações de L- e D-, que denota a pureza óptica do PLA, influencia diretamente nas propriedades do polímero, como na temperatura de transição vítrea (T_g), na cristalinidade e consequentemente na temperatura de fusão cristalina (T_m).

O PLA tem sido amplamente usado na biomedicina devido a sua biodegradabilidade, biocompatibilidade e capacidade de ser reabsorvidas pelo corpo humano, nas áreas de enxertos, entregas de medicamentos e engenharia tecidual, uma vez que seu produto degradado, o ácido láctico, é inócuo (LOPES; JARDINI;

FILHO, 2012). Além disso, ele se biodegrada simplesmente com a hidrólise de seus ésteres, sem precisar da presença de enzimas, o que evita uma reação inflamatória (LASPRILLA *et al.*, 2012).

3.2.2. Poli(álcool vinílico)

Poli(álcool vinílico) (PVA) é um polímero solúvel em água atóxico, biocompatível e biodegradável. (YE; MOHANTY; GHOSH, 2014). Foi obtido pela primeira vez em 1924, por Herrman e Haehnel, a partir da hidrólise do poli (acetato de vinila), uma vez que o monômero, o "álcool vinílico" não existe no estado livre. Em 1961, Staudinger pesquisou a transformação reversível entre o poli(álcool vinílico) e o poli(acetato de vinila) por meio das reações de esterificação e saponificação (GAAZ *et al.*, 2015). A quantidade de hidrolização determina as propriedades físicas, químicas e mecânicas; quanto maior a hidroxilação, menor a solubilidade em água e mais difícil é a cristalização (BAKER *et al.*, 2012).

Este polímero é um excelente adesivo, possui boa resistência a solventes orgânicos e sua resistência à passagem de oxigênio é superior a de qualquer polímero conhecido. É um dos poucos polímeros semicristalinos solúveis em água com boas características interfaciais (MARTEN, 1985). É amplamente utilizado na indústria têxtil, na indústria de embalagens e em aplicações biomédicas como lentes de contato, medicamentos, materiais ortopédicos, engenharia tecidual e na fabricação de órgãos artificiais (YE; MOHANTY; GHOSH, 2014).

3.3. APLICAÇÃO DA NANOTECNOLOGIA EM REGENERAÇÃO TECIDUAL

O uso de materiais nanoestruturados em engenharia tecidual tem como inspiração a arquitetura natural do osso, uma vez que, da perspectiva biológica, a matriz natural óssea é um nanocompósito formado por uma fase inorgânica de nanocristais de hidroxiapatita (HA), dispersos na fase orgânica, constituída por nanofibras de colágeno, cujo diâmetro varia de 5-50 nm (Figura 9) (WEGST; ASHBY, 2004; VENUGOPAL *et al.*, 2010). Essa combinação complexa de uma matrix elástica (módulo elástico E = 1-2 GPa e tensão na ruptura TR=50-1000 MPa) com uma fase mineral forte e quebradiça (E=130 GPa, TR=100 Mpa) leva a um material compósito com características dúcteis e boa resistência à fratura (VLIERBERGHE *et al.*, 2011). Assim, a criação de um nanocompósito pode mimetizar adequadamente as

propriedades apresentadas pelo osso natural e combinar as vantagens de ambos os componentes, alcançando propriedades maiores que as apresentadas por seus componentes individuais (SINHA RAY; OKAMOTO, 2003; WANG *et al.*, 2014)



Figura 9 - Organização hierárquica dos componentes do tecido ósseo, da escala macro para a nanométrica

O uso de nanocompósitos é vantajoso, então, porque ainda não existe um único material que seja biocompatível, biodegradável e que apresente boas propriedades mecânicas para substituir o osso, como ilustra a Figura 10 (VLIERBERGHE *et al.*, 2011).



Figura 10 - Propriedades mecânicas de materiais naturais comparadas à de materiais utilizados na área biomédica.

Um dos critérios mais importantes para desenvolver um implante ortopédico é a osteointegração entre o material sintético e o tecido ósseo. Sob este aspecto, existem vários estudos que demostram que materiais nanoestruturados promovem interações proteicas favoráveis ao crescimento ósseo devido às suas propriedades de superfície. Isso se deve ao fato de que, quando se diminui um material até a escala nanométrica, ocorre um aumento significativo na sua área de contato, o que proporciona um aumento nas propriedades físico-químicas, comparadas às do material macrométrico (ARMENTANO *et al.,* 2010, 2013; ZHANG; WEBSTER, 2009).

Assim, valer-se da nanotecnologia é vantajoso porque, devido às suas propriedades de superfície favoráveis, ela melhora a função, adesão e proliferação das células ósseas (KARAGEORGIOU; KAPLAN, 2005; ZHANG; WEBSTER, 2009;). Como o nanomaterial apresenta uma superfície bioativa, que mimetiza a superfície de ossos naturais, ele promove uma melhor adsorção de proteínas e biofatores (Figura 11), estimulando uma formação óssea melhor do que qualquer outro material convencional (HULE; POCHAN, 2007; KUBINOVÁ; SYKOVÁ, 2010; MURUGAN; RAMAKRISHNA, 2005; TJONG, 2006). Além disso, nanoestruturação geralmente aumenta a força mecânica de materiais compósitos (CHO *et al.,* 2006; JO *et al.,* 2009; HULE; POCHAN, 2007; DAVIS; LEACH, 2008).

Em 2011, a Comissão Europeia definiu um nanomaterial como um material natural, acidental ou manufaturado, que contém partículas, sozinhas ou agregadas, que contenham pelo menos uma dimensão entre 1 e 100 nm. Entretanto, existem outras definições na literatura que ampliam a definição do prefixo nano, para incluir estruturas que excedem 100 nm, abrangendo assim, uma grande variedade de estruturas (WANG *et al.*, 2014).



Adsorção imediata de proteinas no substrato

Adesão e proliferação de osteoblastos (0-3 dias)

Diferenciação dos osteoblastos e remodelação óssea (> 21 dias)

Figura 11 - Ilustração mostrando como os materiais nanoestruturados são superiores aos materiais convencionais. Fonte: LI *et al.,* 2013

Entre os nanomateriais conhecidos, encontram-se nanopartículas, nanotubos, nanocristais, nanofibras e nanofios, que podem ser integrados à engenharia tecidual para produzir arcabouços bioativos, devido às suas propriedades únicas de superfície (BULTE *et al.,* 2001; HARRISON, 2007). Para isso, existem diversas tecnologias de nanofabricação, tanto *top-down*, quanto *bottom-up*, como, por

exemplo: eletrofiação, separação de fases, automontagem (self-assembly), deposição de filme nanoestruturado, deposição química por vapor, entre outras (ARMENTANO et al., 2013).

A nanotecnologia é uma das responsáveis pelo grande progresso feito na área biomédica nos últimos anos e, como consequência, nanomateriais agora se encontram em produção industrial em massa e alguns produtos já estão sendo comercializados (MOTHERSILL; SEYMOUR; O'BRIEN, 1991). Entretanto, é preciso cuidado porque atualmente existem poucos estudos acerca da toxicidade de nanomateriais. São necessárias mais informações sobre: as nanopartículas provenientes da degradação de arcabouços, sua interação com biomoléculas *in vivo* e provável aglomeração, sua captura por macrófagos, sua entrada em células endoteliais e os efeitos tóxicos decorrentes (ZHANG; WEBSTER, 2009).

3.3.1. Óxidos Metálicos

A zircônia (ZrO₂) é uma cerâmica amplamente disseminada no planeta, inclusive no corpo humano, presente no tecido ósseo, em quantidade de 2-20 mg/kg. (GHOSH; SHARMA; TALUKDER, 1992). Desde 1970, ZrO₂ tem sido utilizada como um material biomédico devido a sua versatilidade; ela pode ser encontrada nas formas polimórficas monoclínica, tetragonal e cúbica. Ela é um material biocompatível e bioativo, sendo capaz de induzir adesão, diferenciação e proliferação celular, contribuindo para uma melhor osteointegração. Além disso, quando submetida a estresse, sua forma metaestável tetragonal se transforma na polimorfa monoclínica, fechando-se ao redor da rachadura, o que causa uma expansão de volume e de estresse compressivo e impede a rachadura de se propagar.

As propriedades físicas da zircônia e o sucesso que ela veio fazendo como na área de implantes introduziu o material como revestimento para implantes metálicos ou poliméricos. Em 2006, Liu *et al* depositou filmes finos de zircônia e conseguiu, não apenas uma grande deposição de hidroxiapatita por fluido biológico simulado (simulated body fluid - SBF), mas também uma grande adesão e proliferação de células mesenquimais, como mostra a Figura 12.



Figura 12 - Deposição de células BMMSC em filmes de ZrO₂ após 4 dias

O titânio (TiO₂), por sua vez, é um material cerâmico que apresenta três estruturas cristalinas (Figura 13) anatase (tetragonal), rutilo (tetragonal) e brookite (ortorrômbica) (MENDONÇA, 2009), sendo que a fase brookite é difícil de ser sintetizada, instável e de baixo interesse, enquanto que rutilo e anatase são as mais pesquisadas e podem ser sintetizadas em laboratório e são semicondutoras, apresentando atividade catalítica (COSTA *et al.*, 2006).



Figura 13 - Formas Estruturais do TiO2: (a) Rutilo, (b) Anatase, (c) Brookite

Os óxidos de titânio são amplamente aplicados na engenharia tecidual devido a sua atoxicidade, baixo custo, atividade fotocatalítica, mas principalmente pelas suas propriedades bactericidas, que foram estudadas e relatadas em diversos artigos. Haldorai *et al.* (2016) fez nanohíbridos de quitosana com TiO₂, para testar a atividade bactericida contra a *E. Coli* e conseguiram um resultado positivo, como mostra a Figura 14.



Figura 14 - Foto da E. Coli (a) sem e (b) com o híbrido quitosana-TiO₂ por 12h Fonte: HALDORAI; SHIM, 2016

O óxido de zinco (ZnO) é um material semicondutor polimórfico, que pode ser encontrado nas seguintes formas: wurtzila (hexagona), blenda de zinco (cúbica) ou sal de rocha (cúbica), sendo que somente a wurtzila é termodinamicamente estável em condições ambientes. Esse material apresenta boa compatibilidade, estabilidade química, atividade antibacteriana e antifúngica, com a habilidade de ser atóxico *in vitro* e *in vivo*. Tais características tornam o óxido de zinco bastante atrativo para a área biomédica, podendo ser aplicado em cosméticos, fármacos, materiais ortopédicos, arcabouços e bioimageamento. Além disso, o óxido de zinco é biodegradável; Zn⁺² é um elemento indispensável no corpo humano, fazendo parte de diversas etapas do metabolismo adulto (ZHANG *et al.,* 2014).

Como o óxido de zinco nanométrico exibe fluorescência, ele tem sido largamente utilizado em pesquisas pré-clínicos por ser barato e conveniente. Zhang *et al.*, em um estudo prévio (2011), sintetizou nanofios de ZnO para o imageamento de células cancerosas, usando o antagonista da integrina $\alpha\nu\beta$ 3 como o ligante. A Figura 15a mostra a fluorescência dos nanofios de ZnO. Além disso, foi adicionado o isótopo ⁶⁴Cu(1/2t=12,7h) para avaliar a biodistribuição em camundongos. A Figura 15b mostra que os nanofios acumularam no sistema retículo-endotelial e se degradam, eliminando-se do corpo do camundongo (HONG *et al.*, 2011).



Figura 15 - (a) Fluorescência de nanofios de ZnO, (b) Biodistribuição dos nanofios de ZnO e sua biodegradação depois de 20h Fonte: HONG *et al.*, 2011

3.4. IMPRESSÃO 3D

Impressão 3D é um termo que abrange diversas técnicas usadas para se criar um objeto 3D a partir de um modelo computacional renderizado (SERRA; PLANELL; NAVARRO, 2013). É uma tecnologia de prototipagem rápida considerada revolucionária e que difere das demais existentes por ser um método de manufatura aditivo. Ao contrário de tecnologias subtrativas, que se baseiam na remoção de material excessivo e supérfluo até chegar ao objeto desejado, a impressão 3D é uma técnica de manufatura aditiva (BILLIET *et al.*, 2012; BUTSCHER *et al.*, 2012; CHUMNANKLANG *et al.*, 2007; KUMAR; KRUTH, 2010; MALEKSAEEDI *et al.*, 2014), que constrói o objeto bloco por bloco; utilizando somente o material que fará parte do mesmo e evitando perda de material no processo (KIETZMANN *et al.*, 2014; STANSBURY; IDACAVAGE, 2015). Além disso, 95% a 98% do remanescente da impressão 3D, como estruturas anexas para suporte da peça impressa, pode ser reciclado, processado e reutilizado em uma nova impressão (BERMAN, 2012).

A tecnologia de uma impressora 3D está atrelada com a de softwares de projeto assistido por computador (*computer-aided design* - CADs), onde o *design* do objeto é feito. A geometria do objeto pode ser conseguida através de *softwares* de modelagem, equações matemáticas ou escaneamento (MELCHELS; FEIJEN; GRIJPMA, 2010). A frase "tudo o que pode ser desenhado pode ser impresso" é considerada a base da impressão 3D, mas na verdade, é uma utopia que ainda há de ser alcançada; atualmente, para ser impresso, é necessário que o objeto seja completamente sólido. Uma vez modelado, o objeto é "fatiado" por um programa específico denominado *slicer*, que tem o intento de dividir o objeto modelado em

fatias bidimensionais, a fim de determinar o caminho de impressão (BERMAN, 2012; KIETZMANN *et al.*, 2014; STICKLAND *et al.*, 2003; WATSON, 2014).

O que inicialmente impulsionou o desenvolvimento da impressão 3D foi a necessidade de Charles W. Hull, inventor da estereolitografia, por um tipo de prototipagem rápida comercial, tendo visto que havia uma grande necessidade de testar e produzir modelos de maneira mais veloz sem que fosse preciso estocá-los. Sob este aspecto, a impressão 3D supriu essa demanda, o que trouxe vantagens tanto para as grandes empresas, quanto para pequenos empreendedores, pesquisadores e cientistas (KIETZMANN; PITT; BERTHON, 2015). Assim, a combinação de flexibilidade, rapidez e baixo custo é o que torna a impressão 3D uma tecnologia disruptiva.

Rifkin e colaboradores (2011) consideram a impressão 3D como parte da terceira revolução industrial, pois proporciona uma mudança de material e energia, cuja significância remete ao aumento de produtividade conseguida na primeira revolução industrial, e um aumento da velocidade de transmissão de informação, que se assemelha ao conseguido durante a segunda revolução industrial.

Hoje em dia, essa tecnologia de impressão é acessível a uma parcela grande da população mundial, possuindo modelos cujos preços variam de 500 a 2000 dólares (KIETZMANN; PITT; BERTHON, 2015). O processo de impressão 3D é altamente automatizado e só se faz necessário força de trabalho humana em pré/pós processamento; essas facilidades no processo impulsionam seu crescimento e sua expansão (GEBLER *et al.,* 2014).

Por outro lado, a alta disponibilidade e fácil acesso de *designs* 3D na internet torna difícil a tarefa de proteger a propriedade intelectual do usuário; como o *design* do objeto é descrito e disponibilizado digitalmente, é fácil dele ser copiado, plagiado e revendido (BERMAN, 2012).

Gershenfeld (2012) descreve a impressão 3D como parte de uma transição social, que transforma dados em objetos e objetos em dados (GEBLER; UITERKAMP; VISSER, 2014).

A impressão 3D é ideal para confeccionar peças de reposição, uma vez que, ao se utilizar técnicas convencionais, como a injeção em moldes, por exemplo, peças de reposição precisam ser feitas em grande quantidade e de uma única vez. Diante de uma demanda incerta e a fim de reduzir os gastos com armazenamento, a impressão 3D torna-se uma ferramenta fundamental, pois viabiliza a construção de
peças apenas quando necessário, o que otimiza a produção e elimina gastos (BERMAN, 2012). Sob esta perspectiva, Gebler e colaboradores (2014) fizeram uma projeção mundial para 2025 e constataram que a redução dos gastos proporcionada pela impressão 3D estaria na faixa de 170 a 593 bilhões de dólares.

Outra vantagem da impressão 3D é a grande variedade de materiais que podem ser usados. São utilizados polímeros, dentre os quais se destacam o copolímero de acrilonitrila-butadieno-estireno (ABS) e o poli(ácido lático) (PLA). Todavia, ainda existe a possibilidade de se utilizar outros materiais como as resinas epoxídicas, nylons, ceras, metais (como titânio, prata), chocolate e também tecidos corporais como a cartilagem (KIETZMANN; PITT; BERTHON, 2015). A seleção do material, o que é uma parte vital do processo, é regida pelo tipo da impressora e pelos requisitos do produto final (SHAFIEE; ATALA, 2016).

Devido às elevadas possibilidades de aplicação e a ampla variedade de materiais que podem ser utilizados no processo (YAN; GU, 1996; YANG *et al.*, 2008). A impressão 3D emergiu das áreas automotiva, microeletrônica e aeroespacial para a área biomédica. Dessa forma, a técnica de impressão 3D ganhou uma ampla diversidade de aplicações para uso biológico, que inclui: o estudo da bioimpressão de órgãos artificiais para transplante (REZENDE *et al.*, 2015); a produção de próteses com menor custo final; produção de instrumentos cirúrgicos (MALIK *et al.*, 2015) e produção de bioarcabouços (Figura 16), que funcionam como análogos ao tecido danificado visando à regeneração tecidual (PATI *et al.*, 2013). Na verdade, várias técnicas de impressão 3D já estão sendo usadas para desenhar e fabricar arcabouços para aplicações médicas, dentre elas: filamento fundido (FDM), esterolitogafia (SLA), aglutinação por jato de tinta e sinterização a laser seletivo (SLS) (CIURANA; SERENÓ; VALLÈS, 2013; KRUTH *et al.*, 2007; MELCHELS; FEIJEN; GRIJPMA, 2009).



Figura 16 - Exemplos de arcabouços fabricados por impressão 3D Fonte: HUSÁR et al., 2014

Tal aplicação é possível porque a técnica de impressão 3D permite a superação das limitações relacionadas ao desenho e processamento do arcabouço apresentadas pelas técnicas tradicionais (GAUVIN *et al.*, 2012; OKABE *et al.*, 2009). Sendo assim, a evolução que a bioimpressão pode trazer à área de arcabouços é enorme, pois ela torna factível um maior controle da arquitetura (Figura 17), possibilitando assim a construção de microestruturas que mimetizem a porosidade e a interconectividade entre os poros existentes no corpo humano (PATI *et al.*, 2013).

Arcabouço obtido por lixiviação de porógenos



Arcabouço obtido por impressão 3D



Figura 17 - Observação de arcabouços obtidos por lixiviação de porógenos e por impressão 3D demonstrando a arquitetura mais precisa do impresso. Fonte: HOLLISTER, 2005

Kim *et al* (1998) foram pioneiros em imprimir arcabouços 3D de PLGA com poros de 800 µm. Diversos estudos seguiram, inspirados pelo controle da arquitetura conseguido com a técnica da impressão 3D (LAM *et al.*, 2002; PARK *et al.*, 2011; ZELTINGER *et al.*, 2001). Uma vez que o desenho do arcabouço é feito por computador, sua estrutura pode ser minuciosamente controlada, modificada, testada e reproduzida. A facilidade de desenho e sua modificação foi o atrativo principal ao campo da engenharia tecidual, tendo em vista que as propriedades do arcabouço final, incluindo a adesão celular, estão intimamente atreladas a sua arquitetura (LAM *et al.*, 2002).

Existe a possibilidade de imprimir células simultaneamente à impressão da matriz polimérica sustentadora, camada por camada, e isso faz o produto final alcançar uma densidade celular na matriz mais alta do que outras técnicas de

sedimentação celular, que são sempre realizadas após a fabricação do arcabouço polimérico (MURPHY; ATALA, 2014; SELIKTAR *et al.*, 2013; TANG *et al.*, 2016). As primeiras tentativas foram feitas em 2D por Odde *et al* (1999) que imprimiu, com ajuda de um laser, células de medula espinhal em um meio de cultura em uma bandeja de vidro. Em 2003, Boland *et al* modificou uma impressora de aglutinação por jato de tinta comercial e usando a "cabeça" de impressão da HP e da Epson conseguiu imprimir proteínas e células de mamíferos. Entretanto, para imprimir células vivas, ele precisou modificar a cabeça de impressão para ejetar gotas maiores que 100µm. Saunders *et al* (2004) conseguiu imprimir condrócitos, osteoblácitos e fibroblácitos em uma suspensão de células com uma cabeça de impressão com 30- 60 µm de diâmetro.

O problema é que as técnicas de impressão 3D disponíveis atualmente, tais como FDM, SLA, SLS, aglutinação por jato de tinta e outras, não permite impressão de células concomitante à impressão do arcabouço devido à alta pressão, à alta temperatura ou ao uso de solventes citotóxicos (YANG *et al.,* 2002).

Hopkinson e colaboradores (2006) descreveram 18 tipos de impressão 3D, que podem ser divididos pelo estado físico do material a ser impresso (sólido ou líquido), ou pelo método aplicado para fundir a matéria em um nível molecular (térmico, radiação UV, laser, entre outros), mas apenas os cinco mais conhecidos e mais largamente utilizados no campo biomédico (sinterização seletiva a laser, estereolitografia, filamento fundido, evaporação de solvente, aglutinação por jato de tinta) serão descritos na presente Dissertação.

3.4.1 Sinterização seletiva a laser

Como o nome já diz, nesta técnica faz-se uso de um laser para sinterizar o material, que se encontra em formato de pó. O laser atinge regiões determinadas, seguindo um caminho pré-determinado, e aquece o material próximo da sua temperatura de fusão, criando e unindo as camadas do objeto a ser formado (Figura 18). Depois de cada seção transversal ser desenhada através da irradiação do laser no leito de pó, a mesa se movimenta no eixo z e uma nova camada de material é aplicada por cima. Assim, o processo se repete até que a peça seja concluída (CHUA *et al.,* 2004; KIETZMANN *et al.,* 2014; SHUAI *et al.,* 2011;TAN *et al.,* 2003). Assim que a peça é completa, a câmara é resfriada vagarosamente para maximizar

a cristalização polimérica, visando aumentar sua resistência mecânica (RAGHUNATH, PANDEY, 2007; SOE *et al.*, 2013).

O uso de um laser faz da sinterização uma das técnicas de maior resolução entre as técnicas de impressão 3D (Figura 19), permitindo a construção de peças com geometrias complexas (KIETZMANN; PITT; BERTHON, 2015).



Figura 18 - Representação esquemática da técnica de Sinterização.

Adicionalmente, essa técnica permite uma maior variedade de materiais, desde que estejam em pó, sendo possível utilizar vidro, metal, cerâmica, polímero e assim, pode ser adaptado para a produção de arcabouços (DUPIN *et al.*, 2012). Essa técnica também apresenta melhor produtividade, visto que não é necessária a construção de suportes porque o pó serve tanto como reagente quanto como suporte para o material construído (BUTSCHER *et al.*, 2011). Uma grande variedade de cargas, tal como sílica, alumínio, fibra de carbono, vidro podem ser incorporados ao pó de polímero visando modificar a aparência e as propriedades das peças impressas. Entretanto, conseguir uma dispersão homogênea entre a carga e a matriz não é trivial (STANSBURY; IDACAVAGE, 2015).



Figura 19 - Exemplo de arcabouço de PCL, produzidos por SLS, comparando o *design* computacional e o arcabouço impresso. Fonte: HOLLISTER, 2005

3.4.2 Estereolitografia

Foi a primeira técnica de impressão 3D a ser desenvolvida e patenteada (em 1986, por Hull), e continua sendo a mais precisa entre todas as outras técnicas. Devido a seu pioneirismo como técnica de impressão, a primeira impressora 3D a ser comercializada foi a estereolitográfica (LIN *et al.*, 2013). Logo, essa técnica foi amplamente utilizada na área de engenharia tecidual para fabricação de arcabouços (GITTARD; NARAYAN, 2010; SELIMIS *et al.*, 2015).

O princípio da estereolitografia é baseado na fotopolimerização de monômeros vinílicos, que é ativada pela decomposição de fotoiniciadores em radicais livres quando expostos à radiação UV ou luz visível (COOKE *et al.*, 2003; FISHER *et al.*, 2002; LIN *et al.*, 2013; MAPILI *et al.*, 2005). Radiação UV varre e solidifica regiões correspondentes às seções transversais do objeto final, construindo o objeto uma microcamada de cada vez (Figura 20). Depois que uma camada é irradiada e curada com a radiação UV, o elevador desce o comprimento de uma camada (aproximadamente 0,05 mm a 15 mm), e o processo é repetido sobre uma nova camada líquida (MELCHELS; FEIJEN; GRIJPMA, 2010).



Figura 20 - Esquemática da técnica de estereolitografia.

Depois que o processo é finalizado, o objeto é lavado para retirar o excesso de resina. O artefato obtido não apresenta conversão dos grupos reativos completa e uma pós-cura com UV pode ser realizada para aumentar as propriedades mecânicas da estrutura (MELCHELS; FEIJEN; GRIJPMA, 2010).

É uma técnica bastante usada para produzir arcabouços poliméricos. Entretanto, a maioria dos fotoiniciadores é insolúvel em água e precisam ser dissolvidos em solventes orgânicos, o que os torna tóxicos para células. Soma-se a isso o risco de gerar quebras na dupla-hélice de DNA, devido ao uso de radiação UV (IKEHATA *et al.*, 2011). Assim, não é aconselhável realizar a impressão das células ao mesmo tempo em que a impressão do arcabouço e as células são sedimentadas ao arcabouço depois da sua fabricação (LIN *et al.*, 2013).

Para contornar esses problemas e realizar a impressão simultânea de células, é preciso: (i) utilizar luz visível, (ii) que o fotoiniciador seja sensível à luz visível, eficiente e solúvel em água, mas não pode ser citotóxico, (iii) conseguir uma suspensão uniforme das células na solução monômero/iniciador, (iv) que o material do arcabouço seja hidrofílico e que não seja citotóxico para manter a viabilidade celular após a sedimentação. Hidrogéis são muito usados por serem capazes de reter água e por apresentarem propriedades que mimetizam a dos tecidos vivos (VLIERBERGHE *et al.,* 2011).

Este método é um dos mais promissores para fabricação de arcabouços, pois permite fabricar objetos com uma precisão de 20 µm, enquanto que outras técnicas permitem detalhes de 50-200 µm (Figura 21). Entretanto, é uma técnica que não

permite uma grande variedade de materiais e nem que mais de uma resina seja usada ao mesmo tempo (MELCHELS; FEIJEN; GRIJPMA, 2010).



Figura 21 - Precisão de micrômetros conseguida por estereolitografia (a) 5mm, (b) 1mm, (c) 500 μm , (d) 100 μm Fonte: LIN *et al.*, 2013

3.4.3. Filamento fundido

Neste processo, o material é fundido, extrusado e depositado em uma mesa, camada por camada. A cabeça de extrusão e a mesa se movem nos eixos x, y e z, permitindo assim que o material seja depositado em qualquer posição (Figura 22). Com o resfriamento do material, ele culmina por se solidificar sozinho, assim que é extrusado, não se fazendo necessária a utilização de uma fonte de luz (SHOR *et al.*, 2007).





O fato de usarem-se filamentos reduz o tempo de residência no compartimento de aquecimento, o que permite uma deposição contínua e rápida, o que é essencial para uma produção comercial (ZEIN *et al.*, 2002).

Essa técnica apresenta certas limitações a respeito dos materiais que podem ser utilizados já que poucos polímeros apresentam as propriedades térmicas e reológicas para serem processados. PLA e ABS são os mais usados (POSTIGLIONE *et al.*, 2015).

É possível que ocorra uma orientação das cadeias poliméricas durante a extrusão do filamento fundido e, se esse for o caso, o material produzido apresentará propriedades estruturais únicas que excedem as propriedades de um objeto feito com o mesmo material, mas por qualquer outra técnica, como por exemplo, moldagem por compressão (POSTIGLIONE *et al.*, 2015).Trabalhos rcentos mostraram que é possível trabalhar com outras misturas poliméricas e até polímeros commodities reciclados (HUNT *et al.*, 2015).

Além de se controlar a arquitetura do arcabouço através do *design*, é possível variar parâmetros como a velocidade de deposição; quanto maior a velocidade, menor o diâmetro do filamento e maior a porosidade (Figura 23). Tal controle é importante, pois, como foi dito anteriormente, a porosidade influencia diretamente nas propriedades do arcabouço, como no módulo elástico e na sua cinética de degradação (MORONI; WIJN; BLITTERSWIJK, 2006).



Figura 23 - Efeito da velocidade de deposição na porosidade do arcabouço. Fonte: MORONI *et al.*, 2006

A técnica de filamento fundido se encaixa na realidade dos laboratórios de pesquisa brasileiros por apresentar uma boa relação custo/benefício na produção de objetos 3D, com resolução considerável; o equipamento em si é mais barato em comparação com os outros supracitados, sua manutenção e reposição é fácil e, em alguns casos, a própria impressora pode ser usada para produzir as peças de reposição, diminuindo o custo, e a impressora gasta menos energia por se tratar de uma máquina simples (POSTIGLIONE *et al.*, 2015).

Além disso, o que faz dessa técnica de prototipagem rápida tão atraente é a possibilidade de imprimir objetos com sensores embutidos e/ou funcionalidades elétricas de uma forma fácil. Porém, para tal é preciso realizar uma etapa extra; produzir filamentos sólidos de compósitos ou de nanocompósitos para serem fundidos e extrusados pela impressora, o que aumenta a complexidade, além de encarecer o processo (POSTIGLIONE *et al.*, 2015).

3.4.4. Evaporação de solvente

Essa técnica foi desenvolvida como uma estratégia de baixo custo para superar as limitações da técnica de filamento fundido. Ela consiste na deposição aditiva de camadas de material diretamente de uma solução feita em um solvente volátil (Figura 24). Assim, ela apresenta um potencial gigantesco nas áreas de microeletrônica e engenharia biomédica, uma vez que permite a fabricação direta de compósitos e nanocompósitos versáteis a um baixo custo (POSTIGLIONE *et al.*, 2015).



Figura 24 - Representação esquemática do processo de impressão por evaporação de solvente

O solvente precisa ser volátil para garantir a sua evaporação durante a deposição e, consequentemente, um aumento na viscosidade do material e a rápida formação de uma microestrutura 3D rígida (SERRA; PLANELL; NAVARRO, 2013).

A viscosidade da solução é um parâmetro importante, uma vez que, ela está inversamente relacionada com a fluidez; se a viscosidade for muito alta, existe o risco de causar entupimento da cabeça de impressão, mas se a mesma for muito

baixa, a evaporação de solvente será lenta e a estrutura 3D corre o risco de colapsar. Assim, é importante caracterizar o comportamento reológico da solução em diferentes taxas de cisalhamento (Figura 25) para se certificar de que em nenhum momento do processo a viscosidade ultrapasse esses valores extremos e comprometa a técnica (GUO *et al.*, 2013).

Outro cuidado importante a se tomar com essa técnica é alcançar uma dispersão homogênea da carga no polímero; se houver aglomeração, perde-se o efeito nano e pode causar entupimento da cabeça de impressão, prejudicando o processo (POSTIGLIONE *et al.,* 2015).



Figura 25 - Caracterização das soluções poliméricas a base de PLA com nanotubos de carbono. Fonte: GUO *et al.*, 2013

Serra e colaboradores (2013) produziram arcabouços de PLA/PEG como matriz polimérica e partículas de cerâmica G5 como a fase inorgânica, utilizando essa técnica. PEG foi utilizado como plastificante para abaixar a Tg do material e facilitar o seu processamento. Os arcabouços obtidos possuíam filamentos mais finos do que o diâmetro de outros arcabouços obtidos por outras técnicas e esse fato foi devido, principalmente, à viscosidade da solução utilizada e à evaporação do solvente, que acontece após a deposição dos filamentos. Tal efeito é desejável, pois gera arcabouços de maior resolução, aumentando a área de contato e a sua interação com o meio biológico. Na fabricação de arcabouços por técnica de filamento fundido, não ocorre o efeito de encolhimento dos filamentos depositados de forma significativa.

3.4.5 Impressão 3D por aglutinação por jato de tinta

Fabricação de objetos 3D pela deposição de um *binder* líquido em uma camada de pó (Figura 26) (BERGMANN *et al.*, 2010; VAEZI; CHUA, 2011). Como quase todos os materiais se encontram no estado sólido ou líquido, essa técnica permite que seja utilizada uma grande variedade de materiais, o que já é um grande avanço em comparação com as outras técnicas de manufatura aditiva (BOLAND *et al.*, 2006; CHIA; WU, 2015; NAKAMURA *et al.*, 2005). CHIA; WU, 2015).

Após a impressão de uma camada, ela deve ser aquecida para secar o *binder* e evitar que ele se espalhe entre as camadas. Esse processo é repetido, camada por camada, até o objeto estar completo. Mas mesmo assim pode sobrar um resíduo, o que pode ser prejudicial, principalmente para a área de biomateriais (BOSE; VAHABZADEH; BANDYOPADHYAY, 2013). Para imprimir arcabouços poliméricos, o *binder* usado é um solvente; o polímero é dissolvido, mas, assim que o solvente evapora, o polímero reprecipita para formar estruturas sólidas (LEE *et al.*, 2005; WU *et al.*, 1996).



Figura 26 - Representação da impressora 3D por aglutinação por jato de tinta.

Segundo Asadi-eydivand e colaboradores (2015), apesar do potencial massivo da fabricação de arcabouços poliméricos com poros no tamanho micro, na prática a maioria dos arcabouços produzidos com sucesso possuem poros maiores do que 500 µm. Além do tamanho dos poros, outro fator limitante é a necessidade da utilização de um solvente orgânico para solubilização dos polímeros que pode vir a danificar a cabeça de impressão (LEE *et al.,* 2005) e pode deixar resíduos no objeto impresso (COX *et al.,* 2015). Para contornar esse problema, Lam e colaboradores (2002) criaram arcabouços poliméricos de amido, utilizando água destilada como o *binder*.

Uma possibilidade para contornar o primeiro problema é a impressão de moldes que possuam cavidades nas quais o material final é vertido (Figura 27). Depois, é preciso remover o molde, dissolvendo-o em um material que não dissolva o material do arcabouço (CHU *et al.,* 2002; LEE *et al.,* 2005; LIU *et al.,* 2008; TABOAS *et al.,* 2003; TAMJID; SIMCHI, 2015).



Figura 27 - Molde impresso 3D e arcabouço de PLGA obtido através dele. Fonte: LEE *et al.,* 2005.

Ao final do processo de impressão, é necessário realizar mais uma etapa, a retirada do pó em excesso do objeto (Figura 28), utilizando ar comprimido (COX *et al.*, 2015).



Figura 28 - Demonstração da importância da retirada do pó em excesso (a) estrutura recoberta pelo pó; (b) estrutura após a etapa de remoção do pó. Fonte: COX *et al.,* 2015

4. METODOLOGIA

4.1. MATERIAIS

Para realização deste trabalho foram utilizados os materiais descritos a seguir:

- Poli(ácido lático) adquirida na forma de filamento da RoHS- PLA 3D
- Poli(álcool vinílico) adquirida da VETEC (Química fina) com grau de hidrólise entre 86,5 e 89,5%
- Óxido de titânio adquirida da Sigma Aldrich contendo um tamanho de partícula superior a 100 nm.
- Óxido de zinco adquirida da Sigma Aldrich contendo um tamanho superior a partícula100 nm.
- Óxido de zircônia adquirido da Sigma Aldrich contendo um tamanho de partícula superior a 100 nm.

4.2. EQUIPAMENTOS

No desenvolvimento deste trabalho foram utilizados os seguintes equipamentos:

- Balança eletrônica AV264P, Okaus Corporation, Brasil;
- Placa de agitação magnética Fisaton, modelo 752, Brasil;
- Difratômetro de raios X Rigaku Miniflex II, Japão;
- Difratômetro de raios X Lab X XRD 6100, Schimadzu;
- Analisador Termogravimétrico TA Instruments TGA Q500 V6.7 Build 203, EUA;
- Calorímetro diferencial de varredura, Rigaku, modelo TAS 100, EUA;
- Espectrômetro de RMN Varian Mercury VX, 300 MHz, EUA;

- Espectrômetro de baixo campo Maran Ultra 23 MHz, Oxford;
- Estufa microprocessada Marte Científica, Modelo 40L, com precisão de +/-2,5 °C, Brasil;
- FTIR Perkin Elmer Spectrum Versão: 10.4.2 Modelo: Frontier FT-IR/FIR, Reino Unido;
- Impressora KOIOS modelo 3D para filamento fundido do tipo Grabber, Brasil;
- Microscópio eletrônico de varredura da marca HITACHI, modelo TM3000,

EUA;

 Ultrassom Eco Sonics Ultronique QR500, Potência 500W, Frequência 20 KHz microponta de titânio 4 mm de diâmetro, Brasil.

4.3. MÉTODOS

A metodologia foi dividida em duas etapas principais. A primeira delas pautouse na obtenção e caracterização de nanocompósitos de PVA com óxidos que apresentam capacidade osteoindutoras a fim de avaliar os sistemas mais promissores para empenharem o papel de cobertura dos arcabouços de regeneração. A segunda etapa, por sua vez, consistiu em avaliar a influência da cobertura destes nanocompósitos à base de PVA nas propriedades de arcabouços de PLA com três diferentes graus de porosidades.

<u>1ª Etapa</u>

Na primeira etapa, foram obtidos nanocompósitos de PVA via solução aquosa com três diferentes óxidos (óxido de zinco, óxido de zircônio e dióxido de titânio) nas concentrações de 0,1% e 0,2% m/m. Para tal, o PVA com 88% de grau de hidrólise foi solubilizado na metade do volume de água necessário para obtenção dos

sistemas a 7% m/v e mantido sobre agitação magnética por 1,5h na temperatura de 80°C; após esta etapa, as soluções foram mantidas em repouso por 24 h.

Transcorridas as 24 h, as nanopartículas de cada grupo foram adicionadas na outra metade da água deionizada e dispersas com auxílio de ultrassom de ponta com a potência de 99%, por 1 minuto, aplicando um pulso de intensidade 3 a cada 15 segundos. A suspensão de nanopartículas foi, então, vertida nas soluções de PVA e essa mistura permaneceu em agitação à temperatura ambiente por 1,5 h.

Uma vez obtidas as soluções filmogênicas de cada grupo, as mesmas foram vertidas em placas de petri plásticas e colocadas em estufa a 60°C por 4 dias para a completa remoção do solvente. Finalizado esse processo, esses sistemas foram analisados pelas técnicas de: difração de raios X, análise termogravimétrica, infravermelho por transformada de Fourier, ressonância magnética nuclear no domínio do tempo, avaliação de deposição de cálcio, a fim de determinar as partículas e concentrações mais promissoras dos óxidos escolhidos.

Nomenclatura da amostra	Nanopartícula dispersa na matriz de PVA	% da nanopartículas(m/m)
PVA puro	-	-
PVA + 0,1% TiO ₂	Dióxido de titânio (TiO ₂)	0,1
PVA + 0,1% ZrO ₂	Óxido de zircônio (ZrO ₂)	0,1
PVA + 0,1% ZnO	Óxido de zinco (ZnO)	0,1
PVA + 0,2% TiO ₂	Dióxido de titânio (TiO ₂)	0,2
PVA + 0,2% ZrO ₂	Óxido de zircônio (ZrO ₂)	0,2
PVA + 0,2% ZnO	Óxido de zinco (ZnO)	0,2

Tabela	1 -	Sistemas	de F	PVA	/óxidc	os ol	btidos

2^a Etapa

Foram impressos, em uma impressora de filamento fundido, a partir de um filamento de PLA comercial (RoHS- PLA 3D *filament*), blocos porosos, modelados de forma a conseguir um grau de porosidade variável (de 30% a 50%). O design do preenchimento é do tipo *honeycomb*, pelo fatiador Slic3r, conseguindo assim a

interconectividade entre os poros, necessária para que ocorra penetração e difusão de nutrientes em um arcabouço.

A impressão dos arcabouços foi realizada em uma impressora KOIOS 3D, com os seguintes parâmetros de impressão: velocidade de 4800 mm/min da cabeça de impressão, taxa de alimentação do filamento de 100 mm/min, temperatura de extrusão de 200°C e aquecimento da mesa em 60°C.

Esses blocos foram recobertos com as soluções de nanocompósitos de PVA escolhido na etapa 1. Depois da secagem em estufa a 60°C por quatro dias, os mesmos tiveram o recobrimento realizado uma segunda vez para garantir uma completa cobertura da peça. Findo todo esse processo, esses arcabouços foram analisados pelas técnicas: calorimetria diferencial de varredura (DSC), análise termogravimétrica (TGA), infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), microscopia eletrônica de varredura (MEV), ensaio mecânico de compressão e avaliação da deposição de cálcio após imersão em fluído biológico simulado.

4.4.CARACTERIZAÇÕES

4.4.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A análise de MEV foi realizada com o objetivo de identificar a morfologia dos arcabouços impressos antes e após sua cobertura com PVA. Para tal, fragmentos dos arcabouços foram fixados na superfície de *stubs* metálicos com auxílio de uma fita de carbono, devido à sua superfície adesiva e condutora. Os *stubs* contendo as amostras foram levados ao equipamento Sputer Coater da BAL-TEC, modelo SDC 005, sendo recobertos com uma camada de aproximadamente 20nm de ouro, a fim de tornar as superfícies condutoras, possibilitando a obtenção das imagens. As imagens das amostras foram obtidas a partir do uso do detector de elétrons secundários (ETD) e foi utilizada uma diferença de potencial 25 kV para a aceleração dos elétrons.

4.4.2 Difração de Raios X (DRX)

A técnica de DRX foi utilizada para verificar as modificações estruturais causadas na matriz de PVA pela adição das partículas. A obtenção dos difratogramas deu-se a partir de um difratômetro de raios X operado a 40 kV e 30 mA, 0,05°/s, em temperatura ambiente. Como fonte de raios-X, utilizou-se a radiação CuK α que apresenta 0,15418 nm como comprimento de onda, cujo intervalo de análise compreendeu de 2 θ = 2 a 60°. Após a obtenção dos difratogramas, a cristalinidade dos sistemas a base de PVA foi determinada através do método de Ruland (BUNN, 1948).

4.4.3 Análise de Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

As análises de FTIR foram efetuadas na faixa de número de onda de 400 cm⁻¹ a 4000 cm⁻¹, a fim de avaliar a possibilidade de interação das nanopartículas com o polímero do recobrimento e, posteriormente, para acompanhar a deposição de hidroxiapatita nessas estruturas ao realizar ensaio em fluido biológico. Para tal, os arcabouços foram analisados a 25°C.

4.4.4 Análise Termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica foi utilizada a fim de delimitar a faixa de análise da DSC. Medidas de TGA foram obtidas através do equipamento Analisador Termogravimétrico TGA Q-500 (TA Instruments), no intervalo de 40°C a 700°C e taxa de aquecimento de 10°C/min sob o fluxo de N₂ de 50 ml/min.

4.4.5 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

As temperaturas de transições vítreas dos constituintes do arcabouço (PLA e PVA) e a temperatura de fusão cristalina do PLA. Essa análise também foi importante para determinar a cristalinidade desses materiais, uma vez que este parâmetro altera a taxa de biodegradação do arcabouço. As análises foram realizadas no equipamento TA-Instruments Q.1000 sob o fluxo de N₂ de 50 ml/min., com a taxa de aquecimento de 5 °C/min, na faixa de 0 °C à 100 °C. Para realização

destas análises foram pesados em balança analítica 10 mg (± 0,2 mg) de cada arcabouços recoberto.

Apenas foi realizado um aquecimento, pois, após o primeiro aquecimento com a fusão de ambos os materiais os sistemas se tornariam uma mistura de PLA com PVA, perdendo a estrutura e a conformação em forma de revestimento.

O grau de cristalinidade (X_c) dos arcabouços puros e dos recobertos foi calculado pela Equação 1, pela obtenção da entalpia de cristalização (Δ H_c), entalpia de fusão (Δ H_f) e através da entalpia de fusão cristalina do PLA assumindo como 100% cristalino, Δ H_{f100%} = 94,0 J/g (STOCLET; SEGUELA; LEFEBVRE, 2011). O PLA foi escolhido porque ele é o componente em massa predominante do arcabouço, enquanto que a cobertura representava apenas 2% do sistema geral, podendo assim ser desconsiderada nessa análise.

$$X_{c}(\%) = \frac{\Delta H_{f} - \sum \Delta H_{c}}{W_{PLA} \times \Delta H_{f100\%}} \times 100$$
(Eq. 1)

Onde,

Xc (%) = grau de cristalinidade;

 ΔH_f = entalpia de fusão do PLA na amostra, em J/g;

 $\Delta H_{f100\%}$ = entalpia de fusão do PLA hipoteticamente 100% cristalino, em J/g;

 ΔH_c = entalpia de cristalização do PLA na amostra, em J/g;

W_{PLA} = fração do PLA na amostra obtido pela média da análise de TGA, em %;

Os valores das entalpias e das temperaturas foram obtidos pelo software TA7000 e os gráficos foram gerados pelo software Origin 8.0.

4.4.6 Relaxometria por Ressonância Magnética Nuclear no domínio do tempo (RMN)

As análises de RMN no domínio do tempo foram efetuadas por meio da determinação do tempo de relaxação longitudinal ou spin-rede (T_1H), empregando a sequência de pulso de inversão-recuperação no equipamento de RMN Resonance Maran Ultra 0,54 T para RMN de baixo campo. As amostras foram colocadas em um tubo de 18 mm, sendo este colocado na sonda. A frequência de observação do núcleo de ¹H foi de 23 MHz e a faixa de intervalo do tempo de espera entre os pulsos foi de p180x - τ - p90x e variou de 0,01 – 10.000 ms com intervalo de reciclo de 3 s.

A realização da análise da relaxometria dos sistemas teve como principal intuito avaliar a dinâmica molecular dos sistemas obtidos a fim de estabelecer os sistemas com melhores dispersões das nanopartículas na cobertura dos arcabouços.

4.4.7 Teste de deposição de Cálcio e Fosfato na superfície dos arcabouços

As amostras foram armazenadas em contato com fluído biológico simulado a 37°C a fim de avaliar a deposição de cálcio e fosfato na superfície das mesmas. Após a inclusão neste meio, após 30 dias, foi retirada uma amostra e ela foi analisada pela técnica de EDX para determinar a existência e quantidade desta deposição.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. CARACTERIZAÇÃO DOS NANOCOMPÓSITOS DE PVA/ÓXIDOS METÁLICOS

5.1.1 Difração de Raios X (DRX)

O padrão de difração do PVA foi analisado com base na estrutura monoclínica para a célula unitária (a=0,781nm; b=0,252nm; c=0,551nm e β =91, 42°) descrito por BUNN (1948) e posteriormente relatado em diversos estudos (ASSENDERT; WINDLE, 1998; NASAR; KHAN; KHALIL, 2009).

Os filmes foram analisados por DRX a fim de avaliar o efeito da inserção das nanoestruturas sobre a matriz polimérica (Figuras 29, 30 e 31). Com base no resultado do polímero puro, percebe-se que ele apresenta picos cristalinos, característicos de um sistema com baixo grau de cristalinidade, aproximadamente centrados em $2\theta = 19,5^{\circ}$, e $2\theta = 40,8^{\circ}$ e um ombro menos intenso centrado em $22,2^{\circ}$. Esse perfil do difratograma obtido indica a presença típica de uma estrutura semicristalina e se assemelha a outros resultados já descritos previamente na literatura, por ser majoritariamente atático, o que reflete no seu baixo grau de cristalinidade (Tabela 2).



Figura 29 - DRX dos nanocompósitos de PVA com óxido de titânio, em comparação com o filme de PVA puro



Figura 30 - DRX dos nanocompósitos de PVA com óxido de zinco, em comparação com o filme de PVA puro



Figura 31 - DRX dos nanocompósitos de PVA com óxido de zircônia, em comparação com o filme de PVA puro

Os sistemas dos nanocompósitos, tanto de 0,1% quanto de 0,2%, mantiveram o mesmo comportamento do polímero puro, apresentando os mesmos picos, com intensidade e largura bastante semelhantes entre si. Entretanto, é possível observar que a adição da nanocarga provoca um deslocamento do pico centrado em $2\theta = 19,5^{\circ}$; a concentração de 0,1% movimenta este pico para ângulos menores, enquanto a de 0,2% causa um deslocamento para ângulos maiores, indicando que a presença destas partículas foi capaz de causar alterações nos planos cristalinos do PVA.

No primeiro caso (0,1%), quando inseridas na matriz polimérica, as nanopartículas podem ter atuado como agente nucleantes, favorecendo assim a organização estrutural do polímero, o que acarreta na formação de um número maior de cristais de menor tamanho.

Entretanto, quando inseridas na matriz polimérica em uma concentração mais elevada (0,2%), os valores de 20 aumentam, o que indica a formação de cristais de tamanhos maiores, o que pode ter sido causado pela má dispersão das nanocargas na matriz poliméricas, prejudicando a interação entre as nanoestruturas e o PVA, formando clusters. Assim, as nanopartículas possivelmente elevam a distância entre as lamelas cristalinas devido à inclusão de pequenos aglomerados de carga por entre a estrutura cristalina do PVA. Esse efeito já foi observado previamente no trabalho de Hemalatha *et al.*, (2014), ao dispersar nanopartículas de ZnO, em concentrações altas, variando de 5% a 20%, em uma matriz de PVA.

Amostra	X _c (%)
PVA puro	11
PVA + 0,1% TiO ₂	16
PVA + 0,2% TiO ₂	9
PVA + 0,1% ZnO	12
PVA + 0,2% ZnO	10
PVA + 0,1% ZrO ₂	14
PVA + 0,2% ZrO ₂	8

Tabela 2- Grau de cristalinidade das amostras baseadas nos difratogramas

No que tange o grau de cristalinidade dos sistemas, pode-se determinar que a inclusão dos óxidos na concentração de 0,1% nos sistemas levou ao aumento do grau de cristalinidade, o que está interligado a possível ação nucleante destas nanopartículas. Em contrapartida, a adição destas partículas na concentração de 0,2% levou a uma queda da cristalinidade do PVA, possivelmente em decorrência de sua aglomeração, que levou a formação de clusters que podem atuar como um empecilho físico a organização das cadeiais. Ahmad *et al.* (2014) relataram um efeito similar em seus sistemas foi possível avaliar que, quando a concentração de TiO₂ é alta, as nanopartículas interferem e atrapalham o empacotamento das cadeias poliméricas, causando assim uma diminuição na cristalinidade do nanocompósito.

5.1.2 Análise de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

O FTIR do PVA apresenta todas as bandas características da estrutura deste polímero conforme indicado na Tabela 3. Com base nos espectros de FTIR obtidos para o PVA puro e cada um de seus nanocompósitos (Figuras 32-34), é possível estabelecer que não ocorreu nenhuma alteração na forma ou no posicionamento das bandas referentes à matriz de PVA. Este comportamento indica que possivelmente a interação entre a matriz polimérica e as nanopartículas prevalece de maneira física, ou que a interação química entre as fases se dá através de forças de baixa intensidade, de forma que a técnica não consegue detectar.

Amostra	Bandas (cm ⁻¹)	
0 – H	3450	
С – Н	2930	
C ≡ C	2050	
Aldeído ou cetona insaturado	1705	
C = C	1640	
C ≡ C conjugado	1585	
- CH ₂ –	1450	
-C-O-H	1080	

Tabela 3- Assinalamento das bandas do infravermelho referentes ao PVA

Todavia, deve-se destacar que outra possibilidade para inalteração das bandas reside no fato de que no presente estudo as partículas de óxidos metálicos foram utilizadas em concentrações bem reduzidas (0,1% e 0,2%). A diminuta concentração desses óxidos nos sistemas pode ter ficado aquém do limite de detecção do equipamento.



Figura 32 - FTIR dos nanocompósitos de PVA com óxido de titânio



Figura 33 - FTIR dos nanocompósitos de PVA com óxido de Zinco



Figura 34 - FTIR dos nanocompósitos de PVA com óxido de Zircônia

5.1.3 Análise Termogravimétrica (TGA)

Essa análise teve como objetivo aferir a influência da incorporação dos óxidos metálicos sobre a estabilidade térmica do material. Os termogramas encontram-se nas Figuras 35-37 a seguir.



Figura 35 - Termogramas dos nanocompósitos de PVA com óxido de titânio



Figura 36 - Termograma dos nanocompósitos de PVA com óxido de Zinco



Figura 37 - Termograma dos nanocompósitos de PVA com óxido de Zircônia

Com base nos resultados obtidos, pode-se afirmar que a degradação da matriz de PVA apresenta três eventos de perda principais, como descrito na literatura (HOLLAND; HAY, 2001). O primeiro deles ocorre a cerca de 100°C e relaciona-se com a saída de água remanescente no sistema. A maior parte de perda de massa acontece por volta de 300°C, devido à saída do grupo lateral acetato, seguida de uma terceira perda de massa, entre 350°C e 450°C, correlacionando-se com a degradação da rede polimérica de PVA propriamente dita (ASSENDERT; WINDLE, 1998). O segundo evento de perda foi considerado como temperatura de início de degradação real para o cálculo da temperatura de *onset*, pois corresponde ao momento onde ocorre de fato a degradação da matriz polimérica (Tabela 4).

Amostras	T _{onset} (°C)	T _{peak} (°C)	Resíduo (%)
PVA	301	334/440	5%
PVA + 0,1% TiO ₂	301	333/440	5%
PVA + 0,2% TiO ₂	302	335/441	5%
PVA + 0,1% ZnO	302	333/442	5%
PVA + 0,2% ZnO	299	333/440	5%
PVA + 0,1% ZrO ₂	300	334/441	5%
PVA + 0,2% ZrO ₂	299	333/439	5%

Tabela 4 – Parâmetros do TGA dos filmes de nanocompósitos

Os resultados dos nanocompósitos mostrados da Tabela 4 indicam que a presença dos óxidos na matriz de PVA não foi capaz de alterar a resistência térmica dos sistemas obtidos sob a perspectiva da resistência térmica do material, uma vez que os valores de T_{onset} para todas as amostras permaneceram constantes, num valor em torno de $T_{onset} = (301 \pm 2)^{\circ}$ C. De maneira similar, não houve diferença entre os valores de T_{peak} entre os filmes de PVA puro e os nanocompósitos. Entretanto, observando os termogramas exibidos anteriormente, é possível destacar que a presença destas nanopartículas alterou grandemente o percentual de água remanescente ou adsorvido nos sistemas.

Os resultados obtidos nessa Dissertação contradizem a maioria dos trabalhos estudados (AHMAD; DESHMUKH; HABIB, 2014; GONG *et al.*, 2014; MOHANAPRIYA *et al.*, 2016; RADOICIC *et al.*, 2012), que mostram que a incorporação de nanopartículas na matriz polimérica causa um aumento na estabilidade térmica do material, pois diminui sua mobilidade molecular e limita o fluxo de gases durante o processo degradativo. Contudo, o comportamento exibido pode ser atribuído a natureza das partículas avaliadas, uma vez que, os átomos metálicos destas partículas podem atuar como aceleradores do processo degradativo de algumas matrizes (MARRAS *et al.*, 2008; FUKUSHIMA; TABUANI; CAMINO, 2009; SILVA *et al.*, 2016).

5.1.4 Relaxometria por Ressonância Magnética Nuclear no domínio do tempo (RMN)

O estudo da Relaxometria por ressonância magnética nuclear pelo domínio do tempo foi realizado com o intuito de avaliar a dinâmica molecular dos nanocompósitos à base de PVA com óxidos de zinco, zircônia e titânio. Após a realização deste ensaio, foi calculado o tempo de relaxação (T₁H) após o decaimento exponencial (Tabela 5) e foram obtidas as curvas de domínios exibidas na Figura 38.



Figura 38 - Curva de domínio dos sistemas a base de PVA e óxidos metálicos

Observando a Figura 38, pode-se notar que ambas as concentrações de nanopartículas (0,1 e 0,2%) alteram o tempo de relaxação T₁H em comparação com o filme de PVA puro, mas seus efeitos são opostos; enquanto as menores concentrações elevam o tempo de relaxação, as maiores causam sua redução.

No primeiro caso (0,1%), quando inseridas na matriz polimérica, as nanopartículas culminam em um maior valor de T_1H , o que se traduz em um aumento da rigidez molecular do material, uma vez que as nanopartículas conseguem uma melhor dispersão no polímero, conseguindo assim uma melhor interação entre a nanoestrutura e a matriz polimérica.

Quando inseridas na matriz polimérica em uma concentração maior (0,2%), os valores de T₁H caíram, devido à aglomeração das nanopartículas, formando um cluster, o que pode ter ocasionado uma separação de fases, o que provoca um afastamento das cadeias do polímero e um aumento do volume livre, o que acarreta no aumento da mobilidade molecular. Explicando, assim, como o aumento da quantidade de nanopartículas repercute em uma diminuição no tempo de relaxação, também descrito na literatura (SILVA *et al.*, 2016; SOARES *et al.*, 2015).

Amostra	T₁H (ms)
PVA puro	312
PVA + 0,1% TiO ₂	895
PVA + 0,2% TiO ₂	307
PVA + 0,1% ZnO	341
PVA + 0,2% ZnO	150
PVA + 0,1% ZrO ₂	1190
PVA + 0,2% ZrO ₂	945

Tabela 5 – Tempos de relaxação spin-rede dos sistemas PVA/Óxidos metálicos

5.1.5 Teste de deposição de Cálcio e Fosfato na superfície dos arcabouços

A bioatividade dos arcabouços foi avaliada a partir da imersão dos mesmos em SBF (simulated body fluid – Fluido biológico simulado), uma solução com concentrações de íons que simula o plasma sanguíneo muito utilizado para mensurar a capacidade de atração à deposição de sais de fosfato como a hidroxipatita (TADASHI; TAKADAMA, 2006). Esse ensaio é largamente utilizado com a finalidade de avaliar a capacidade de osteoindução de materiais, visando aplicação como arcabouços ósseos. A adição de óxidos metálicos sobre estruturas implantares ou materiais poliméricos para regeneração óssea demonstra atividade de deposição de sais à base de cálcio e fosfato no organismo humano, sobretudo na forma de hidroxiapatita. Tal comportamento se deve, possivelmente, a presença da cobertura de PVA contendo óxidos metálicos; nestes sistemas, tanto as nanopartículas quanto a matriz polimérica apresentam-se ricos em terminais OH que apresentam uma carga parcial negativa. Tais cargas tendem a melhorar a deposição desses sais na superfície do material.

Mas quando se aumenta a concentração dos óxidos, não se aumenta a efetividade, como seria o esperado (Tabela 6). Quando a nanocarga se encontra bem dispersa na matriz polimérica, os óxidos se encontram separados uns dos outros e assim existe uma área superficial bem grande para atrair e reagir com o fosfato de cálcio. Porém, quando se aumenta a concentração para 0,2%, a dispersão é comprometida e clusters são formados, ou seja, as hidroxilas são perdidas na interação carga-carga, e a área superficial é reduzida.

A bioatividade no que tange a deposição de cálcio é de grande importância para arcabouços ósseos, pois a deposição de sais a base de cálcio e fosfato pode representar o mecanismo inicial de osteointegração e serve como sinalização biológica para os osteoblastos e osteoclastos, responsáveis pelo reparo da área lesada.

Sistemas	Ca (%)	P (%)
PLA	0	0
PLA + PVA	1,1	0,6
Titânio 0,1%	12,6	5,6
Zinco 0,1%	4,8	2,1
Zircônia 0,1%	7,6	3,5
Titânio 0,2%	15,4	6,3
Zinco 0,2%	3,6	1,8
Zircônia 0,2%	8,5	4,2

Tabela 6- Deposição de sais de Cálcio e Fosfato nos sistemas de PVA/óxidos metálicos

5.1.CARACTERIZAÇÃO DOS ARCABOUÇOS RECOBERTOS COM NANOCOMPÓSITOS

5.2.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Com base nos resultados obtidos, pode-se observar o padrão poroso dos arcabouços impressos (Figuras 39-41), bem como avaliar que seu padrão de preenchimento correspondia ao formato *honeycomb*, caracterizado pela utilização de estruturas hexagonais similares ao formato casa de abelha.



Figura 39 - Imagens de MEV de arcabouços 30% de porosidade (a) puro, (b) 0,1% ZnO, (c) 0,1% de ZrO_2 , (d) 0,1%TiO₂



Figura 40 - Imagens de MEV de arcabouços 40% de porosidade (a) puro, (b) 0,1% ZnO, (c) 0,1% de ZrO_2 , (d) 0,1%TiO₂



Figura 41 - Imagens de MEV de arcabouços 50% de porosidade (a) puro, (b) 0,1% ZnO, (c) 0,1% de ZrO2, (d) 0,1%TiO2

Dentre os preenchimentos padrões que o software de modelagem oferece, o honeycomb foi o escolhido porque é o que possibilita um ganho maior de resistência mecânica, pois é uma estrutura *voronoica,* que por mais que não seja um voronoi tridimensional perfeito, ainda é mais resistente do que os outros *infill*s que seguem padrões com menores resistências.

O Voronoi é uma decomposição do espaço, um diagrama matemático formado a partir de pontos. O voronoi tem a capacidade de distribuir a energia mecânica de maneira homogênea por toda a estrutura da peça, aliviando as tensões em pontos específicos, conferindo assim uma maior resistência à resistência intrínseca do material.

Esses desenhos hexagonais seguem o preceito da biomimética, que é um ramo da ciência que se apropria de estruturas encontradas na natureza e de seus desenhos para atingir características específicas. No caso do *honeycomb*, assim como sugere seu nome, a inspiração do desenho vem dos favos de mel que as abelhas fabricam, mas este desenho também é encontrado espalhado pela natureza; a grande diferença é que muitas estruturas da natureza têm o voronoi gerado de maneira aleatória, mas os favos de mel seguem um padrão, uma conformação, como mostra a Figura 42.



Figura 42- Configuração voronoi (a) dos favos de mel e (b) aleatória

Outro fator importante evidenciado pelas imagens é o tamanho dos poros; com base nas eletromicrografias de cada grupo, é possível observar que o tamanho dos poros diminui, conforme se aumenta porcentagem do infill (50%-70%). O valor do tamanho de cada poro foi estimado a partir do uso do software de imagem IMAGE J e encontra-se listado na Tabela 7 a seguir.

Porosidade	Diâmetro do poro (mm)
50%	1,54
40%	1,06
30%	0,58

Tabela 7 – Diâmetro do poro x porosidade dos arcabouços obtidos

Os resultados obtidos para o tamanho dos poros são maiores que os presentes na literatura, que determinam que, para garantir uma boa penetração celular e osteogênese, o tamanho ideal de um poro deve variar de 100-400 µm (BOSE; VAHABZADEH; BANDYOPADHYAY, 2013). Um trabalho recente estudou o efeito do tamanho de poros (100, 200, 350 and 500 µm) em um arcabouço à base de polipropileno. Os resultados mostraram uma proliferação ótima de células MC3T3-E1 para os arcabouços com os poros de 200 e 350, enquanto que os arcabouços com poros com 500 não conseguiram sustentar células por mais de 7 dias (LEE *et al.*, 2010). Outro trabalho corroborou esse resultado, ressaltando que poros de 500 ou maiores são grandes demais para células interagirem (LIM; CHIAN; LEONG, 2010).

No que tange os arcabouços após a cobertura de PVA, pode-se observar que a partir do método proposto conseguiu-se recobrir as estruturas do arcabouço com a matriz polimérica hidrofílica, pois os arcabouços recobertos apresentam uma grande parte de seus poros recobertos e aparentam ser mais eletrondensos que os puros devido à adição dessa cobertura. Além disso, embora possa ser observada uma cobertura de grande parte da estrutura, pode-se determinar que a mesma não se deu de forma homogênea, uma vez que, deixou poros remanescentes. Isso se deve, possivelmente, à forma de obtenção da cobertura que se baseou na imersão da amostra em uma solução.

É possível também notar irregularidades e falhas nas camadas, e isso se deve ao fato da técnica de impressão 3D por filamento fundido não ser uma técnica tão precisa quanto, por exemplo, estereolitografia ou sinterização a laser seletivo.

5.2.2 Análise termogravimétrica (TGA)

Essa análise teve como objetivo aferir a influência da incorporação da cobertura do nanocompósito ao arcabouço impresso de PLA. Em todas as amostras, as curvas apresentaram apenas um processo de degradação, entre 300°C e 400°C, muito semelhante ao processo de degradação do PLA descrito na literatura, e isso provavelmente se deve pelo fato do PLA ser o componente majoritário dos sistemas obtidos. Entretanto, as Figuras 43-45 mostram que a adição da cobertura de PVA influencia negativamente nas propriedades térmicas do arcabouço de PLA. Tal comportamento pode estar relacionado com a menor resistência térmica do PVA, utilizado na cobertura dos arcabouços, que pode ter contribuído para reduzir a resistência térmica do material puro (Tabela 8).

Não foram encontrados na literatura outros sistemas em forma de arcabouços recobertos para comparar os resultados obtidos. Todavia, o presente resultado corrobora a pesquisa de Yeh *et al.*, (2008), que produziu misturas de PLA/PVA e avaliou a estabilidade térmica das mesmas, realizando análise de TGA do PVA puro, PLA puro e das misturas de ambos os polímeros em diversas concentrações. Os resultados obtidos demonstraram que a temperatura de *onset* do PVA é mais baixa que a do PLA puro, bem como determinou que a ordem decrescente de estabilidade térmica dos sistemas obtidos foi: PLA > PLA₈₀/PVA₂₀ > PLA₆₀/PVA₄₀ > PLA₄₀/PVA₆₀ > PLA₂₀/PVA₈₀ > PVA. Assim, com base nestes resultados pode-se ressaltar que a

presença de PVA no sistema compromete as propriedades térmicas da mistura PLA/PVA (YEH *et al.*, 2008).



Figura 43 - Termograma dos arcabouços 30% recobertos com nanocompósitos



Figura 44 - Termograma dos arcabouços 40% recobertos com nanocompósitos


Figura 45- Termograma dos arcabouços 50% recobertos com nanocompósitos

Tabela 8 – Parâmetros do TG	GA dos arcabouços
-----------------------------	-------------------

Amostra	T _{onset} (°C)	T _{peak} (°C)	Resíduo (%)
Arcabouço 30%	357	374	1
Arcabouço 30% + PVA 0,1% TiO ₂	341	361	1
Arcabouço 30% + PVA 0,1% ZnO	339	360	1
Arcabouço 30% + PVA 0,1% ZrO ₂	327	356	1
Arcabouço 40%	361	374	1
Arcabouço 40% + PVA 0,1% TiO ₂	345	363	1
Arcabouço 40% + PVA 0,1% ZnO	342	359	1
Arcabouço 40% + PVA 0,1% ZrO ₂	343	359	1
Arcabouço 50%	336	358	1
Arcabouço 50% + PVA 0,1% TiO ₂	322	349	1
Arcabouço 50% + PVA 0,1% ZnO	321	347	1
Arcabouço 50% + PVA 0,1% ZrO ₂	323	346	1

Com base no resultado dos arcabouços puros pode-se determinar que o sistema contendo 50% de porosidade apresentou resistência térmica inferior aos demais (30% e 40% de porosidade), tal comportamento pode decorrer da menor espessura das paredes dos poros que são impressas de espessura mais delgada a fim de conferir maior porosidade ao arcabouço, conforme evidenciado pela análise de MEV.

Comparando-se a resistência térmica dos arcabouços com mesma porosidade pode-se determinar que não há diferença significativa entre as diferentes partículas analisadas em nenhum dos sistemas propostos. Esse comportamento pode refletir a baixa concentração destes compostos, que representam 0,1% em massa da cobertura, que compõe um pequeno percentual da massa total do arcabouço. Assim, sua influência é provavelmente desprezada sob a perspectiva de resistência térmica dos sistemas.

5.2.3. Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

As análises de calorimetria diferencial de varredura (DSC) foram realizadas para os arcabouços recobertos e não recobertos a fim de se obter os valores das respectivas temperaturas de transição vítrea (T_g), temperaturas de fusão cristalina (T_m) e de calcular os graus de cristalinidades (X_c), para determinar como o processo de adição da cobertura influenciou nas transições térmicas dos arcabouços obtidos. Tendo por base que a maior parte do sistema era composto pelo PLA que conformava a base do arcabouço, as transições térmicas relativas a este polímero foram o foco da análise de DSC.

Segundo a Tabela 9, pode-se notar que as T_g s dos arcabouços puros de 30% e 50% encontram-se na faixa estabelecida na literatura para o PLA, que estabelece a $T_g = 58^{\circ}$ C. Os arcabouços recobertos apresentam uma única T_g , mas em valores mais elevados, na faixa de 58°C a 79°C (XIAO *et al.*, 2006), ou seja, apresentam uma Tg intermediária entre a Tg do PLA e a do PVA.

Abdal-Hay *et al.* (2015) também encontraram resultados semelhantes ao produzirem arcabouços de PLA por eletrofiação, recobertos por PVA; eles acreditam que o aparecimento de uma única T_g se deve ao fato de que houve uma boa interação entre o PLA e o PVA (ABDAL-HAY *et al.*, 2015). Assim, é possível que o resultado encontrado no presente trabalho indique que os polímeros apresentam boa compatibilidade entre si, conseguindo providenciar um sistema miscível.

Todavia, deve-se destacar que há a possibilidade de haver apenas uma T_g nos sistemas obtidos como decorrência da baixa massa de PVA, que pode ter se encontrado aquém da capacidade de detecção do DSC.

Observando as Figuras 46, 47 e 48, percebe-se que, após a T_g, existe um pico exotérmico e um endotérmico, referindo-se a cristalização e a fusão cristalina do material, respectivamente. A fusão cristalina acontece na faixa de 166°C a 171°C para todas as amostras, valores muitos semelhantes a temperatura de fusão cristalina (T_m) para o PLA descrito na literatura (ELAKKIYA *et al.*, 2012). Assim, é possível afirmar que a fusão observada se refere ao componente de PLA do sistema, enquanto que a fusão da cobertura de PVA não pôde ser observada dentro da faixa de temperatura escolhida.

O processo de cristalização em aquecimento observado neste estudo é um evento comum em poliésteres como o PLA, PHB e PCL, e reflete a facilidade de cristalização destes materiais, que lhes concedem a capacidade de gerar um processo de organização e cristalização de seu material como resposta ao ganho de mobilidade decorrente do aquecimento do sistema.

O grau de cristalinidade dos arcabouços é um parâmetro importante a ser calculado uma vez que a cristalinidade está inversamente relacionada a sua biodegradação, que para o presente estudo é de grande importância uma vez que este evento deve acontecer na mesma taxa que a regeneração do tecido ósseo. Assim, foi calculado o grau de cristalinidade dos sistemas segundo a equação 1, usando $\Delta H_{m100\%} = 106$ J/m relativa ao PLA (PARANHOS *et al.*, 2007) e os resultados apresentados na tabela 9 exibida a seguir.

Nota-se que a incorporação da cobertura causa um aumento bastante significativo na cristalinidade e isso pode ser explicado com base no processo de obtenção destes arcabouços. A fim de secar adequadamente a cobertura de PVA, os arcabouços foram armazenados em estufa a 80° C por 3 dias, sendo esse processo realizado duas vezes para cada arcabouço. Como a temperatura de secagem da cobertura estava entre a T_g e a T_m do PLA, este processo possivelmente levou ao processo de recozimento do material, causando o aumento de cristalinidade observado.

Amostra	T _g (⁰C)	T _m (°C)	∆H _c (J/g)	∆H _m (J/g)	Xc (%)
Arcabouço 30%	58	169	22	29	7
Arcabouço 30% + PVA 0,1% TiO ₂	67	166	2	26	25
Arcabouço 30% + PVA 0,1% ZnO	67	167	1	18	18
Arcabouço 30% + PVA 0,1% ZrO ₂	69	171	1	21	21
Arcabouço 40%	69	167	20	25	5
Arcabouço 40% + PVA 0,1% TiO ₂	71	170	2	28	28
Arcabouço 40% + PVA 0,1% ZnO	71	167	2	35	35
Arcabouço 40% + PVA 0,1% ZrO ₂	71	167	2	32	32
Arcabouço 50%	56	170	25	34	9
Arcabouço 50% + PVA 0,1% TiO ₂	65	167	3	34	33
Arcabouço 50% + PVA 0,1% ZnO	68	168	1	22	22
Arcabouço 50% + PVA 0,1% ZrO ₂	67	169	1	16	16

Tabela 9 – Transições térmicas e entalpias obtidas por DSC

Com base nas curvas dos termogramas exibidos nas Figuras 46 a 48 pode-se observar que o perfil das curvas de DSC não se altera para nenhum dos sistemas analisados, indicando que a heterogeneidade e perfeição cristalina não foram significativamente alteradas pela presença da cobertura de PVA nos sistemas.



Figura 46 - Curvas de DSC dos arcabouços com 30% de porosidade



Figura 47 - Curvas de DSC dos arcabouços com 40% de porosidade



Figura 48 - Curvas de DSC dos arcabouços com 50% de porosidade

5.2.4. Ressonância magnética nuclear no domínio do tempo (RMN)

Comparando-se os arcabouços com as diferentes porosidades, não se nota diferença no tempo T₁H, ou seja, a porosidade não influenciou na mobilidade molecular das cadeias poliméricas (Tabela 10).

Tabela 10 -	Tempos de	relaxação	spin-rede	dos arcaboucos	com diferentes	porosidades
	1 omp oo ao	ronavagao	opinitodo	acc alcabeaçee		porooraaaoo

Amostra	T₁H (ms)
Arcabouço 30%	512
Arcabouço 40%	512
Arcabouço 50%	503

O mesmo é observado quando se compara os arcabouços contendo os diferentes óxidos (Tabela 11). Não há diferenças significativas para nenhuma das porosidades investigadas; todos os valores de T₁H encontram-se dentro do valor de erro de medida do equipamento (5% do valor de tempo estimado). O mesmo é observado na curva de domínios exibida nas Figuras 49 a 51 que demonstram um perfil similar para todas as amostras, não indicando alterações significativas da

rigidez molecular ou aumento de heterogeneidade do sistema. Este comportamento indica que a presença do óxido não alterou a mobilidade molecular dos arcabouços ou ainda que a baixa concentração dos mesmos, somada à reduzida massa de PVA no sistema, possa ter limitado a identificação de seu efeito sobre os sistemas de maneira similar ao ocorrido com a análise de TGA.

Amostra	T₁H (ms)
Arcabouço 30%	512
Arcabouço 30% + PVA 0,1% TiO ₂	525
Arcabouço 30% + PVA 0,1% ZnO	541
Arcabouço 30% + PVA 0,1% ZrO ₂	532
Arcabouço 40%	512
Arcabouço 40% + PVA 0,1% TiO ₂	524
Arcabouço 40% + PVA 0,1% ZnO	534
Arcabouço 40% + PVA 0,1% ZrO ₂	526
Arcabouço 50%	503
Arcabouço 50% + PVA 0,1% TiO ₂	523
Arcabouço 50% + PVA 0,1% ZnO	543
Arcabouço 50% + PVA 0,1% ZrO ₂	530

Tabela 11 – Tempos de relaxação spin-rede dos arcabouços recobertos com PVA



Figura 49 - Curvas de domínio dos arcabouços com 30% de porosidade



Figura 50 - Curvas de domínio dos arcabouços com 40% de porosidade



Figura 51 - Curvas de domínio dos arcabouços com 50% de porosidade

6. CONCLUSÕES

Com bases nos resultados obtidos, pode-se concluir que:

Os óxidos foram bem dispersos em concentrações menores (0,1%) na matriz de PVA, porém as concentrações maiores (0,2%) geraram aglomerados que comprometeram a mobilidade das cadeias poliméricas.

Os resultados de DRX, RMN e TGA provam que a incorporação das nanocargas à matriz polimérica foi efetiva, embora não tenham sido observadas distorções das bandas e picos dos nanocompósitos, quando comparados com o polímero puro, obtidos na técnica de FTIR, o que infere que as interações entre os dois componentes se deram de forma física.

A incorporação de óxidos na matriz polimérica de PVA não alterou a estabilidade térmica, uma vez que os valores de T_{onset} permaneceram constantes, num valor $T_{onset} = (301 \pm 2)$ °C. Devido as melhores dispersões, as concentrações menores (0,1%) apresentaram melhor desempenho como agente nucleante e também uma melhor deposição de cálcio e fosfato na sua superfície, enquanto que as concentrações maiores (0,2%) geraram aglomerados, perdendo o efeito nano. Assim, os filmes de 0,1% foram escolhidos para seguir para a segunda etapa do projeto; o recobrimento dos arcabouços.

Os arcabouços foram impressos por filamento fundido e caracterizados por MEV, mostrando que sua porosidade seguiu o desenho *honeycomb* prédeterminado, corroborando com a afirmação que a impressão 3D permite um maior controle sobre a arquitetura e geometria dos arcabouços. A microscopia também permitiu confirmar que as coberturas com os nanocompósitos foram bem sucedidas, todavia, ocorreram de forma heterogênea. Os tamanhos dos poros, variaram de 0,58 a 1,54 mm, para as porosidades de 30 a 50%, respectivamente.

A presença de PVA provocou uma diminuição da estabilidade térmica, enquanto que o DSC mostrou a presença de uma só T_g e que o aumento no grau de cristalinidade para os arcabouços recobertos foi devido ao recozimento conseguido durante o recobrimento.

Em virtude dos fatos mencionados, é possível inferir que os objetivos propostos nesta Dissertação foram cumpridos e executados com sucesso. Com base nos resultados obtidos, a cobertura de arcabouços impressos 3D com óxidos metálicos melhora suas propriedades, tornando-os mais vantajosos para a área de regeneração tecidual óssea.

7. SUGESTÕES

Como sugestões futuras para a complementação das investigações iniciadas nesta dissertação encontram-se:

 Avaliação da resistência à compressão dos arcabouços obtidos a fim de avaliar o impacto da cobertura de PVA nas mesmas;

- Realização de ensaios Live/dead para avaliar a biocompatibilidade dos sistemas;

Avaliação do tempo de biodegradação in vitro dos arcabouços obtidos;

 Realizar ensaios com cultura de fibroblastos para determinar a capacidade de adesão celular nas superfícies dos arcabouços recobertos.

REFERÊNCIAS

ABDAL-HAY, A.; MAKHLOUF, A.S.H.; VANEGAS, P. A Novel Approach for Facile Synthesis of Biocompatible PVA-Coated PLA Nanofibers as Composite Membrane Scaffolds for Enhanced Osteoblast Proliferation. v. 53; p. 145-153. [S.I.]: Elsevier Ltd. 2015. Disponível em:

. Acesso em: 5 ago. 2016.

AHMAD, J.; DESHMUKH, K.; HABIB, M. Influence of TiO 2 Nanoparticles on the Morphological, Thermal and Solution Properties of PVA / TiO 2 Nanocomposite Membranes. **Chemical engineering**,[S.I.], v 39; n. 13, p. 1–10, 2014. Disponível em: http://link.springer.com/article/10.1007/s13369-014-1287-0. Acesso em: 17 nov. 2016

ARIFIN, A; SULONG, A. B.; MUHAMAD, N.; SYARIF, J.; RAMLI, M.I. Material processing of hydroxyapatite and titanium alloy (HA/Ti) composite as implant materials using powder metallurgy: A review. **Materials and Design**, Indonesia; v. 55,n. 9, p. 165–175, 2014. Disponível em:

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0261306913008972>. Acesso em: 22 nov 2016.

ARMENTANO, I.; DOTTORI, M.; FORTUNATI, E.; KENNY, J.M. Biodegradable polymer matrix nanocomposites for tissue engineering : A review. **Polymer Degradation and Stability**,[S.I], v. 95, n. 11, p. 2126–2146, 2010. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141391010002430>. Acesso em: 4 ago. 2016.

ARMENTANO, I.; BITINIS, N.; MATTIOLI, N. R.; VERDEJO, R.; LOPES-MANCHADO, M.A.; KENNY, J.M. Multifunctional nanostructured PLA materials for packaging and tissue engineering. **Progress in Polymer Science**, Spain, v. 38, n. 10–11, p. 1720–1747, 2013. Disponível em:

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079670013000518. Acesso em: 17 nov. 2016.

ASSENDERT, H. E.; WINDLE, A. H. Crystallinity in poly (vinyl alcohol). 1. An X-ray diffraction study of atactic PVOH. **Polymer**, Cambridge, v. 39, n. 18, p. 4295–4302, 1998. Disponível em:

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032386197102968. Acesso em: 2 dez. 2016.

AURAS, R.; HARTE, B.; SELKE, S. An Overview of Polylactides as Packaging Materials.**Macromol Biosci**, [S.I], v. 9, n. 4, p. 835–864, 2004. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15468294. Acesso em: 7 ago. 2016.

BAKER, M. I.; WALSH S. P.; BOYAN, B. D. A review of polyvinyl alcohol and its uses in cartilage and orthopedic applications. **Journal of biomedical materials research.** [S.I], v5, n. 100, p. 1–7, 2012. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22514196>. Acesso em: 10 jul. 2016.

BARRADAS, A. M. C.; YUAN, H.; BLITTERSWIJK, C. A.; HABIBOVIC, P. Osteoinductive biomaterials: current knowledge of properties, experimental models and biological mechanisms. **European cells & materials**,[S.I] v. 21, n. 429, p. 407– 429, 2011. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21604242>. Acesso em: 5 set. 2016.

BEN-NISSAN, B. Natural bioceramics : from coral to bone and beyond. **Current Opinion in Solid State & Materials Science**, [S.I], v. 7, n. 4–5, p. 283–288, 2007. Disponível em:

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359028603000780. Acesso em: 20 out. 2016.

BERMAN, B. 3-D printing: The new industrial revolution. **Business Horizons**, USA, v. 55, n. 2, p. 155–162, 2012. Disponível em: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0007681311001790>. Acesso em: 4 set. 2016.

BOLAND, T.; XU, T.; CUI, W. Application of inkjet printing to tissue engineering. **Biotechnology Journal**, v. 9, n. 1, p. 910–917, 2006. Disponível em https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16941443. Acesso em 2 set. 2016.

BONFIELD, W. Designing porous scaffolds for tissue engineering. **Philosophical transactions. Series A, Mathematical, physical, and engineering sciences**, [S.I], v. 364, n. 1838, p. 227–232, 2006. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18272463. Acesso em: 15 ago. 2016.

BOSE, S.; VAHABZADEH, S.; BANDYOPADHYAY, A. Bone tissue engineering using 3D printing. **Biochemical Pharmacology**, USA, v. 16, n. 12, p. 496–504, 2013. Disponível em:

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S136970211300401X. Acesso em: 13 set. 2016.

BULTE, J. W.; DOUGLAS, T.; WITWER, B.; ZHANG, S. C.; STRABLE, E.; LEWIS, B. K.; ZYWICKE, H., MILLER, B.; VAN GELDEREN, P.; MOSKOWITZ, B.M.; DUNCAN, I.D.; FRANK, J.A. Magnetodendrimers allow endosomal magnetic labeling and in vivo tracking of stem cells. **Nature biotechnology**,[S.I], v. 19, n. 12, p. 1141–7, 2001. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11731783. Acesso em: 29 out. 2016.

BUNN, C. W. Crystal Structure of Polyvinyl Alcohol. **Nature**, UK,v. 161, p. 929–930, 1948. Disponível em:

http://www.nature.com/nature/journal/v248/n5451/abs/248756a0.html. Acesso em: 17 jul. 2016.

BUTSCHER, A.; BOHER, M.; HOFMANN, S.; GAUCKLER, L.; MULLER, R. Structural and material approaches to bone tissue engineering in powder-based three-dimensional printing. **Acta Biomaterialia**, v. 7, n. 3, p. 907–920, 2011. Disponível em:

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1742706110004496>. Acesso em: 5 ago. 2016.

CARRASCO, F.; PAGÉS, P.; GAMEZ-PEREZ, J.; SANTANA, O. O.; MASPOCH, M. L. Processing of poly (lactic acid): Characterization of chemical structure, thermal stability and mechanical properties. **Polymer degradation and stability**, Spain, v. 95, n. 2, p. 116–125, 2010. Disponível em:

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S014139100900408X>. Acesso em: 19 set. 2016.

CHANG, P.; LIU, B.Y.; LIU, C.M.; CHOU, H.H; HO, M.H.; WANG, D.M.; HOU, L.T. Bone tissue engineering with novel rhBMP2-PLLA composite scaffolds. **Journal of biomedical materials research. Part A**, [S.I.], v. 81, n. 4, p. 771–780, 2007. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17226806>. Acesso em: 3 out. 2016.

CHEN, Q.; ROETHER, J. A.; BOCCACCINI, A. R. Tissue Engineering Scaffolds from Bioactive Glass and Composite Materials. **Topics in Tissue Engineering**, [S.I] v. 4, n.11, p. 3–5, 2008. Disponível em:

<http://www.oulu.fi/spareparts/ebook_topics_in_t_e_vol4/abstracts/q_chen.pdf>. Acesso em: 4 ago. 2016.

CHIA, H. N.; WU, B. M. Recent advances in 3D printing of tissue engineering scaffolds. **Methods in Molecular Biology**,[S.I], v. 868, n.9, p. 257–267, 2015. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22692615>. Acesso em: 25 jul. 2016.

CIURANA, J. DE; SERENÓ, L.; VALLÈS, È. Selecting process parameters in RepRap additive manufacturing system for PLA scaffolds manufacture. **Procedia CIRP**, [S.I], v. 5, n. 12, p. 152–157, 2013. Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2212827113000322>. Acesso em 3 ago. 2016.

COOKE, M. N.; FISHER, J.P.; DEAN, D.; RIMNAC, C.; MIKOS, A.G. Use of Stereolithography to Manufacture Critical-Sized 3D Biodegradable Scaffolds for Bone Ingrowth. **Journal of biomedical materials research. Part B, Applied biomaterials**, [S.I.], v. 64, n. 2, p. 65–69, 2002. Disponível em https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12516080>. Acesso em 6 nov. 2016.

COSTA, A. C. F. M.. Síntese e caracterização de nanopartículas de TiO2 (Synthesis and characterization of TiO 2 nanoparticles). **Cerâmica**, São Paulo, v. 52, n. 324, p. 255–259, 2006. Disponível em: http://www.scielo.br/pdf/ce/v52n324/06.pdf. Acesso em: 23 set. 2016.

COX, S. C; THRONBY, J. A.; GIBBONS, G. J.; WILLIAMS, M. A.MALLICK, K.K. 3Dprinting of porous hydroxyapatite scaffolds intended for use in bone tissue engineering applications. **Materials Science & Engineering**, [S.I], v. 47, n 5, p. 237–247, 2015. Disponível em:

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493114007255. Acesso em: 14 jul. 2016.

DAVIS, H.; LEACH, J. Hybrid and Composite Biomaterials in Tissue Engineering. **Topics in multifunctional biomaterials and devices**, n. 530,V. 6, p. 1–26, 2008. Disponível em:

http://www.oulu.fi/spareparts/ebook_topics_multifunctional/abstracts/davis.pdf. Acesso em: 6 out. 2016.

DEL GAUDIO, C. Assessment of poly(e{open}-caprolactone)/poly(3-hydroxybutyrateco-3-hydroxyvalerate) blends processed by solvent casting and electrospinning. **Materials Science and Engineering A**,[S.I], v. 528, n. 3, p. 1764–1772, 2011. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/jnm/2014/129035/>. Acesso em: 5 out. 2016.

DUAN, B.; WANG, M. Customized Ca – P / PHBV nanocomposite scaffolds for bone tissue engineering : design , fabrication , surface modification and sustained release of growth factor. **Journal of the Royal Society Interface**, [S.I], v. 7, n. 5, p. 615–629, 2010. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20504805. Acesso em: 27 jul. 2016.

ELAKKIYA, T.; SHEEJA, R.; RAMADHAR, K.; NATARAJAN, T. S. Biocompatibility Studies of Electrospun Nanofibrous Membrane of PLLA-PVA Blend. **Journal of applied polymer science**, [S.I], v. 5, n. 9, p. 1–7, 2012. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/app.38464/epdf>. Acesso em: 2 set. 2016.

ENSRUD, K. E. Epidemiology of fracture risk with advancing age. **Journals of Gerontology - Series A Biological Sciences and Medical Sciences**, [S.I], v. 68, n. 10, p. 1236–1242, 2013. Disponível em: . Acesso em: 3 jul. 2016.

FISHER, J. P.; VEHOR, J.W.; VAN DER WAERDEN, J.P.; HOLLAND, T.A.; MIKOS, A.G.; JANSEN, J.A. Soft and hard tissue response to photocrosslinked poly(propylene fumarate) scaffolds in a rabbit model. **Journal of Biomedical Materials Research**, [S.I.], v. 59, n. 3, p. 547–556, 2002. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11774313. Acesso em: 14 ago. 2016.

FRANCO, J.; HUNGER, P.;LAUNEY, M.E.; TOMSIA, A.P.; SAIZ, E. Direct write assembly of calcium phosphate scaffolds using a water-based hydrogel. **Acta Biomaterialia**, USA, v. 6, n. 1, p. 218–228, 2010. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1742706109002839>. Acesso em: 7 set. 2016.

FU, Q.; SAIZ, E.; TOMSIA, A. P. Direct ink writing of highly porous and strong glass scaffolds for load-bearing bone defects repair and regeneration. **Acta Biomaterialia**, [S.I], v. 7, n. 10, p. 3547–3554, 2011. Disponível em: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1742706111002765>. Acesso em: 6 set. 2016.

FUCHS, J. R.; NASSERI, B. A.; VACANTI, J. P. Tissue Engineering : A 21st Century Solution to Surgical Reconstruction. **Annals of Thoracic Surgery**, [S.I], v. 72, n. 2, p. 577–591, 2001. Disponível em:

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S000349750102820X. Acesso em: 23 out. 2016.

GAAZ, T. S.;SULONG, A.B.; AKHTAR, M.N.; KADHUM, A.A.; MOHAMAD, A.B.; AL-AMIERY, A.A. Properties and Applications of Polyvinyl Alcohol, Halloysite Nanotubes and Their Nanocomposites. **Molecules.** [S.I], v.12, n. 19-20, p. 22833– 22847, 2015. Disponível em: http://www.mdpi.com/1420-3049/20/12/19884>. Acesso em: 16 nov. 2016. GEBLER, M.; UITERKAMP, A. J. M. S.; VISSER, C. A global sustainability perspective on 3D printing technologies. **Energy Policy**, [S.I], v. 74, n. 21, p. 158–167, 2014. Disponível em:

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301421514004868>. Acesso em: 15 out. 2016.

GHOSH, S.; SHARMA, A.; TALUKDER, G. Zirconium An Abnormal Trace Element in Biology. [S.I.], v. 35, N.16, 1992. Disponível em: https://dx.doi.org/10.1007/BF02783770. Acesso em: 13 set. 2016.

GIANNOUDIS, P.; DINOPOULOS, H.; TSIRIDIS, E. Bone substitutes: An update. Injury, [S.I.], v. 36, n. 3, p. S20–S27, 2005. Disponível em: <http://www.injuryjournal.com/article/S0020-1383(05)00287-1/pdf>. Acesso em: 4 ago. 2016.

GITTENS, S.; ULUDAG, H. Growth factor delivery for bone tissue engineering. Journal of drug targeting, [S.I.], v. 9, n. 6, p. 407–429, 2001. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3033020/pdf/rsif20100223.pdf>. Acesso em: 10 set. 2016.

GONG, X. Composites : Part B Characterization of poly (vinyl alcohol) (PVA)/ZnO nanocomposites prepared by a one-pot method. **COMPOSITES PART B**, [S.I.], v. 60, n.5, p. 144–149, 2014. Disponível em: .Acesso em: 4 jul. 2016.

GROENEVELD, E. H. J. Mineralization processes in demineralized bone matrix grafts in human maxillary sinus floor elevations. **Journal of Biomedical Materials Research**, [S.I.], v. 48, n. 4, p. 393–402, 1999. Disponível em: . Acesso em: 9 ago. 2016.

GUO, S. Z. Solvent-cast three-dimensional printing of multifunctional microsystems. **Small**, [S.I.], v. 9, n. 24, p. 4118–4122, 2013. Disponível em: http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/smll.201370149/epdf>. Acesso em: 15 out. 2016.

HALDORAI, Y.; SHIM, J. Novel Chitosan-TiO2 Nanohybrid : Preparation , Characterization , Antibacterial and Photocatalytic Properties Novel Chitosan-TiO 2 Nanohybrid : Preparation. **Polymer Composites.** [S.I.], v. 2, n. 87, p. 123-134, 2016. Disponível em: http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/pc.22665/pdf>. Acesso em: 22 jul. 2016. HARRISON, B. S.; ATALA, A. Carbon nanotube applications for tissue engineering. **Biomaterials**, [S.I.], v. 28, n. 2, p. 344–353, 2007. Disponível em: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961206006569. Acesso em: 4 ago. 2016.

HENCH, L. L. Third-Generation Biomedical Materials. **Science**, [S.I.],v. 295, n. 5557, p. 1014–1017, 2002. Disponível em:

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032586101003565>. Acesso em: 13 set. 2016.

HOLLAND, B. J.; HAY, J. N. The thermal degradation of poly (vinyl alcohol). **Polymer**, [S.I.], v. 42, n. 76, p. 6775–6783, 2001. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032386101001665>. Acesso em: 9 ago. 2016.

HOLLISTER, S. J. Porous scaffold design for tissue engineering. **Nature Materials**, [S.I.], v. 4, n. 7, p. 518–524, 2005. Disponível em: http://www.nature.com/nmat/journal/v4/n7/full/nmat1421.html. Acesso em: 2 set. 2016.

HONG, H. Cancer-Targeted Optical Imaging with Fluorescent Zinc Oxide Nanowires. **Nature Materials**, [S.I], v. 9, n. 32, p. 3744–3750, 2011. Disponível em: http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/nl201782m. Acesso em: 23 out. 2016.

HUANG, R. The crystallization behavior of porous poly(lactic acid) prepared by modified solvent casting/particulate leaching technique for potential use of tissue engineering scaffold. **Materials Letters**, [S.I], v. 136, n. 24,p. 126–129, 2014. Disponível em:

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167577X14015122. Acesso em: 6 jul. 2016.

HULE, R. A.; POCHAN, D. J. Polymer Nanocomposites for Biomedical applications. **MRS Bulletin**, [S.I.], v. 32, n. 4, p. 354–358, 2007. Disponível em: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493115305543>. Acesso em: 19 ago. 2016.

HUSÁR, B. Photopolymerization-based additive manufacturing for the development of 3D porous scaffolds. **Biomaterials for Bone Regeneration**,[S.I], v. 8, n. 65, p. 149–201, 2014. Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/263655735_Photopolymerization-based_additive_manufacturing_for_the_development_of_3D_porous_scaffolds. Acesso em: 5 jul. 2016.

IGUAL, R.; MEDRANO, C.; PLAZA, I. Challenges , issues and trends in fall detection systems. **BioMedical Engineering OnLine**, [S.I.],v. 12, n. 1, p. 1, 2013. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3711927/pdf/1475-925X-12-66.pdf>. Acesso em: 5 out. 2016.

IKEHATA, H. The Mechanisms of UV Mutagenesis. **Journal of radiation research**, [S.I.], v. 52, n. 2, p. 115–125, 2011. Disponível em: http://japanlinkcenter.org/JST.JSTAGE/jrr/10175?lang=en&from=PubMed>. Acesso em: 1 nov. 2016.

KARAGEORGIOU, V.; Ã, D. K. Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. **Biomaterials**, [S.I.], v. 26, n. 27, p. 5474–5491, 2005. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3756927/pdf/2375-925X-12-66.pdf Acesso em: 4 jul. 2016.

KIEBZAK, G. M. Age-related bone changes. **Experimental Gerontology**, [S.I.],v. 26, n. 2–3, p. 171–187, 1991. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/GCC37167827/pdf/1565-925X-12-66.pdf>. Acesso em: 4 jul. 2016.

KIETZMANN, J.; PITT, L.; BERTHON, P. Disruptions , decisions , and destinations : Enter the age of 3-D printing and additive manufacturing. **Business Horizons**, [S.I.], v. 58, n. 2, p. 209–215, 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PM67711927/pdf/1475-675X-12-66.pdf>. Acesso em: 4 jul. 2016.

KIM, D. H. Prospective study of iliac crest bone graft harvest site pain and morbidity. **The Spine Journal**, [S.I.], v. 9, n. 11, p. 886–892, 2009. Disponível em https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3711927/pdf/1475-925X-12-66.pdf. Acesso: 4 jul. 2016.

KIM, H. W.; KNOWLES, J. C.; KIM, H. E. Hydroxyapatite/poly(??-caprolactone) composite coatings on hydroxyapatite porous bone scaffold for drug delivery. **Biomaterials**, [S.I.], v. 25, n. 7–8, p. 1279–1287, 2004. Disponível em https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC35671927/pdf/1475-445X-12-66.pdf>. Acesso: 4 jul. 2016.

KIM, K. K.; PACK, D. W. Microspheres for Drug Delivery. **Biological and Biomedical Nanotechnology**, [S.I.], v. 4, n. 97, p. 19–50, 2006. Disponível em https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC34561927/pdf/1475-925X-12-66.pdf>. Acesso: 4 jul. 2016.

KROEZE, R. J. Biodegradable Polymers in Bone Tissue Engineering. **Materials**, [S.I], v. 2, n. 3, p. 833–856, 2009. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/HJC3711347/pdf/147590-12-66.pdf>. Acessoem: 4 jul. 2016.

KRUTH, J. Consolidation phenomena in laser and powder-bed based layered manufacturing. **CIRP Annals - Manufacturing Technology**, [S.I.], v. 56, n. 2, p. 730–759, 2007. Disponível em:

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961205001511. Acesso em: 7 ago. 2016.

KUBINOVÁ, S.; SYKOVÁ, E. Nanotechnologies in regenerative medicine. **Minimally invasive therapy & allied technologies**, [S.I.], v. 19, n. 3, p. 144–156, 2010. Disponível em: http://www.azonano.com/article.aspx?ArticleID=3091>. Acesso em: 3 nov. 2016.

LAM, C. X. F. Scaffold development using 3D printing with a starch-based polymer. **Materials Science and Engineering C**, [S.I.], v. 20, n. 1–2, p. 49–56, 2002. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493102000127>. Acesso em: 14 out. 2016.

LASPRILLA, A. J. R. Poly-lactic acid synthesis for application in biomedical devices — A review. **Biotechnology Advances**, v. 30, n. 1, p. 321–328, 2012. Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0734975011000954>. Acesso em 23 jul. 2016.

LASSALLE, V.; FERREIRA, M. L. PLA nano- and microparticles for drug delivery: An overview of the methods of preparation. **Macromolecular Bioscience**, [S.I.], v. 7, n. 6, p. 767–783, 2007. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1002/mabi.200700022. Acesso em: 5 ago. 2016.

LAURENCIN, C.; KHAN, Y.; EL-AMIN, S. F. Bone graft substitutes. **Expert review of medical devices**, [S.I.], v. 3, n. 1, p. 49–57, 2006. Disponível em: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1586/17434440.3.1.49?journalCode=ierd20> . Acesso em: 24 ago. 2016.

LEE, J. H.. Thermal and mechanical characteristics of poly(L-lactic acid) nanocomposite scaffold. **Biomaterials**, [S.I.],v. 24, n. 16, p. 2773–2778, 2003. Disponível em:

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961203000802>. Acesso em: 6 out. 2016.

LEE, J. W. Evaluating cell proliferation based on internal pore size and 3D scaffold architecture fabricated using solid freeform fabrication technology. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, [S.I],v. 21, n. 12, p. 3195–3205, 2010. Disponível em:

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961203050882>. Acesso em: 17 ago. 2016.

LEE, M.; DUNN, J. C. Y.; WU, B. M. Scaffold fabrication by indirect three-dimensional printing. **Biomaterials**,[S.I], v. 26, n. 56, p. 4281–4289, 2005. Disponível em: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961204009603>. Acesso em: 7 jul. 2016.

LEONG, K. F.; CHEAH, C. M.; CHUA, C. K. Solid freeform fabrication of threedimensional scaffolds for engineering replacement tissues and organs. **Biomaterials**, [S.I.], v. 24, n. 13, p. 2363–2378, 2003. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961203000309>. Acesso em: 4 out. 2016.

LI, X. Nanostructured scaffolds for bone tissue engineering. **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**, [S.I.],v. 101, n. 8, p. 2424–2435, 2013. Disponível em: http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jbm.a.34539/epdf>. Acesso em: 15 ago. 2016.

LIM, T. C.; CHIAN, K. S.; LEONG, K. F. Cryogenic prototyping of chitosan scaffolds with controlled micro and macro architecture and their effect on in vivo neo-vascularization and cellular infiltration. **Journal of Biomedical Materials Research -Part A**, [S.I.], v. 94, n. 4, p. 1303–1311, 2010. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jbm.a.32747/epdf>. Acesso em: 19 set. 2016.

LIN, H. Application of visible light-based projection stereolithography for live cellscaffold fabrication with designed architecture. **Biomaterials**, [S.I.], v. 34, n. 2, p. 331–339, 2013. Disponível em:

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961212010563. Acesso em: 2 set. 2016.

LOPES, M. S.; JARDINI, A. L.; FILHO, R. M. Poly (lactic acid) production for tissue engineering applications. **Procedia Engineering.** Brazil. v. 42, n.2, p. 1402–1413, 2012. Disponível em:

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1877705812029414>. Acesso em: 9 out. 2016.

LUGINBUEHL, V. Localized delivery of growth factors for bone repair. **European Journal os Pharmaceutics**, [S.I.],v. 58, n. 2, p. 197–208, 2004. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0939641104000451>. Acesso em: 4 jul. 2016.

LUNT, J. Large-scale production, properties and commercial applications of polylactic acid polymers. **Polymer Degradation and Stability**, [S.I.], v. 59, n. 97, p. 145–152, 1998.Disponível em:

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141391097001481. Acesso em: 22 jul. 2016.

MACCHETTA, A.; TURNER, I. G.; BOWEN, C. R. Fabrication of HA / TCP scaffolds with a graded and porous structure using a camphene-based freeze-casting method. **Acta Biomaterialia**, [S.I.],v. 5, n. 4, p. 1319–1327, 2009. Disponível em: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1742706108003590>. Acesso em: 4 ago. 2016.

MALIK, H. H. Three-dimensional printing in surgery : a review of current surgical applications. **Journal of Surgical Research**, [S.I.], v. 199, n. 2, p. 512–522, 2015. Disponível em:

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022480415007295. Acesso em: 2 set. 2016.

MANO, J. F. Bioinert , biodegradable and injectable polymeric matrix composites for hard tissue replacement : state of the art and recent developments. **Composites Science and Technology**, [S.I.],v. 64, n. 6, p. 789–817, 2004. Disponível em: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S099024804150098795>. Acesso em: 4 jul. 2016.

MAPILI, G. Laser-layered microfabrication of spatially patterned functionalized tissueengineering scaffolds. **Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials**, [S.I.], v. 75, n. 2, p. 414–424, 2005. Disponível em: http://schen.ucsd.edu/pdf/2005JBMRb.pdf>. Acesso em: 27 out. 2016.

MARTÍNEZ-PÉREZ, C. A. Preparation of hydroxyapatite nanoparticles facilitated by the presence of. **Journal of Alloys and Compounds**, [S.I.], v. 536, n. 1, p. S432–S436, 2012. Disponível em:

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925838811024194>. Acesso em: 16 set. 2016.

MELCHELS, F. P. W. Additive manufacturing of tissues and organs. **Progress in Polymer Science**, [S.I.], v. 37, n. 8, p. 1079–1104, 2012. Disponível em: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079670011001328. Acesso em:

>nup://www.sciencedirect.com/science/anticle/pii/S0079670011001328>. Acesso em: 9 nov. 2016.

MELCHELS, F. P. W.; FEIJEN, J.; GRIJPMA, D. W. A poly(d,I-lactide) resin for the preparation of tissue engineering scaffolds by stereolithography. **Biomaterials**, [S.I.], v. 30, n. 23–24, p. 3801–3809, 2009. Disponível em:

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19406467>. Acesso em: 22 out. 2016.

MELCHELS, F. P. W.; FEIJEN, J.; GRIJPMA, D. W. A review on stereolithography and its applications in biomedical engineering. **Biomaterials**, [S.I.], v. 31, n. 24, p. 6121–6130, 2010. Disponível em:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961210005661>. Acesso em: 9 ago. 2016.

MENDONÇA, H. A. J. L. M. E V. R. DE. Nanoestruturas em fotocatálise: uma revisão sobre estratégias de síntese de fotocatalisadores em escala nanométrica. **Quim. Nova**, Brazil, v. 32, n. 8, p. 2181–2190, 2009. Disponível em: http://www.scielo.br/pdf/qn/v32n8/v32n8a32.pdf>. Acesso em: 9 ago. 2016.

MENDOZA-BUENROSTRO, C.; LARA, H.; RODRIGUEZ, C. Hybrid fabrication of a 3D printed geometry embedded with PCL nanofibers for tissue engineering applications. **Procedia Engineering**, [S.I.], v. 110, p. 128–134, 2015. Disponível em: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1877705815012618 . Acesso em: 2 set. 2016.

MOHANAPRIYA, S. Fabrication and characterization of poly (vinyl alcohol) -TiO 2 nanocomposite fi lms for orthopedic applications. **Elsevier**, [S.I.], v. 63, p. 141–156, 2016. Disponível em:

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1751616116301758. Acesso em: 5 jul. 2016.

MORA-HUERTAS, C. E.; FESSI, H.; ELAISSARI, A. Polymer-based nanocapsules for drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, [S.I.], v. 385, n. 1–2, p. 113–142, 2010. Disponível em:

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517309007273. Acesso em: 22 jul. 2016.

MORADI, A. Fabrication and characterization of elastomeric scaffolds comprised of a citric acid-based polyester / hydroxyapatite microcomposite. **Materials and Design**, [S.I.], v. 50, n. 4, p. 446–450, 2013. Disponível em:

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0261306913002264>. Acesso em 1 nov. 2016.

MORONI, L.; WIJN, J. R. DE; BLITTERSWIJK, C. A. VAN. 3D fiber-deposited scaffolds for tissue engineering : Influence of pores geometry and architecture on dynamic mechanical properties. **Materials Today**, [S.I.], v. 27, n. 5, p. 974–985, 2006. Disponível em:

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961205006320>. Acesso em: 13 ago. 2016.

MOTHERSILL, C.; SEYMOUR, C. B.; OAPOS;BRIEN, A. Induction of c-myc oncoprotein and of cellular proliferation by radiation in normal human urothelial cultures. **Anticancer Research**, [S.I.],v. 11, n. 4, p. 1609–1612, 1991. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1746918. Acesso em: 22 jul. 2016.

MURPHY, C. M.; HAUGH, M. G.; BRIEN, F. J. O. The effect of mean pore size on cell attachment, proliferation and migration in collagen – glycosaminoglycan scaffolds for bone tissue engineering. **Biomaterials**, [S.I.], v. 31, n. 3, p. 461–466, 2010. Disponível em:

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961209009958. Acesso em: 13 ago. 2016.

MURUGAN, R.; RAMAKRISHNA, S. Development of nanocomposites for bone grafting. **Composites Science and Technology**, [S.I.], v. 65, n. 15–16, p. 2385–2406, 2005. Disponível em:

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S026635380500285X. Acesso em: 4 nov. 2016.

NAKAMURA, M.; KOBAYASHI, A.; WATANABE, A.; HIRUMA, Y.; OHUCHI, K. Biocompatible Inkjet Printing Technique for Designed Seeding of Individual Living Cells.**Tissue Engineering**, [S.I.], v. 11, n. 11, p. 1658–1666, 2005. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1089/ten.2005.11.1658>. Acesso em: 22 ago. 2016.

NAMPOOTHIRI, K. M.; NAIR, N. R.; JOHN, R. P. An overview of the recent developments in polylactide (PLA) research. **Bioresource Technology**, [S.I.], v. 101, n. 22, p. 8493–8501, 2010. Disponível em:

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852410009508>. Acesso em: 2 set. 2016.

NASAR, G.; KHAN, M. S.; KHALIL, U. Structural study of pva composites with inorganic salts by x-ray diffraction. **J Pak Mater Soc**, v. 3, n. 2, p. 67–70, 2009. Disponível em

">https://www.researchgate.net/publication/268291437_Structural_study_of_PVA_composites_with_inorganic_salts_by_X-ray_diffraction>">https://www.researchgate.net/publication/268291437_Structural_study_of_PVA_composites_with_inorganic_salts_by_X-ray_diffraction>">https://www.researchgate.net/publication/268291437_Structural_study_of_PVA_composites_with_inorganic_salts_by_X-ray_diffraction>">https://www.researchgate.net/publication/268291437_Structural_study_of_PVA_composites_with_inorganic_salts_by_X-ray_diffraction>">https://www.researchgate.net/publication/268291437_Structural_study_of_PVA_composites_with_inorganic_salts_by_X-ray_diffraction>">https://www.researchgate.net/publication/268291437_Structural_study_of_PVA_composites_with_inorganic_salts_by_X-ray_diffraction>">https://www.researchgate.net/publication/268291437_Structural_study_of_PVA_composites_with_inorganic_salts_by_X-ray_diffraction>">https://www.researchgate.net/publication/268291437_Structural_study_of_PVA_composites_with_inorganic_salts_by_X-ray_diffraction>">https://www.researchgate.net/publication/268291437_Structural_study_of_PVA_composites_with_inorganic_salts_by_X-ray_diffraction>">https://www.researchgate.net/publication/268291437_Structural_study_of_PVA_composites_with_inorganic_salts_by_X-ray_diffraction>">https://www.researchgate.net/publication/268291437_Structural_study_of_PVA_composites_with_inorganic_salts_by_X-ray_diffraction>">https://www.researchgate.net/publication/268291437_Structural_study_of_PVA_composites_with_inorganic_salts_by_X-ray_diffraction>">https://www.researchgate.net/publication

NAUGHTON, G. K.; TOLBERT, W. R.; GRILLOT, T. M. Emerging developments in tissue engineering and cell technology. **Tissue engineering**, [S.I.], v. 1, n. 2, p. 211–219, 1995. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1089/ten.1995.1.211>. Acesso em: 6 jul. 2016.

NAVARRO, M. Biomaterials in orthopaedics. **Journal of the Royal Society**, **Interface / the Royal Society**, [S.I.], v. 5, n. 11, p. 1137–1158, 2008. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2706047/pdf/rsif20080151.pdf>. Acesso em: 12 out. 2016.

PARANHOS, C. M. Microstructural Evaluation of Poly (vinyl alcohol) -Based Hydrogels Obtained by Freezing-Thawing Technique : Thermal Analysis and Positron Annihilation. **Journal of applied polymer science**, [S.I.], v. 105, n. 33, p. 899–902, 2007. Disponível em:

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1742706111000754. Acesso em: 22 jul. 2016.

PATI, F. 3D printing of cell-laden constructs for heterogeneous tissue regeneration. **Manufacturing Letters**, [S.I.], v. 1, n. 1, p. 49–53, 2013. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213846313000102>. Acesso em: 22 jul. 2016.

PATRÍCIO, T. Characterisation of PCL and PCL / PLA scaffolds for tissue engineering. **Procedia - Social and Behavioral Sciences**, [S.I.], v. 5, n. 21, p. 110– 114, 2013. Disponível em: http://ac.els-cdn.com/S2212827113000231/1-s2.0-S2212827113000231-main.pdf>. Acesso e:m 13 out. 2016.

PATTERSON, J.; MARTINO, M. M.; HUBBELL, J. A. Biomimetic materials in tissue engineering. **Materials Today**, [S.I.], v. 13, n. 1–2, p. 14–22, 2010. Disponível em: http://ac.els-cdn.com/S1369702110700134/1-s2.0-S1369702110700134-main.pdf>. Acesso em: 2 set. 2016.

PÉREZ, R. A. Naturally and synthetic smart composite biomaterials for tissue regeneration. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [S.I.], v. 65, n. 4, p. 471–496, 2013. Disponível em:

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169409X12001056>. Acesso em: 14 out. 2016.

PEREZ, R. A.; MESTRES, G. Role of pore size and morphology in musculo-skeletal tissue regeneration. **Materials Science & Engineering C**, [S.I.], v. 61, n.65, p. 922–939, 2015. Disponível em:

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493115306937>. Acesso em: 2 set. 2016.

PORTER, J. R.; RUCKH, T. T.; POPAT, K. C. Bone Tissue Engineering : A Review in Bone Biomimetics and Drug Delivery Strategies. **Biotechnology Progress**, [S.I.], v. 25, n. 6, p. 1539–1560, 2009. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1002/btpr.246. Acesso em: 20 nov. 2016.

POSTIGLIONE, G.. Conductive 3D microstructures by direct 3D printing of polymer / carbon nanotube nanocomposites via liquid deposition modeling. **COMPOSITES PART A**, [S.I.], v. 76,n. 58, p. 110–114, 2015. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359835X15001682>. Acesso em: 3 jul. 2016.

RADOICIC, M. B. The influence of shaped TiO 2 nanofillers on the thermal properties of poly (vinyl alcohol). **Journal of the Serbian Chemical Society**, [S.I.], v. 77, n. 5, p. 699–714, 2012. Disponível em: http://www.doiserbia.nb.rs/img/doi/0352-5139/2012/0352-51391100161R.pdf>. Acesso em: 14 jul. 2016.

RAJZER, I. Fabrication of bioactive polycaprolactone / hydroxyapatite scaffolds with final bilayer nano- / micro-fibrous structures for tissue engineering application. **Journal of Materials Science**, [S.I], v. 49, n. 16, p. 5799–5807, 2014. Disponível em: http://download.springer.com/static/pdf/771/art%253A10.1007%252Fs10853-014-8311-3.pdf>. Acesso em: 14 jul. 2016.

RAY, S. S.; OKAMOTO, M. Polymer / layered silicate nanocomposites : a review from preparation to processing. **Progress in Polymer Science (Oxford)**, [S.I.], v. 28, n. 11, p. 1539–1641, 2003. Disponível em:

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079670003000790. Acesso em: 2 set. 2016.

REZENDE, R. A. Organ Printing as an Information Technology. **Procedia Engineering**, [S.I.], v. 110, n. 43, p. 151–158, 2015. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1877705815012643>. Acesso em: 9 out. 2016.

REZWAN, K. Biodegradable and bioactive porous polymer / inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering. **Biomaterials**, [S.I.], v. 27, n. 18, p. 3413–3431, 2006. Disponível em:

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961206001232>. Acesso em: 2 set. 2016.

SALERNO, A. Bio-safe fabrication of PLA scaffolds for bone tissue engineering by combining phase separation, porogen leaching and scCO2 drying. **Journal of Supercritical Fluids**, [S.I.], v. 97, n. 5, p. 238–246, 2015. Disponível em: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0896844614004185. Acesso em: 9 out. 2016.

SALGADO, A. J.; COUTINHO, O. P.; REIS, R. L. Bone tissue engineering: State of the art and future trends. **Macromolecular Bioscience**, [S.I], v. 4, n. 8, p. 743–765, 2004. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1002/mabi.200400026>. Acesso em: 4 jul. 2016.

SEBDANI, M. M.; FATHI, M. H. Novel hydroxyapatite-forsterite-bioglass nanocomposite coatings with improved mechanical properties. **Journal of Alloys and Compounds**, [S.I], v. 509, n. 5, p. 2273–2276, 2011. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925838810027374>. Acesso em: 19 ago. 2016.

SERRA, T.; PLANELL, J. A.; NAVARRO, M. High-resolution PLA-based composite scaffolds via 3-D printing technology. **Acta Biomaterialia**, [S.I.], v. 9, n. 3, p. 5521–5530, 2013. Disponível em: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1742706112005338. Acesso em:

19 ago 2016.

SEYEDNEJAD, H. Biomaterials in vivo biocompatibility and biodegradation of 3Dprinted porous scaffolds based on a hydroxyl-functionalized poly (ε-caprolactone). **Biomaterials**, [S.I.], v. 33, n. 17, p. 4309–4318, 2012. Disponível em: <http://www.mdpi.com/1996-1944/2/4/2276/htm>. Acesso em: 4 jul. 2016.

SHAFIEE, A.; ATALA, A. Printing Technologies for Medical Applications. **Trends in Molecular Medicine**, [S.I.], v. 22, n. 3, p. 254–265, 2016. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1471491416000149>. Acesso em: 2 set. 2016.

SHAH MOHAMMADI, M.; BUREAU, M. N.; NAZHAT, S. N. Polylactic Acid (PLA) Biomedical Foams for Tissue Engineering. [s.l.] **Woodhead Publishing Limited**, [S.l.], v. 4, n56, p 456-470, 2014. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/260247355_Polylactic_acid_PLA_biomedi cal_foams_for_tissue_engineering>. Acesso em: 2 set. 2016. SHOR, L. Fabrication of three-dimensional polycaprolactone/hydroxyapatite tissue scaffolds and osteoblast-scaffold interactions in vitro. **Biomaterials**, [S.I.], v. 28, n. 35, p. 5291–5297, 2007. Disponível em:

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961207006436>. Acesso em: 4 jul. 2016.

SILVA, M. B. R. Evaluation of Intermolecular Interactions in the PHB/ZnO nanostructured materials. **Nanostructured Materials**, [S.I.], v. 16, n.3, p. 7606–7610, 2016. Disponível em:

http://www.ingentaconnect.com/contentone/asp/jnn/2016/00000016/00000007/art00 141>. Acesso em: 22 jul. 2016.

SOARES, I. L.. Evaluation of the Influence of Modified TiO 2 Particles on Polypropylene Composites. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, Brazil, v. 15, n. 8, p. 5723–5732, 2015. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26369145>. Acesso em: 22 jul. 2016.

STOCLET, G.; SEGUELA, R.; LEFEBVRE, J. Morphology, thermal behavior and mechanical properties of binary blends of compatible biosourced polymers : Polylactide / polyamide11. **Polymer**, [S.I.], v. 52, n. 6, p. 1417–1425, 2011. Disponível em:

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S003238611100098X. Acesso em: 4 jul.2016.

TADASHI, K.; TAKADAMA, H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? **Biomaterials**, [S.I.], v. 27, n. 14, p. 2907–2915, 2006. Disponível em: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961206000457>. Acesso em: 14 nov. 2016.

TANG, D. Biofabrication of bone tissue : approaches , challenges and translation for bone regeneration. **Biomaterials**, [S.I.], v. 83, n. 54, p. 363–382, 2016. Disponível em: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961216000260>. Acesso em: 13 ago. 2016.

TJONG, S. C. Structural and mechanical properties of polymer nanocomposites. **Materials Science and Engineering R: Reports,** [S.I.], v. 53, n. 3–4, p. 73–197, 2006. Disponível em:

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927796X06000544>. Acesso em: 9 out. 2016.

TSIVINTZELIS, I. Porous poly(I-lactic acid) nanocomposite scaffolds prepared by phase inversion using supercritical CO2 as antisolvent. **Polymer**, [S.I.], v. 48, n. 21, p. 6311–6318, 2007. Disponível em:

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032386107007859. Acesso em: 4 jul. 2016.

VALLET-REGÍ, M.; GONZÁLEZ-CALBET, J. M. Calcium phosphates as substitution of bone tissues. **Progress in Solid State Chemistry**, [S.I.], v. 32, n. 1–2, p. 1–31, 2004. Disponível em:

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079678604000111>. Acesso em: 4 jul. 2016.

VAN VLIERBERGHE, S.; DUBRUEL, P.; SCHACHT, E. Biopolymer-based hydrogels as scaffolds for tissue engineering applications: a review. **Biomacromolecules**, [S.I.], v. 12, n. 5, p. 1387–1408, 2011. Disponível em: . Acesso em: 13 ago. 2016.

VENUGOPAL, J.. Biomimetic hydroxyapatite-containing composite nanofibrous substrates for bone tissue engineering. **Philosophical transactions. Series A, Mathematical, physical, and engineering sciences**, [S.I.], v. 368, n. 1917, p. 2065–2081, 2010. Disponível em:

http://royalsocietypublishing.org/content/roypta/368/1917/2065.full.pdf. Acesso em: 22 jul. 2016.

VILAR, G.; TULLA-PUCHE, J.; ALBERICIO, F. Polymers and drug delivery systems. **Current Drug Delivery**, [S.I.], v. 9, n. 4, p. 367–394, 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3438887/pdf/nihms-402738.pdf>. Acesso em: 2 set. 2016.

WANG, C.; WANG, M. Electrospun multifunctional tissue engineering scaffolds. **Frontiers of Materials Science**, [S.I.], v. 8, n. 1, p. 3–19, 2014. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007/s11706-014-0241-0. Acesso em: 13 out. 2016.

WANG, P. Bone tissue engineering via nanostructured calcium phosphate biomaterials and stem cells. **Bone Research**, [S.I.], v. 2, n. 89, p. 14017–14030, 2014. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4472121/pdf/boneres201417.pdf>. Acesso em: 2 set. 2016.

WEGST, U. G. K.; ASHBY, M. F. The mechanical efficiency of natural materials. **Philosophical Magazine**, [S.I.], v. 21, n. 21, p. 2167–2181, 2004. Disponível em: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14786430410001680935>. Acesso em: 4 jul. 2016.

WILLIAMS, D. Benefit and risk in tissue engineering. **Materials Today**, [S.I.], v. 7, n. 5, p. 24–29, 2004. Disponível em:

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1369702104002329. Acesso em: 13 ago. 2016.

WOO, K. M.; CHEN, V. J.; MA, P. X. Nano-fibrous scaffolding architecture selectively enhances protein adsorption contributing to cell attachment. **Journal of biomedical materials research. Part A**, [S.I.], v. 67, m. 8, p. 531–537, 2003. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1002/jbm.a.10098>. Acesso em: 13 ago. 2016.

WU, B. M. olid free-form fabrication of drug delivery devices. **Journal of Controlled Release**, [S.I.], v. 40, n. 1–2, p. 77–87, 1996. Disponível em: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0168365995001735>. Acesso em: 4 jul. 2016.

XIAO, L. Poly (Lactic Acid) -Based Biomaterials : Synthesis, Modification and Applications. **Biomedical science, engineering and technology**, [S.I.], v. 11, n. 90, p. 247–284, 2006. Disponível em: <http://www.springer.com/it/book/9783642175961>. Acesso em: 2 set. 2016.

YANG, S. The Design of Scaffolds for Use in Tissue Engineering. Part II. Rapid Prototyping Techniques. **Tissue Engineering**, [S.I.], v. 8, n. 1, p. 1–11, 2002. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1089/107632702753503009. Acesso em: 22 jul. 2016.

YE, M.; MOHANTY, P.; GHOSH, G. Morphology and properties of poly vinyl alcohol (PVA) scaffolds: Impact of process variables. **Materials Science & Engineering C**, [S.I.], v. 42, n. 13, p. 289–294, 2014. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493114003051>. Acesso em: 22 jul. 2016.

YEH, J. Study on the Crystallization Kinetic and Characterization of Poly (lactic acid) and Poly (vinyl alcohol) Blends. **Polymer-Plastics Technology and Engineering**, [S.I.], v. 47, n. 12, p. 1289–1296, 2008. Disponível em: http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/03602550802497958>. Acesso em: 2 set. 2016.

YUAN, H. Osteoinduction by calcium phosphate biomaterials. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, [S.I.], v. 9, n. 12, p. 723–726, 1998. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15348929. Acesso em: 2 set. 2016.

ZEIN, I. Fused deposition modeling of novel scaffold architectures for tissue engineering applications. **Biomaterials**, [S.I.], v. 23, n. 4, p. 1169–1185, 2002. Disponível em:

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961201002320>. Acesso em: 4 jul. 2016.

ZHANG, L.; WEBSTER, T. J. Nanotechnology and nanomaterials : Promises for improved tissue regeneration. **Nano Today**,[S.I.], v. 4, n. 1, p. 66–80, 2009. Disponível em:

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1748013208000182 Acesso em: 4 jul. 2016.

ZHANG, Y. Biomedical Applications of Zinc Oxide Nanomaterials. **Curr Mol Med**, [S.I.], v. 13, n. 10, p. 1633–1645, 2014. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3838497/pdf/nihms-523362.pdf>. Acesso em: 4 jul. 2016.

APÊNDICE A - PRODUÇÕES RELACIONADAS À DISSERTAÇÃO

MOTA, R.C.A.G., DA SILVA, E.O., MENEZES, L.R. Impressão 3D e sua aplicabilidade em engenharia tecidual óssea. In: SEMANA DE POLÍMEROS, 9; 2015, Rio de Janeiro. Apresentação Oral.

MOTA, R.C.A.G., DA SILVA, E.O., MENEZES, L.R. Impressão 3D de arcabouços Poliméricos In: SEMANA DE NANOTECNOLOGIA, 9, 2016, Rio de Janeiro. Apresentação Oral.

MOTA, R.C.A.G., DA SILVA, E.O., DE LIMA, F.F., MENEZES, L.R. Evaluation of nanostructured pva coating of 3D printed PLA scaffolds for bone tissue regeneration. In: 3rd Brazilian Conference on Composite Materials. 2016, Gramado. **Anais...** Gramado: BCCM3, 2016.

MOTA, R.C.A.G., DA SILVA, E.O., DE LIMA, F.F., MENEZES, L.R. Revestimento de arcabouços impressos 3D com nanocompósitos a base de óxidos metálicos para auxiliar na regeneração tecidual óssea In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS, 22. 2016, Natal. **Anais**....Natal, CBECiMat, 2016.Apresentação Oral.

MOTA, R.C.A.G., PALHARES, T.N., DA SILVA, E.O. Workshop de Impressão 3D. In: SEMANA DE POLÍMEROS, 10, 2016, Rio de Janeiro. 2016. Apresentação Oral.

MOTA, R.C.A.G., DA SILVA, E.O., DE LIMA, F.F., MENEZES, L.R., THIELE, A. C. S. 3D Printed Scaffolds as a New Perspective for Bone Tissue Regeneration: Literature Review. *Materials Sciences and Applications*, Brazil, v. 08, n. 7, p. 430-452, 2016.Disponível em: < http://file.scirp.org/pdf/MSA_2016083111503970.pdf>.