



## **BIOCOMPÓSITO A PARTIR DE PLA, BIOVIDRO E NANOTUBOS DE CARBONO POR IMPRESSÃO 3D VISANDO REGENERAÇÃO ÓSSEA**

**Esleane Vilela Vasconcelos**

**2023**



## **BIOCOMPÓSITO A PARTIR DE PLA, BIOVIDRO E NANOTUBOS DE CARBONO POR IMPRESSÃO 3D VISANDO REGENERAÇÃO ÓSSEA**

**Esleane Vilela Vasconcelos**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Recursos Naturais da Amazônia, PRODERNA/ITEC, da Universidade Federal do Pará, como requisito necessário à obtenção do título de Doutor em Engenharia de Recursos Naturais.

Orientadora: Dra. Verônica Scarpini Candido.

Coorientador: Dr. Marcos Alan Leite dos Reis

**Belém**

**Março de 2023**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD**  
**Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará**  
**Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

---

- V331b Vasconcelos, Esleane Vilela.  
Biocompósito a partir de PLA, Biovidro e Nanotubos de Carbono por Impressão 3D visando Regeneração Óssea / Esleane Vilela Vasconcelos. — 2023.  
123 f.: il. color.
- Orientador(a): Prof.<sup>a</sup> Dra. Verônica Scarpini Candido  
Coorientador(a): Prof. Dr. Marcos Alan Leite dos Reis  
Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Pará, Instituto de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Recursos Naturais na Amazônia, Belém, 2023.
1. PLA. 2. Biovidro. 3. Nanotubos de Carbono. 4. Impressão 3D. I. Título.

CDD 620.11

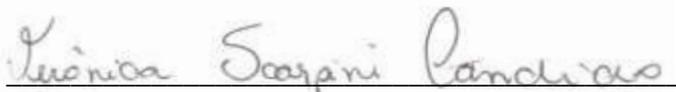
---

**BIOCOMPÓSITO A PARTIR DE PLA, BIOVIDRO E NANOTUBOS DE CARBONO POR IMPRESSÃO 3D VISANDO REGENERAÇÃO ÓSSEA**

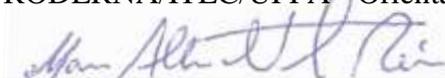
**Esleane Vilela Vasconcelos**

TESE SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE RECURSOS NATURAIS DA AMAZÔNIA - PRODERNA/ITEC/UFPA COMO REQUISITO NECESSÁRIO À OBTENÇÃO DO TÍTULO DE DOUTORA EM ENGENHARIA DE RECURSOS NATURAIS.

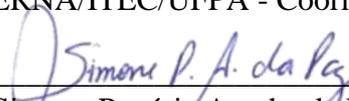
Aprovada por:



Prof. Dra. Verônica Scarpini Candido, D.Sc.  
(PRODERNA/ITEC/UFPA - Orientadora)



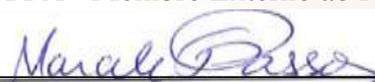
Prof. Dr. Marcos Alan Leite dos Reis, D.Sc.  
(PRODERNA/ITEC/UFPA - Coorientador)



Prof. Dr. Simone Patrícia Aranha da Paz, D.Sc.  
(PRODERNA/ITEC/UFPA - Membro Interno)



Prof. Dr. Alisson Clay Rios da Silva, D.Sc.  
(PPGCEM/UFPA - Membro Externo ao Programa)



Prof. Dra. Marcele Fonseca Passos, D.Sc.  
(PPGCEM/UFPA - Membro Externo ao Programa)



Prof. Dr. Afonso Rangel Garcez de Azevedo, D.Sc.  
(LAMAV/UENF – Membro Externo à Instituição)

BELÉM, PA – BRASIL

MARÇO DE 2023

Dedico este trabalho a **DEUS**, autor da minha vida e do meu destino.

E a **TODOS** aqueles que de alguma forma estiveram presentes em minha caminhada, apoiando e auxiliando para a concretização deste trabalho.

## Agradecimentos

Em primeiro lugar, agradeço a **Deus** que me concedeu vida, saúde e vigor para que pudesse concluir mais esta etapa para crescimento pessoal e profissional.

Aos meus pais, mediadores dessa trajetória, os quais me deram todo o incentivo e apoio para a realização deste sonho. Hoje posso dar a vocês: **Antônio Carlos & Francisca** a certeza de que os aprendizados, o caráter e os princípios ensinados não foram em vão.

Aos meus irmãos **Tabajara Williams** e **Mariana Eslane** e a meu filhinho **Eder Carlos**, pelo amor e compreensão em todos os momentos desta trajetória.

A minha orientadora Dr<sup>a</sup> **Verônica Scarpini Candido**, pela paciência, incentivo e desempenho intelectual que me ajudou a desenvolver este trabalho e, por acreditar e apoiar todos os momentos para e conclusão desta tese com êxito.

Ao meu coorientador Dr. **Marcos Alan Leite dos Reis**, pelo estímulo, motivação e parceria para a realização deste trabalho.

Aos professores Dr. **Alisson Clay Rios da Silva**, Dr.<sup>a</sup> **Simone Patrícia Aranha da Paz**, Dr.<sup>a</sup> **Marcele Fonseca Passos** e Dr. **Afonso Rangel Garcez de Azevedo**, que aceitaram participar da banca examinadora e contribuíram de forma significativa com esta tese.

A todos os **professores da UFPA**, que tornaram possível minha formação por meio do compartilhamento de seus conhecimentos e suas experiências neste doutorado.

Aos **colegas e amigos da pós-graduação**, que compartilharam comigo seus conhecimentos, suas vivências, alegrias e dificuldades, assim como, pelo constante apoio e incentivo no decorrer desta jornada, em especial a **Elisângela Ferreira, Francilene Belo e Sheila Paranhos**.

Aos **colegas e amigos dos laboratórios**, que contribuíram para o desenvolvimento dos materiais e testes desde estudo em especial **Alex Cabral, Damares Barbosa, Dhonata Oliveira, Jhonny Ramos e Miriane Pinheiro**.

A minha amiga **Karina Freitas**, que acompanhou minha trajetória e em todos os momentos esteve ao meu lado, lembrando que temos um Deus capaz de tudo, assim como pelo apoio contínuo em meus estudos.

A todos o meu mais sincero **OBRIGADA**.

Resumo da Tese apresentada ao PRODERNA/UFPA como requisito necessário para a obtenção do grau de Doutor em Engenharia de Recursos Naturais da Amazônia.

## **BIOCOMPÓSITO A PARTIR DE PLA, BIOVIDRO E NANOTUBOS DE CARBONO POR IMPRESSÃO 3D VISANDO REGENERAÇÃO ÓSSEA**

Esleane Vilela Vasconcelos

Março / 2023

Orientadora: Dra. Verônica Scarpini Candido.

Área de Concentração: Engenharia de Materiais e Metalúrgica.

O comprometimento ósseo promovido pelo envelhecimento e acidentes tem despertado o interesse em biomateriais e tecnologias para fins de regeneração óssea. Assim, a tecnologia de impressão 3D ganhou destaque na produção de *scaffolds* devido à sua versatilidade na produção de geometrias complexas com poros interligados. Neste trabalho, *scaffolds* compostos de poli (ácido lático) (PLA), biovidro (BV) e nanotubos de carbono (NTC) foram produzidos por impressão 3D, utilizando geometria hexagonal, semelhante a favo de mel, intercalado. O poli (ácido lático) é um biopolímero já usado em biomateriais, já o biovidro tem se mostrado uma ótima estratégia para uso em regeneração óssea devido suas excelentes propriedades de biocompatibilidade, bioatividade e osteointegração, contudo possuem baixa resistência mecânica e, os nanotubos de carbono tem mostrado excelente reforço mecânico em biomateriais compósitos. Assim, o objetivo principal deste estudo foi produzir e caracterizar um biocompósito de PLA, biovidro e nanotubos de carbono por impressão 3D e estudar sua estrutura química, cristalinidade e morfologia, usando espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier, espectroscopia Raman, difratometria de raios X e microscopia eletrônica de varredura. A estabilidade térmica do compósito foi avaliada por termogravimetria, as propriedades mecânicas por ensaios de compressão e a viabilidade celular foi determinada pelo teste Alamar Blue. O biovidro foi sintetizado por método sol-gel apresentando fases bioativas de silicato. Os *scaffolds* foram produzidos por impressão 3D com estruturas hexagonais em favo de mel em PLA,

PLA/BV e PLA/NTC que foram impregnados com biovidro em sua superfície. Os resultados dos *scaffolds* demonstraram poros interconectados e bem definidos, variando de 130  $\mu\text{m}$  a 800  $\mu\text{m}$ . Espectroscopia Raman confirmou a interação do BV na matriz polimérica por meio de novos picos no espectro entre 1400 e 2600  $\text{cm}^{-1}$  e a presença das bandas D, G e 2D dos NTC. No ensaio de compressão, os *scaffolds* de PLA com 2 mm de diâmetro demonstraram maior tensão de compressão de  $14,88 \pm 2,35$  MPa, enquanto o PLA/NTC maior módulo de compressão aparente, de  $0,58 \pm 0,36$  GPa. Na viabilidade celular, os testes estatísticos mostraram que não houve uma diferença significativa entre os *scaffolds* com 2 e 4 mm de diâmetro. Os resultados revelam resultados promissores para o uso dos compósitos impressos em 3D no reparo ósseo esponjosos. Assim, sugerimos o compósito de PLA/NTC de 4mm impregnado com BV na superfície como melhor substituto ósseo, entretanto, a aplicação em implantes permanece limitada em relação à integração osteogênica.

Palavras-chave: PLA, Biovidro, Nanotubos de Carbono e Impressão 3D.

Abstract of the Thesis submitted to PRODERNA/UFGA as a necessary requirement for obtaining Resources for the Doctorate Degree in Engineering in the Amazon.

**BIOCOMPOSITE FROM PLA, BIOGLASS AND CARBON NANOTUBES BY 3D PRINTING AIMING AT BONE REGENERATION**

Esleane Vilela Vasconcelos

March / 2023

Advisor: Dra. Verônica Scarpini Candido.

Research Area: Materials and Metallurgical Engineering.

Bone involvement promoted by aging and accidents has aroused interest in biomaterials and technologies for bone regeneration purposes. Thus, 3D printing technology gained prominence in the production of scaffolds due to its versatility in the production of complex geometries with interconnected pores. In this work, scaffolds composed of poly (lactic acid) (PLA), bioglass (BV) and carbon nanotubes (NTC) were produced by 3D printing, using hexagonal geometry, similar to honeycomb, interleaved. Poly (lactic acid) is a biopolymer already used in biomaterials, while bioglass has proven to be an excellent strategy for use in bone regeneration due to its excellent properties of biocompatibility, bioactivity and osteointegration, however they have low mechanical resistance and carbon nanotubes have shown excellent mechanical reinforcement in composite biomaterials. Thus, the main objective of this study was to produce and characterize a biocomposite of PLA, bioglass and carbon nanotubes by 3D printing and to study its chemical structure, crystallinity and morphology, using fourier transform infrared spectroscopy, Raman spectroscopy, X-ray diffraction and scanning electron microscope. The thermal stability of the composite was evaluated by thermogravimetry, mechanical properties by compression tests and cell viability was determined by the Alamar Blue test. The bioglass was synthesized by sol-gel method presenting bioactive phases of silicate. The scaffolds were produced by 3D printing with hexagonal structures in honeycomb in PLA, PLA/BV and PLA/NTC that were impregnated with bioglass on its surface. The results of the scaffolds demonstrated

interconnected and well-defined pores, ranging from 130  $\mu\text{m}$  to 800  $\mu\text{m}$ . Raman spectroscopy confirmed the interaction of BV in the polymer matrix through new peaks in the spectrum between 1400 and 2600  $\text{cm}^{-1}$  and the presence of the D, G and 2D bands of NTC. In the compression assay, PLA scaffolds with 2 mm diameter showed higher compression stress of  $14.88 \pm 2.35$  MPa, while PLA/NTC higher modulus of apparent compression,  $0.58 \pm 0.36$  GPa. In cell viability, statistical tests showed that there was no significant difference between scaffolds with 2 and 4 mm diameter. The results reveal promising results for the use of 3D printed composites in bone repair sponges. Thus, we suggest the composite of PLA/NTC of 4mm impregnated with BV on the surface as the best bone substitute, however, the application in implants remains limited in relation to osteogenic integration.

**Keywords:** PLA, Bioglass, Carbon Nanotube, 3D Printing.

## Sumário

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>16</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>19</b>
2.1	OBJETIVO GERAL.....	19
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	19
<b>3</b>	<b>JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>20</b>
<b>4</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>23</b>
4.1	O TECIDO ÓSSEO.....	23
4.2	BIOMATERIAIS.....	27
4.3	BIOCERÂMICAS.....	30
<b>4.3.1</b>	<b>Biovidro.....</b>	<b>32</b>
4.4	POLI (ÁCIDO LÁCTICO) – PLA.....	42
4.5	NANOMATERIAIS.....	43
<b>4.5.1</b>	<b>Nanotubos de carbono.....</b>	<b>44</b>
4.6	IMPRESSÃO TRIDIMENSIONAL (3D) .....	50
<b>4.6.1</b>	<b><i>Scaffolds</i> favo de mel.....</b>	<b>53</b>
<b>5</b>	<b>METODOLOGIA.....</b>	<b>57</b>
5.1	SÍNTESE DO BIOVIDRO.....	57
5.2	IMPRESSÃO 3D.....	59
<b>5.2.1</b>	<b>Recobrimento do filamento de PLA dopado com BV e NTC para impressão FDM.....</b>	<b>59</b>
<b>5.2.2</b>	<b>Impressão dos compósitos de PLA/ BV e PLA/ NTC por FDM .....</b>	<b>61</b>
<b>5.2.3</b>	<b>Impregnação térmica da superfície dos compósitos com biovidro.....</b>	<b>62</b>
5.3	CARACTERIZAÇÕES MICROESTRUTURAL DO BIOVIDRO E DO COMPÓSITO.....	62
<b>5.3.1</b>	<b>Difração de raios X.....</b>	<b>62</b>
<b>5.3.2</b>	<b>Espectroscopia vibracional no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).....</b>	<b>63</b>
<b>5.3.3</b>	<b>Espectroscopia Raman.....</b>	<b>63</b>
<b>5.3.4</b>	<b>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....</b>	<b>63</b>
<b>5.3.5</b>	<b>Microscopia Óptica.....</b>	<b>64</b>
5.4	ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA.....	64

5.5	ENSAIO DE COMPRESSÃO.....	64
5.6	AVALIAÇÃO DE VIABILIDADE CELULAR.....	65
5.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	66
<b>6</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>68</b>
6.1	CARACTERIZAÇÃO DO PLA.....	68
<b>6.1.1</b>	<b>Difração de raios X .....</b>	<b>68</b>
<b>6.1.2</b>	<b>Espectroscopia vibracional no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).....</b>	<b>68</b>
<b>6.1.3</b>	<b>Espectroscopia RAMAN.....</b>	<b>69</b>
6.2	CARACTERIZAÇÃO DO BIOVIDRO.....	70
<b>6.2.1</b>	<b>Difração de raios X (DRX).....</b>	<b>70</b>
	<b>Espectroscopia vibracional no infravermelho por transformada de</b>	
<b>6.2.2</b>	<b>Fourier (FTIR).....</b>	<b>72</b>
<b>6.2.3</b>	<b>Espectroscopia RAMAN.....</b>	<b>72</b>
<b>6.2.4</b>	<b>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de raio X por energia dispersiva (EDS).....</b>	<b>73</b>
6.3	CARACTERIZAÇÃO DO NANOTUBOS DE CARBONO.....	75
<b>6.3.1</b>	<b>Difratograma de Raios X.....</b>	<b>75</b>
<b>6.3.2</b>	<b>Espectroscopia RAMAN.....</b>	<b>76</b>
6.4	CARACTERIZAÇÃO DOS <i>SCAFFOLDS</i> PRODUZIDO POR IMPRESSÃO 3D.....	77
<b>6.4.1</b>	<b>Características dos filamentos produzidos por impressão 3D.....</b>	<b>77</b>
<b>6.4.2</b>	<b>Aspecto visual dos <i>scaffolds</i>.....</b>	<b>78</b>
<b>6.4.3</b>	<b>Microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos <i>scaffolds</i>.....</b>	<b>80</b>
<b>6.4.4</b>	<b>Espectroscopia Raman.....</b>	<b>83</b>
<b>6.4.5</b>	<b>Análise Termogravimétrica (TGA/ DTG).....</b>	<b>88</b>
<b>6.4.6</b>	<b>Ensaio de Compressão.....</b>	<b>90</b>
<b>6.4.7</b>	<b>Viabilidade Celular.....</b>	<b>99</b>
<b>7</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>103</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>104</b>
	<b>ANEXOS.....</b>	<b>123</b>

## Lista de Figuras

<b>Figura 01</b>	Corte grosso de um osso seco, ilustrando o osso compacto e esponjoso. Adaptado de Junqueira e Carneiro (2013).....	<b>23</b>
<b>Figura 02</b>	Tipos de células no tecido ósseo. Adaptado de Tortora e Derrickson (2016).....	<b>24</b>
<b>Figura 03</b>	Diagrama ternário proposto por Hench. Adaptado de Hench (2006).....	<b>34</b>
<b>Figura 04</b>	Estereoisômeros do PLA: poli-L-láctico (PLLA) e poli-D-láctico (PDLA). Adaptado de Brézulier et al. (2021) .....	<b>42</b>
<b>Figura 05</b>	Representação da estrutura atômica de nanotubos de carbono de parede simples (a) e de parede múltiplas (b). Adaptado de Zarbin (2007) .....	<b>44</b>
<b>Figura 06</b>	Fluxograma das etapas da metodologia.....	<b>57</b>
<b>Figura 07</b>	Reagentes químicos: Nitrato de cálcio tetra-hidratado, nitrato de sódio e ácido cítrico da marca Dinâmica (A). Ortossilicato de tetraetil e fosfato de trietil da marca Sigma (B).....	<b>58</b>
<b>Figura 08</b>	Processo de obtenção do biovidro via rota sol-gel. 8 (A) Solução ácida agitada magneticamente no reator termostado; 8 (B) Gelificação da solução. 8 (C) Gel colocado em estufa. 8 (D) Sinterizado em mufla 8 (E) Peneiramento para obter pó fino.....	<b>58</b>
<b>Figura 09</b>	Preparo dos filamentos para impressão FDM.....	<b>60</b>
<b>Figura 10</b>	Impressora 3D FDM.....	<b>61</b>
<b>Figura 11</b>	Estrutura dos <i>scaffolds</i> projetados com 2 mm (A) e 4 mm (B) de diâmetro de abertura.....	<b>62</b>
<b>Figura 12</b>	Corpos de provas projetados com 4 mm (A) e 2 mm (B) de diâmetro de abertura para ensaio de compressão.....	<b>65</b>
<b>Figura 13</b>	Difratograma do filamento de PLA.....	<b>68</b>
<b>Figura 14</b>	Espectroscopia no infravermelho do filamento de PLA.....	<b>69</b>
<b>Figura 15</b>	Espectro Raman do <i>scaffold</i> de PLA.....	<b>70</b>
<b>Figura 16</b>	Difratogramas do pó das três sínteses de biovidro por sol gel.....	<b>71</b>
<b>Figura 17</b>	Espectroscopia no infravermelho do pó das três sínteses de biovidro.....	<b>72</b>
<b>Figura 18</b>	Espectro Raman do Biovidro.....	<b>73</b>
<b>Figura 19</b>	Micrografias do pó do biovidro.....	<b>74</b>
<b>Figura 20</b>	Espectro de EDS do biovidro sintetizado.....	<b>75</b>
<b>Figura 21</b>	Filamento produzido na impressão 3D.....	<b>77</b>

<b>Figura 22</b>	Difratograma do filamento de PLA, PLA/BV e PLA/NTC produzidos na impressão 3D.....	<b>77</b>
<b>Figura 23</b>	Micrografias dos filamentos de PLA (A), PLA/BV (B) e PLA/NTC (C)..	<b>78</b>
<b>Figura 24</b>	Aspecto visual dos <i>scaffolds</i> produzido por impressão 3D de 4 mm e 2 mm de diâmetro interno em PLA (A), PLA/BV (B) e PLA/NTC (C).....	<b>78</b>
<b>Figura 25</b>	Diferentes vistas dos <i>scaffolds</i> produzido por impressão 3D, vista frontal em A e vista lateral em B.....	<b>79</b>
<b>Figura 26</b>	Vista superior dos <i>scaffolds</i> obtidas por microscópio óptico com amplitude de 10x e zoom de 0.8x. A e B <i>Scaffolds</i> de 4mm de diâmetro de poro, C e D <i>scaffolds</i> de 2mm de abertura.....	<b>79</b>
<b>Figura 27</b>	Micrografias dos <i>scaffolds</i> de PLA (A), PLA/BV (B) e PLA/NTC (C e D).....	<b>80</b>
<b>Figura 28</b>	Micrografias dos <i>scaffolds</i> após a impregnação térmica da superfície com biovidro: PLA (A), PLA/BV (B) e PLA/NTC (C).....	<b>81</b>
<b>Figura 29</b>	Micrografias dos <i>scaffolds</i> impressos: A e B com 2mm diâmetro de abertura e C e D com 4mm de diâmetro de abertura.....	<b>82</b>
<b>Figura 30</b>	Espectro Raman do biovidro (BV) e dos <i>scaffolds</i> antes e após impregnação com biovidro em superfície.....	<b>84</b>
<b>Figura 31</b>	Espectro Raman dos <i>scaffolds</i> de PLA/ NTC antes e após impregnação com biovidro na superfície.....	<b>87</b>
<b>Figura 32</b>	Curvas TGA e DTG do <i>scaffold</i> de PLA/ NTC Impregnado com Biovidro.....	<b>89</b>
<b>Figura 33</b>	Corpos de prova para ensaio de compressão produzidos por impressão FDM com 2 e 4 mm de diâmetro de abertura: PLA (A), PLA/BV (B) e PLA/NTC (C).....	<b>90</b>
<b>Figura 34</b>	Corpos de prova de 2 mm de diâmetro de abertura durante e após ensaio de compressão: PLA (A), PLA/BV (B) e PLA/NTC (C).....	<b>91</b>
<b>Figura 35</b>	Corpos de prova de 4 mm de diâmetro de abertura durante e após ensaio de compressão: PLA (A), PLA/BV (B) e PLA/NTC (C).....	<b>92</b>
<b>Figura 36</b>	Gráfico de resistência a compressão dos <i>scaffolds</i> .....	<b>93</b>
<b>Figura 37</b>	Gráfico de deformação a compressão dos <i>scaffolds</i> .....	<b>95</b>
<b>Figura 38</b>	Gráfico do módulo de compressão aparente dos <i>scaffolds</i> .....	<b>97</b>

**Figura 39** Redução do Alamar Blue nos diferentes intervalos (24, 48 e 72h). Os dados representam a média  $\pm$  desvio padrão da média amostrais de viabilidade celular em fluorescência..... **99**

## Lista de tabela

<b>Tabela 01</b>	Parâmetros utilizados na análise de variância (ANOVA).....	<b>66</b>
<b>Tabela 02</b>	Descrição das siglas de cada <i>scaffold</i> analisado pela espectroscopia Raman.....	<b>84</b>
<b>Tabela 03</b>	Deconvoluções dos picos do espectro Raman dos <i>scaffolds</i> de PLA e PLA impregnado com biovidro.....	<b>85</b>
<b>Tabela 04</b>	Deconvoluções dos picos do espectro Raman dos <i>scaffolds</i> de PLA/BV e PLA/BV impregnado com biovidro.....	<b>86</b>
<b>Tabela 05</b>	Deconvoluções dos picos principais do espectro Raman dos <i>scaffolds</i> de PLA/NTC e PLA/NTC impregnado com biovidro.....	<b>88</b>
<b>Tabela 06</b>	Descrição das siglas de cada <i>scaffold</i> submetido aos testes de ensaio de compressão e biológico.....	<b>90</b>
<b>Tabela 07</b>	Dados gerados pela ANOVA fator único para tensão entre os <i>scaffolds</i> de PLA, PLA/BV e PLA/NTC com 2 e 4 mm de diâmetro de abertura.....	<b>93</b>
<b>Tabela 08</b>	Dados gerados pelo teste de Tukey para tensão entre os <i>scaffolds</i> de PLA, PLA/BV e PLA/NTC com 2 e 4 mm de diâmetro de abertura.....	<b>94</b>
<b>Tabela 09</b>	Dados gerados pela ANOVA fator único para deformação entre os <i>scaffolds</i> de PLA, PLA/BV e PLA/NTC com 2 e 4 mm de diâmetro de abertura.....	<b>96</b>
<b>Tabela 10</b>	Dados gerados pelo teste de Tukey para deformação entre os <i>scaffolds</i> de PLA, PLA/BV e PLA/NTC com 2 e 4 mm de diâmetro de abertura.....	<b>96</b>
<b>Tabela 11</b>	Dados gerados pela ANOVA fator único para módulo de elasticidade entre os <i>scaffolds</i> de PLA, PLA/BV e PLA/NTC com 2 e 4 mm de diâmetro de abertura.....	<b>97</b>
<b>Tabela 12</b>	Dados gerados pela ANOVA fator duplo para teste de redução Alamar Blue entre os <i>scaffolds</i> de PLA, PLA/BV e PLA/NTC com 2 e 4 mm de diâmetro de abertura.....	<b>99</b>
<b>Tabela 13</b>	Dados gerados pelo teste de Tukey para teste de redução Alamar Blue entre o controle e os <i>scaffolds</i> de PLA, PLA/BV e PLA/NTC com 2 e 4 mm de diâmetro de abertura.....	<b>100</b>

## Lista de Símbolos e Abreviações

<b>BV</b>	Biovidro
<b>BG</b>	<i>Bioglass</i>
<b>°C</b>	Graus Celsius
<b>Ca<sub>10</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>(OH)<sub>2</sub></b>	Fórmula química da Hidroxiapatita
<b>Ca/P</b>	Elementos químicos: Cálcio/Fósforo
<b>DRX</b>	Difração de Raios X
<b>EDS</b>	Espectroscopia por Energia Dispersiva
<b>FDA</b>	<i>Food and Drug Administration</i>
<b>FDM</b>	Modelação por Deposição de Material Fundido
<b>FTIR</b>	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier
<b>GPa</b>	Gigapascal
<b>HA</b>	Hidroxiapatita
<b>LCM</b>	Laboratório de Caracterização Mineral
<b>LAMOSIC</b>	Laboratório de Citogenética e Laboratório de Modelagem, Simulação e Controle de Sistemas
<b>MEV</b>	Microscopia Eletrônica de Varredura
<b>Mpa</b>	Megapascal
<b>M</b>	Metro
<b>Nm</b>	Nanômetro
<b>NTC</b>	Nanotubos de Carbono
<b>NTCPMS</b>	Nanotubo de Carbono de Paredes Múltiplas
<b>NTCPS</b>	Nanotubos de Carbono de Paredes Simples
<b>pH</b>	Potencial Hidrogeniônico
<b>PDLLA</b>	Poli D, Lácido Lático
<b>PDLA</b>	Poli-D-lático
<b>PLA</b>	Poli (Ácido Lático)
<b>PLLA</b>	Poli-L-lático
<b>SBF</b>	Fluido Corporal Simulado ( <i>Simulated Body Fluid</i> )
<b>SLS</b>	Sinterização Seletiva a Laser
<b>SPS</b>	Sinterização por Plasma de Faísca ( <i>Spark Plasma Sintering</i> )

## 1 INTRODUÇÃO

Para a sociedade contemporânea, as repercussões do envelhecimento são consideradas importantes no que diz respeito à saúde. Com o aumento da longevidade, o desafio é viver mais, de forma mais saudável e com maior qualidade de vida, tendo-se em vista que o processo de envelhecimento humano aumenta a probabilidade de doenças crônicas degenerativas, assim como, de perda da coordenação motora e, deixa o idoso mais suscetível a quedas que, em muitos casos, são acidentes graves com fraturas ósseas de trincamento ou rompimento (MARI *et al.*, 2016, HEATH *et al.*, 2016).

Frente a este contexto, imprimiu-se a necessidade de investigar materiais biocompatíveis que possam substituir o tecido danificado e prover suporte mecânico, com o mínimo de reação adversa do paciente (DANTAS *et al.*, 2011). Entre os principais materiais investigados, destacam-se os biomateriais, que se diferem das três classes clássicas de materiais: cerâmicos, poliméricos e metálicos, pela matéria-prima, modo de aplicação e tempo de permanência com os tecidos (DASGUPTA *et al.*, 2019). Esses biomateriais podem ser utilizados para reparo de tecidos e restabelecimento de funções orgânicas, como implantes dentários ou de articulações, válvulas cardíacas, lentes de contato ocular, enchimentos para cirurgia plástica, entre inúmeros outros procedimentos (DOS SANTOS *et al.*, 2019).

Segundo PIRES *et al.* (2015), dentre os biomateriais, as biocerâmicas são as que possuem as melhores características de interação com os tecidos vivos e podem ser classificadas como: bioinertes, bioativas e bioreabsorvíveis, de acordo com a sua interação com o tecido hospedeiro. Ao interagir com o tecido circundante a biocerâmica promove a cura, visto que estimula o sistema tissular a responder ao material como se este fosse um tecido natural (BERNARDO *et al.*, 2021).

Entre as biocerâmicas bioativas, o biovidro (BV) e a hidroxiapatita (HA) são as mais utilizadas no processo de reconstituição / substituição do tecido ósseo humano, por apresentarem elevadas propriedades de biocompatibilidade e osteointegração (SZCZES *et al.*, 2017, ARCOS e VALLET-REGÍ, 2020).

O uso do biovidro 45S5 teve início em 1969, quando foi desenvolvido pelo professor Larry Hench. Seu uso atestou excelentes propriedades de interação com os tecidos vivos, sendo considerado um excelente material para restauração de tecidos ósseos (HENCH, 2006). Ao longo dos anos, diversas investigações vêm sendo realizadas com o intuito de melhorar a biocompatibilidade e a bioatividade deste

biomaterial, tendo em vista que, quando implantado, sua superfície entra em contato direto com o ambiente biológico do corpo, podendo haver modificações em suas propriedades (PIRES *et al.*, 2015).

Dentre as técnicas de produção do BV, pode-se utilizar a técnica sol-gel que é caracterizado por um processo simples baseado em misturas de soluções. Essa técnica consiste na síntese de um sol (que é uma suspensão coloidal de partículas sólidas dentro de um líquido) seguido da formação de um gel (que é o resultado estrutural rígido dessas partículas coloidais (gel coloidal) ou de cadeias poliméricas (gel polimérico) que imobilizam a fase líquida em seus interstícios) por reação química ou agregação. Posteriormente, tem-se o tratamento térmico para remoção dos solventes residuais e, quando necessário, acrescenta-se a etapa de cristalização (SHIH *et al.*, 2014, BETANCOURT-PARRA *et al.*, 2019).

Segundo SHIH *et al.* (2014) os vidros bioativos derivados de sol-gel exibem propriedades osteocondutoras, ou seja, apresentam capacidade de desenvolver um novo tecido ósseo. Entretanto, os biovidros possuem de acordo com SIQUEIRA e ZANOTTO (2011), limitações que advêm de sua baixa resistência mecânica, principalmente a resistência à fratura. Como uma forma de tentar sanar esta situação, estudos como o de BIANCO *et al.* (2011) e YANG *et al.* (2011), apontam para a adição de nanotubos de carbono (NTC) como material de reforço no BV, devido sua excelente resistência mecânica, além de suas propriedades terapêuticas.

Nanoestruturas de carbono, como os nanotubos de carbono (NTC) tem se mostrado bastante promissoras para aplicação em compósitos, devido às suas propriedades mecânicas, elétricas e térmicas elevadas. Conforme estudos toxicológicos, a utilização destes nanomateriais como reforço mecânico em biomateriais compósitos é possível devido à sua baixa toxicidade (FISHER *et al.*, 2012, HAMILTON *et al.*, 2018, ZHOU *et al.*, 2017).

Além disso, os vidros bioativos também podem ser usados combinados com polímeros para criar *scaffolds* tridimensionais porosos (3D) para regeneração óssea (RASHIDY *et al.*, 2017). Dentre os polímeros, destaca-se o poli (ácido láctico) (PLA) que é considerado um biomaterial promissor por sua boa biocompatibilidade, bioreabsortividade e resistência mecânica, podendo ser facilmente processado e absorvido pelo corpo humano, sendo um material de grande interesse para criação de *scaffolds* ósseos (WURM *et al.*, 2017, ZOU *et al.*, 2019). Além do mais, as combinações de materiais podem produzir efeito sinérgico de suas propriedades como

constatado na pesquisa de MOURA *et al.* (2020), onde foi obtido esse efeito pela adição de biovidro e nanotubos de carbono em membranas porosas de PLA e que apresentaram alta bioatividade e atividade antimicrobiana contra todos os microrganismos testados.

Um importante aspecto na produção de *scaffolds* é a porosidade já que os poros favorecem a adesão, o crescimento celular, o transporte de nutrientes, a excreção de metabólitos e o crescimento de novos tecidos ósseos. Atualmente, as tecnologias de impressão 3D são opções de fabricar *scaffolds* ósseos em PLA garantindo, assim, a porosidade e interconectividade entre poros desejável para o biomaterial (FENG *et al.*, 2021).

Com relação à técnica de impressão 3D, podemos citar a modelagem de deposição fundida (FDM) para produção de *scaffolds*, com a vantagem de baixo custo, reprodutibilidade, controle de tamanho, geometria, interconectividade dos poros produzidos e a combinação de materiais que podem ser utilizados no processo, sendo fatores importantes que favorecem crescimento e diferenciação celular e a vascularização tecidual (KORPELA *et al.*, 2013, KHOSRAVANI e REINICKE, 2020).

Dessa forma, desenvolver biocompósitos que possam ter propriedades comparáveis as dos materiais utilizados em preenchimento e restauração óssea e com propriedades semelhantes às do tecido ósseo é sempre um desafio. No entanto, sua busca, produção e aperfeiçoamento é de suma importância para a saúde pública, pois poderão promover a manutenção da saúde, através da regeneração de tecidos e suas respectivas funções, que implicarão positivamente no aumento da expectativa de vida da população, uma vez que viabilizarão alternativas terapêuticas para o reparo de tecidos.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver e caracterizar biocompósito de PLA, biovidro e nanotubos de carbono com geometria intercalada de favos de mel (*honeycomb scaffolds*) por impressão 3D.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Estudar uma rota de síntese para produzir biovidro com fases bioativas a partir de ácido orgânico com ênfase para silicato de cadeia curta;

Estudar a microestrutura do biovidro e *scaffolds* produzidos por impressão 3D;

Avaliar a influência do tamanho da abertura e geometria dos *scaffolds* nas propriedades mecânicas dos biocompósitos;

Investigar a influência do biovidro e dos nanotubos de carbono nas propriedades mecânicas do biocompósito;

Avaliar a viabilidade celular *in vitro* dos *scaffolds* produzidos por impressão 3D.

### 3 JUSTIFICATIVA

Estima-se que 684.000 quedas fatais ocorram anualmente, tornando o problema a segunda principal causa de morte do mundo por trauma não intencional, atrás apenas de colisões de trânsito. Além disso, 80% das mortes relacionadas à queda estão em países em desenvolvimento, estando as maiores taxas de mortalidade por essa causa com àqueles com mais de 60 anos de idade. (WHO, 2021).

Nos Estados Unidos, no ano de 2019 segundo dados do Centros de Controle e Prevenção de Doenças (CDC), foram registradas pelo departamento de emergência 3 milhões de atendimentos por queda em idosos de 65 anos ou mais, destes, 34 mil evoluíram a óbito (CDC, 2021). Neste mesmo ano, no Brasil, a queda foi responsável pelo óbito de 12.182 mil indivíduos na faixa etária de 60 anos ou mais. Sendo a segunda causa de morte acidental nos Estados Unidos e a terceira no Brasil (DATASUS, 2020).

De acordo com SILVEIRA *et al.* (2020), no período de 2000 até 2018, foram contabilizadas 1,48 milhões de hospitalizações por quedas em idosos no Brasil, com uma média de 68.148 internações por ano. O número absoluto dessas oscilou de 51.193 (em 2000) até 123.775 (em 2018), correspondendo a uma taxa média de 38,6 a cada 10 mil idosos. No que concerne aos gastos hospitalares federais do SUS nos últimos 18 anos, a média foi de R\$135,58 milhões, variando de R\$112,89 em 2000 até R\$ 194,98 milhões em 2018 (SILVEIRA *et al.*, 2020).

Embora não seja sempre fatal, cerca de 37,3 milhões de quedas a cada ano são graves o suficiente para exigir cuidados médicos (WHO, 2021). Nos Estados Unidos, em 2011, elas representaram 65% das visitas nas emergências por lesões não intencionais (DEGRAUW, *et al.*, 2016). Já no Brasil totalizaram 41% das internações por causas externas (MASCARENHAS e BARROS, 2015).

A grande preocupação do profissional geriatra hoje com relação ao evento da queda, não é sua ocorrência em si e sim as consequências advindas com o trauma, dentre elas, a mais temida é a fratura óssea e as complicações associadas a ela como: restrição ao leito, limitação funcional, dor crônica, osteomielite, síndrome comportamental, embolia e até mesmo a morte (STOLT *et al.*, 2020, ALVES *et al.*, 2016).

O sistema esquelético é responsável por funções fundamentais para a manutenção da vida com qualidade, pois é o sistema responsável pela sustentação, locomoção e proteção de órgãos, além de produzir células sanguíneas, e as biocerâmicas

têm sido uma alternativa biocompatível para melhorar as condições de vida dos seres humanos que precisam de substituição óssea (PIELICHOWSKA e BLAZEWICZ, 2010). Devido ao processo de envelhecimento, adoecimento e acidentes há uma crescente necessidade de reparar tecidos danificados, como ossos, ou substituí-los por novos e saudáveis (EIVAZZADEH-KEIHAN *et al.*, 2019).

Dentre os possíveis substitutos ósseos, destaca-se o biovidro, uma biocerâmica que apresenta excelentes propriedades de interação com os tecidos vivos, sendo também considerado um excelente material para restauração de tecidos ósseos devido suas propriedades de biocompatibilidade e bioatividade, ou seja, sua capacidade de ligar fortemente ao tecido ósseo (BAINO *et al.*, 2016).

Apesar de suas importantes propriedades, as biocerâmicas apresentam limitações relacionados às suas propriedades mecânicas, que tendem a limitar suas aplicações a materiais que não exijam demasiada carga (VIANA *et al.*, 2020). Como meio de sanar esta fragilidade, observa-se na literatura a utilização de nanotubos de carbono, que além de conferir benefícios a materiais de substituição óssea, tais como melhora da integração biológica e regeneração, aumentam a resistência mecânica do biomaterial (LAHIRI *et al.*, 2012, COSTA *et al.*, 2014, PIRES *et al.*, 2015, ZHANG *et al.*, 2017).

Destaca-se que a similaridade das biocerâmicas com o componente inorgânico da matriz óssea é o que contribui para o desenvolvimento de métodos sintéticos de preparação desses materiais para serem aplicados como um substituto ósseo e / ou para preenchimento de ossos (SZCZEŚ *et al.*, 2017, BULINA *et al.*, 2020). Contudo, as biocerâmicas possuem baixa resistência mecânica o que pode influenciar nas aplicações de alguns tipos de enxertos ósseos, especialmente em áreas sujeitas a elevado esforço mecânico (DA SILVA *et al.*, 2020, VIANA *et al.*, 2020).

Já entre os diferentes tipos de polímeros bioabsorvíveis e biocompatíveis utilizados em aplicações biomédicas, destaca-se o PLA que possui elevadas propriedades mecânicas e, já muito usado na área médica com aprovação de órgão fiscalizador, *Food and Drug Administration* (FDA), dessa forma, sendo indicado na produção de *scaffolds* para regeneração óssea (ZHANG *et al.*, 2021). Os *scaffolds* podem ser produzidos por impressão 3D, sendo a técnica de deposição de material fundido (FDM) vantajosa por favorecer uma produção personalizada, com estrutura de alta complexibilidade, além de ser rápida e econômica (KORPELA *et al.*, 2013).

Dessa forma, BERNARDO *et al.* (2021) afirma que os materiais compósitos, possuem a finalidade de melhorar e / ou criar propriedades distintas nos materiais por

meio da mistura das fases. Assim, justifica-se a importância de se formar um biocompósito de PLA, biovidro e nanotubos de carbono que possa combinar a osteocondutividade do biovidro com as propriedades mecânicas dos nanotubos de carbono em uma estrutura porosa de PLA que favoreça o crescimento celular e, assim contribuir para aplicação deste na área de biomateriais para regeneração óssea.

Sendo assim, a pesquisa tem por ineditismo o desenvolvimento de *scaffolds* com geometria de aberturas hexagonal intercaladas por impressão 3D a partir de PLA, BV e NTC visando aplicação em regeneração óssea.

## 4 REVISÃO DA LITERATURA

### 4.1 O TECIDO ÓSSEO

O tecido ósseo é classificado como um tecido conjuntivo especializado, que possui alta vascularização e capacidade única de regeneração que se modifica ao longo da vida. Esse tipo de tecido é caracterizado por sua rigidez e dureza, e é responsável pelo suporte mecânico do esqueleto, promovendo proteção aos órgãos internos e movimento juntamente com o sistema muscular (KATCHBURIAN e ARANA, 2012, FLORENCIO-SILVA *et al.*, 2015, WANG e YEUNG, 2017, OGUERI *et al.*, 2019).

Além destas funções, os ossos funcionam como depósitos de cálcio, fosfato e outros íons, armazenando-os e / ou liberando-os de maneira controlada, para manter constante a concentração desses íons nos líquidos corporais (KATCHBURIAN e ARANA, 2012, JUDAS *et al.*, 2012, FLORENCIO-SILVA *et al.*, 2015).

De acordo com TURNBULL *et al.* (2017) o osso pode ser dividido em cortical / compacto e trabecular / esponjoso, além da cavidade medular, como pode ser observado na Figura 1, que apresenta a micrografia do osso.



Figura 1: Corte grosso de um osso seco, ilustrando o osso compacto e esponjoso. Adaptado de Junqueira e Carneiro (2013).

O osso compacto está presente nas camadas externas dos ossos longos e os ossos esponjosos encontram-se nos ossos planos, cubóides e nas extremidades dos ossos longos (TURNBULL, *et al.*, 2017). Ossos compactos são sólidos, com porosidade menor que 10%, revestidos externamente por uma membrana de tecido conjuntivo, o perióstio e internamente, pelo endóstio, responsáveis por nutrir o osso e servir como fonte de osteoblastos para a osteogênese (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013).

Já os ossos esponjosos são organizados em poros, assemelhando-se a uma esponja, que permite o alojamento da medula óssea, estando presente na metafise dos

ossos longos, crista ilíaca e corpos vertebrais. A porosidade de um osso tem relação direta com suas propriedades mecânicas, entendendo que quanto maior a porosidade, menor a resistência e a massa do material (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013, JAMMALAMADAKA e TAPPA, 2018).

Dentre as células que constituem o tecido ósseo, destacam-se os osteoblastos, osteócitos e os osteoclastos, como mostrado na Figura 2 (ORYAN *et al.*, 2015).

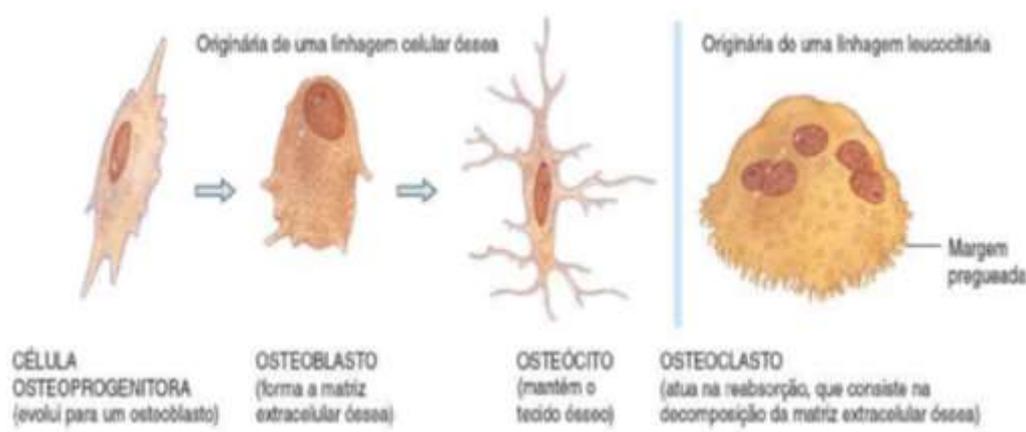


Figura 2: Tipos de células no tecido ósseo. Adaptado de Tortora e Derrickson (2016).

Os osteoblastos são células cúbicas e cilíndricas baixas, que sintetizam a parte orgânica da matriz óssea (colágeno tipo I, proteoglicanas e glicoproteínas adesivas) e concentram o fosfato de cálcio, participando da mineralização da matriz (ISOLA e MORAES, 2012, HANKENSON *et al.*, 2015, GU *et al.*, 2017).

Os osteócitos por sua vez, são osteoblastos maduros incorporados pela matriz óssea mineralizada que podem ser encontrados na superfície óssea, principalmente no endóstio e na superfície do perióstio. São células discóides, achatadas, localizadas em lacunas, das quais partem canalículos preenchidos por projeções citoplasmáticas responsáveis pela comunicação entre os osteócitos, mantendo a troca de pequenas moléculas e íons entre eles (JUDAS *et al.*, 2012, RABELO *et al.*, 2015, HANKENSON *et al.*, 2015, GU *et al.*, 2017).

No que concerne aos osteoclastos, trata-se de células grandes, móveis, multinucleadas, diferenciadas a partir de células da linhagem hematopoiética da medula óssea, que atuam na remodelação óssea e na renovação do tecido ósseo. Sendo de suma importância a cooperação entre os osteoclastos e osteoblastos para a formação, remodelação e reparo do osso, assim como para a manutenção da homeostase do cálcio

e do fosforo no organismo (JUDAS *et al.*, 2012, GRABOWSKI, 2015, HANKENSON *et al.*, 2015, GU *et al.*, 2017).

Já a matriz óssea é composta por duas partes, a orgânica e a inorgânica. A parte orgânica é formada por fibras de colágeno, principalmente do tipo I, por proteoglicanos e glicoproteínas. Já a parte inorgânica é formada principalmente por fosfato e cálcio, podendo também se encontrar bicarbonato, potássio, magnésio, citrato e sódio, sendo a associação das fibras de colágeno com a hidroxiapatita a responsável pela dureza e resistência do osso (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013, CHEN *et al.*, 2014, EV e UJ, 2015, BULINA *et al.*, 2020).

Segundo JUNQUEIRA e CARNEIRO (2013) se a parte inorgânica for retirada da matriz celular, o osso passa a apresentar elevada flexibilidade, já se a parte orgânica for retirada, este se torna quebradiço. Assim entende-se que o tecido ósseo é um composto que combina cerâmica (hidroxiapatita ou fosfato de cálcio) e polímero (colágeno).

Desta maneira, a formação do tecido ósseo consiste nas seguintes etapas: ossificação, crescimento ou osteogênese, remodelagem e reparação óssea. A remodelação óssea é um mecanismo de substituição ou de reconstrução de áreas de tecido ósseo de modo a preservar a integridade, otimizar a função e prevenir a degradação óssea. Sendo a principal via de alteração da forma óssea, da resistência a esforços, de reparo de feridas e, da homeostasia de cálcio e fosfato do organismo. Processo que advém de duas atividades opostas, mas complementares: a formação e a reabsorção do tecido ósseo a cargo das células das linhas osteoblástica e osteoclástica (JUDAS *et al.*, 2012, BIGHAM-SADEGH e ORYAN, 2014).

Desta forma, elimina-se uma porção de osso velho, substituindo-o por osso novo, com pouca ou nenhuma alteração da massa óssea e assegura-se, também, a substituição de osso imaturo por osso maduro ou lamelar. Assim, os mecanismos de remodelação óssea permitem não só a constante adaptação funcional e otimização das estruturas ósseas, como ajudam a remover e reparar áreas de tecido danificado (JUDAS *et al.*, 2012).

No que concerne à fase de reparo ósseo, esta se dá por cicatrização ou por regeneração. No processo de cicatrização o restabelecimento tecidual ocorre de forma parcial e o reparo ocorre por um tipo de tecido diferente do original. Já a regeneração é caracterizada pelo reparo que restabelece a forma e função original do tecido de maneira integral (ISOLA e MORAES, 2012, ZIZZARI, *et al.*, 2016).

Para melhor compreender o processo de regeneração óssea, três conceitos devem ser apresentados: a osteogênese, a osteocondução e a osteoindução. A osteogênese é descrita como a transferência direta de células vitais com potencial osteogênico para a área onde ocorrerá o processo de regeneração e formação do novo osso. A osteocondução trata do fornecimento do espaço e de um substrato para os eventos celulares e bioquímicos progredindo para a formação óssea. E a osteoindução incorpora o princípio da conversão de células pluripotenciais, derivadas de mesênquima em osteoblastos, com a formação subsequente do osso (HANKENSON *et al.*, 2015, MEDEIROS *et al.*, 2017, PILGER, *et al.*, 2018).

Entretanto, a capacidade de regeneração e cicatrização podem ser insuficientes em defeitos ósseos de grandes dimensões, uma vez que para haver cicatrização no processo de reparo é fundamental a existência de uma continuidade óssea no local. Sendo necessário nestes casos a realização de procedimentos reconstrutivos como enxerto e/ou implante (ISOLA e MORAES, 2012, JAMMALAMADAKA e TAPPA, 2018, TRINDADE *et al.*, 2021).

Segundo RODOLFO *et al.* (2017), o termo enxerto é definido por como uma peça de tecido que é transferida de um leito doador para um leito receptor com o objetivo de reconstruí-lo. Já o implante é definido como a inserção de um tecido não vital em um sistema biológico, ou seja, é considerado implante todo biomaterial que não apresenta células vivas, como por exemplo, a hidroxiapatita e o implante metálico, entre outros (PILGER, *et al.*, 2018).

No que concerne a prática de substituição e / ou reconstituição, a técnica de enxertia é restrita à quantidade limitada de tecido, a ausência de biocompatibilidade, a processos de infecção e a rejeição imunológica (SOWJANYA *et al.*, 2013, CUERVO-LOZANO *et al.*, 2018). Já os implantes apresentam limitações por não terem como funcionalidade a regeneração, mas sim uma estruturação mecânica (RODOLFO *et al.*, 2017).

Desta maneira, existe a necessidade de se continuar desenvolvendo estudos que possam aprimorar as práticas de substituição e / ou regeneração de tecidos por meio de biomateriais.

## 4.2 BIOMATERIAIS

Os biomateriais são materiais biocompatíveis utilizados para restauração e / ou substituição de tecidos, órgãos ou funções do corpo humano que deixaram de ser desempenhadas. Sendo definidos, como qualquer substância ou combinação de substâncias (exceto fármacos), de origem artificial ou natural, utilizados para assumir ou restaurar a forma e / ou função, de uma estrutura biológica do corpo humano que foi perdida ou debilitada (CHEN e THOUAS, 2015, CLAUDINO *et al.*, 2019).

Segundo LEITE *et al.*, (2018), o biomaterial é definido como uma substância ou combinação de substâncias, de origem natural ou sintética, que pode ser usada como parte ou como o todo de um sistema do corpo humano, e visa avaliar, tratar, aumentar, restaurar ou substituir um tecido, órgão ou função do corpo.

Embora não seja possível generalizar quais devam ser as características requeridas dos biomateriais, por dependerem de sua aplicação, alguns tipos de propriedades são frequentemente avaliados para que o projeto do dispositivo possa ser realizado de forma efetiva e economicamente atraente, como: propriedades biológicas, físicas, mecânicas e químicas (PIRES *et al.*, 2015).

Dentre as propriedades biológicas, tem-se a biocompatibilidade, com frequência associada à hemocompatibilidade, citotoxicidade, alergenicidade e estimulação de adesão e proliferação celular. Trata-se de uma propriedade que é caracterizada por evitar a ocorrência de reações imunológicas locais e danos que prejudiquem o paciente, ocasionados pela rejeição do corpo humano a tecidos, órgãos e sistemas afastados do local implantado (PIRES, *et al.*, 2015, SU *et al.*, 2017, LI *et al.*, 2018, SUVANEETH e NAIR, 2018).

Quanto às propriedades físicas, há a preocupação quanto à morfologia da superfície, energia superficial, encaixe anatômico, rugosidade, porosidade, cor, transparência e permeabilidade. Já nas propriedades mecânicas, observa-se a tensão de ruptura, alongamento e flexibilidade; e nas propriedades químicas a densidade, estabilidade, resistência à esterilização e forma de degradação quando em contato com o organismo (PIRES *et al.*, 2015).

Dentre esses critérios é imprescindível que os biomateriais tenham biocompatibilidade e bioatividade, ou seja, atenda ao requisito para o qual foram desenvolvidos. O que dependerá das formas de interação do organismo com o material levando em consideração quatro aspectos importantes: fenômenos físico-químicos de interface tecido e material; respostas dos tecidos e meio orgânico a presença do

material; mudanças ocorridas nos materiais por ação do meio e, reação de alguma parte do corpo não diretamente em contato com o implante (NASCIMENTO e LOMBELLO, 2016, SUVANEETH e NAIR, 2018).

Na característica que se relacionam com a interface implante - tecido, os biomateriais são denominados biotoleráveis, quase bioinerte (pois nenhum material é totalmente inerte, o que se comprova pela formação da cápsula fibrosa) e bioativo. Os biotoleráveis são aqueles materiais apenas tolerados pelo organismo, sendo isolados dos tecidos adjacentes por meio da formação de uma camada envoltória de tecido fibroso. Esta camada é induzida pela liberação de compostos químicos, íons, produtos de corrosão e outros por parte do material implantado (ALLO, *et al.*, 2012, FERNANDEZ-YAGUE, *et al.*, 2014, PILGER, *et al.*, 2018).

De acordo com SILVA *et al.* (2011), quanto maior a espessura da camada de tecido fibrosa formada, menor a tolerabilidade dos tecidos ao material. Os materiais biotoleráveis são praticamente todos os polímeros sintéticos, assim como, a grande maioria dos metais.

Semelhante aos materiais biotoleráveis, tem-se os quase bioinertes que também são tolerados pelo organismo, mas que apresentam espessura mínima quanto à formação do envoltório fibroso, tendo em vista que a resposta local do sistema imunológico é quase inexistente (FERNANDEZ-YAGUE, *et al.*, 2014, SUVANEETH e NAIR, 2018). Nestes casos, o material implantado libera quantidades mínimas de produtos químicos. Dentre estes os mais utilizados são a zircônia, alumina, titânio e suas ligas, o carbono e o aço inoxidável (EL-GHANNAM e DUCHEYNE, 2017, SUVANEETH e NAIR, 2018).

Já os bioativos são aqueles que formam ligações químicas com o tecido, como por exemplo o tecido ósseo (osteointegração), sem a interposição de tecido fibroso pela formação de uma camada de hidroxiapatita (HA), o que favorece a neoformação e regeneração tecidual. Ligações que somente são possíveis pela similaridade química existente entre o tecido ósseo e o implante, conferindo-lhe osteocondutibilidade, devido ao recobrimento da superfície do material por células ósseas (PILGER, *et al.*, 2018, TÜRE, 2019). Os principais materiais desta classe são os biovidros, as vitrocerâmicas a base de fosfatos de cálcio, a hidroxiapatita e os compósitos de fosfato de cálcio (SUVANEETH e NAIR, 2018).

Outras características relacionadas aos biomateriais estão relacionadas ao comportamento de degradação do material, podendo ser: biodegradáveis, bioreabsorvíveis e bioabsorvíveis.

Os biodegradáveis são os biomateriais que, devido à deterioração, sofrem dispersão *in vivo*, mas sem a eliminação dos subprodutos pelo organismo. Eles podem ser atacados por elementos biológicos de forma que a integridade do sistema seja afetada e podem formar fragmentos ou outros subprodutos de degradação que podem ser removidos do seu local de ação, mas não necessariamente do organismo (ZHANG e WILLIAMS, 2019, FERNANDEZ-YAGUE, *et al.*, 2014, LIU *et al.*, 2019).

Já os biorreabsorvíveis, são materiais que após a colocação dentro do corpo humano começam a se dissolver e lentamente são substituídos pelo avanço do tecido (como o osso), neste processo há a eliminação total do material implantado e dos subprodutos da degradação, que são compostos de baixa massa molar, sem causar efeitos colaterais (SUVANEETH e NAIR, 2018); enquanto os bioabsorvíveis são os que podem se dissolver em fluidos corpóreos sem quebra estrutural ou diminuição da massa molecular (FERNANDEZ-YAGUE, *et al.*, 2014).

Quanto aos tipos de materiais, os biomateriais podem ser classificados como materiais metálicos, cerâmicos e poliméricos isoladamente ou em combinações (compósitos) (BOSE *et al.*, 2018). A classe dos metais apresenta excelente desempenho mecânico, como alta resistência à fadiga e à fratura. Devidos suas características, têm sido amplamente utilizados como componentes estruturais visando à substituição, reforço ou estabilização de tecidos rígidos, os quais são constantemente submetidos a altas cargas de tração e compressão (PIRES *et al.*, 2015).

Já as cerâmicas, conforme a Associação Brasileira de Cerâmica (ABCERAM, 2021) são compostos inorgânicos, não metálicos, frágeis e tendem a se comportar como materiais de baixa condutividade elétrica e térmica. De forma geral, as cerâmicas são menos densas do que a maioria dos metais e suas ligas possuem boa estabilidade química, sendo mais resistentes ao desgaste e à compressão, características que lhes tem garantido diversas aplicações biomédicas como próteses ortopédicas, dispositivos para a reconstrução odontológica, preenchimentos ósseos e outras (CALLISTER JR, 2015, PIRES *et al.*, 2015).

No que concerne aos polímeros, estes são macromoléculas de alta massa molar formada por ligações de unidades repetitivas menores (meros) ao longo da cadeia principal. Apresentam baixa densidade e resistência à temperatura e baixa

condutividade elétrica e térmica. São obtidos a partir de reações de polimerização ou de origem biológica, sendo classificados como sintéticos e naturais. Os biopolímeros compõem uma grande variedade de materiais usados em aplicações biomédicas, devido suas características físico-químicas e sua versatilidade estrutural, permitindo adequar propriedades em cada aplicação específica (ABIDIN *et al.*, 2012, ORÉFICE *et al.*, 2012, KANAGAMADHURA *et al.*, 2019).

Os compósitos são uma classe de materiais constituídos por uma fase contínua chamada matriz e uma fase dispersa de reforço ou modificador separado por interfaces, cujas características podem incorporar propriedades combinadas dos constituintes individuais. O material de reforço ou modificador pode ser utilizado na forma de fibras ou partículas e é adicionado com diversos objetivos, como, por exemplo, melhorar propriedades mecânicas, aumentar a taxa de degradação, melhorar a biocompatibilidade e bioatividade ou até mesmo, controlar o perfil de liberação de fármacos (POLETTI, 2017, BERNARDO *et al.*, 2021).

Assim, para a melhor escolha de um biomaterial, além das propriedades biológicas e da classificação dos biomateriais, deve-se ter fundamentado como critério de seleção do material, o seu destino de aplicação e suas propriedades físicas, químicas e mecânicas, para assim atingir a melhor eficiência e resolutividade do produto almejado.

#### 4.3 BIOCERÂMICAS

As biocerâmicas começaram a ser pesquisadas no final da década de 60, como revestimento para aumentar a biocompatibilidade de implantes metálicos. Geralmente, as cerâmicas apresentam densidade moderada, elevada biocompatibilidade e boa resistência à compressão, podendo ser utilizada como substituto de tecidos duros como ossos e dentes. No entanto, como limitações, as cerâmicas apresentam baixa tenacidade à fratura e dificuldade de processamento, além de perder parte de suas propriedades mecânicas ao sofrer degradação em meio fisiológico (ANDRADE, 2006).

Conforme sua interação com o tecido hospedeiro os biomateriais cerâmicos podem ser classificados como bioinertes, bioreabsorvíveis e bioativas. Dentre as bioinertes, tem-se a alumina, que é bem tolerada pelo organismo, e consiste em uma cerâmica de forma molecular  $Al_2O_3$ , altamente inerte e resistente à maioria dos ambientes corrosivos. Sob condições fisiológicas é praticamente inerte, causando pouca ou nenhuma resposta dos tecidos em volta. As principais características que tornam a

alumina adequada como biomaterial incluem: alto grau de inércia química sob condições fisiológicas; alta resistência de uso; habilidade de ser polida com alto acabamento superficial; e sua, dureza excelente (KRIEGER, 2003).

Conforme LA FLAMME e POPAT (2007) a alumina vem sendo utilizada como substituto ósseo, devido à sua elevada dureza e resistência ao desgaste, propriedades mecânicas que são semelhantes às do osso, podendo ser encontrada em diferentes fases: alpha, theta e delta. Sendo que a delta favorece a adesão e a proliferação celular, mas, no entanto, é muito instável, ao contrário da alumina alpha, que é a mais estável mecânica e termodinamicamente.

No organismo, as biocerâmicas bioreabsorvíveis participam do processo metabólico sofrendo degradação por ações químicas ou biológicas, sendo lentamente substituídas por células em crescimento (HENCH e BEST, 2013).

Neste grupo, tem-se as biocerâmicas de fosfato de cálcio, que apresentam destaque por sua alta biocompatibilidade com tecidos e células e por sua grande capacidade de se aderir ao tecido hospedeiro. Tais características são decorrentes da natureza química desses materiais que são formados basicamente de íons de cálcio e de fosfato, que participam diretamente do equilíbrio iônico necessário para o material e para o tecido. Entre as cerâmicas de fosfato de cálcio as mais estudadas são as de fosfato tricálcio, com fórmula química  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  e a Hidroxiapatita com fórmula  $(\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2)$  (KAWACHI *et al.*, 2000, VIANA *et al.*, 2020).

Frisa-se que as biocerâmicas de fosfato de cálcio projetadas para reparar e reconstruir partes do corpo danificadas possuem como característica principal, a sua composição química similar a da fase mineral do tecido ósseo. Característica que lhe permite uma melhor adesão celular, pois as células reconhecem o material como próprio do seu organismo, sobretudo em tecido mais rígido, como o osso e o conjuntivo fibroso (TURRER e FERREIRA, 2008, DOROZHKIN, 2010).

Já as biocerâmicas bioativas interagem com o tecido circundante, estimulam a cura e o sistema tissular a responder ao material como se este fosse um tecido natural. Como exemplos destas, destacam-se a hidroxiapatita, os biovidros e as vitrocerâmicas (HENCH e BEST, 2013).

Os biovidros são vidros biocompatíveis desenvolvidos para aplicações em regeneração óssea, que apresentam o fenômeno de bioatividade quando em contato com um tecido biológico (JONES, 2013). Quando implantado no organismo, forma-se na superfície desse material uma camada de hidroxiapatita carbonatada biologicamente

ativa, responsável pela forte ligação interfacial ao tecido ósseo (SIQUEIRA e ZANOTTO, 2011).

Já as vitrocerâmicas, são biovidros parcialmente cristalizados, com resistência mecânica suficiente para que possam ser facilmente usinados, quando destinados a aplicação cirúrgica ou dentária. Em geral, as vitrocerâmicas além de apresentar boa resistência mecânica, são estáveis durante maior tempo, devido à menor solubilidade quando comparados com outros vidros (SIQUEIRA e ZANOTTO, 2011).

De acordo com BAINO *et al.* (2016) e JONES (2015), o biovidro pode ser aplicado tanto em tecidos duros quanto em tecidos moles, para reparo e ou estímulo regenerativo, propriedade que o torna altamente atraentes para medicina regenerativa.

Frente ao processo de aplicação do biovidro em tecidos moles, NASERI *et al.* (2017) destacam o processo de cicatrização de feridas de pele, onde tal processo pode ser acelerado através da manipulação de compósitos de biovidros e outras substâncias, que lhes conferem propriedades químicas e físicas específicas, de acordo com a necessidade.

Embora o biovidro e a vitrocerâmica apresentem excelente biocompatibilidade e favoreçam uma desejada interação entre o osso e o implante, SILVA (2017) informa que eles apresentam uma baixa resistência mecânica para suportar cargas estáticas e dinâmicas, que os restringe as aplicações de preenchimento de defeitos ósseos e recobrimento de prótese metálicas ortopédicas.

Assim, entende-se que a principal aplicação das biocerâmicas bioativas como biomateriais são de reparo de defeitos ósseos que costumam ocorrer devido a traumas ou doenças, podendo também ser utilizadas para outras finalidades.

#### **4.3.1 Biovidro**

Hench (2006) em seus estudos, direcionados a criação de materiais quimicamente semelhantes à estrutura óssea, conseguiu produzir diferentes vidros que apresentaram a capacidade de se ligar quimicamente com os tecidos vivos. Por meio desta conquista científica, criou-se a classe de vidros classificada como biovidros ou vidros bioativos.

O primeiro vidro bioativo foi criado em 1969 por Larry Hench, professor da Universidade da Flórida. Hench começou o seu trabalho com a motivação de encontrar um material que se pudesse ligar biologicamente ao tecido ósseo. Na época, o coronel Klinker do Exército dos Estados Unidos, que acabara de regressar da guerra do

Vietnam, questionou Hench acerca da possibilidade de se desenvolver materiais que pudessem sobreviver ao ambiente agressivo do corpo humano, pois o problema era recorrente e todos os materiais implantáveis disponíveis no momento como os metais e os polímeros, desencadeavam reações de corpo estranho (encapsulamento fibroso) após a implantação, em vez de formar uma interface estável e duradoura com os tecidos circundantes (HENCH, 2006).

Foi então que Hench a partir do sistema  $\text{Na}_2\text{O}-\text{CaO}-\text{SiO}_2-\text{P}_2\text{O}_5$ , sintetizou o primeiro vidro bioativo, com elevado teor de cálcio e com uma composição próxima do ternário  $\text{Na}_2\text{O}-\text{CaO}-\text{SiO}_2$ , capaz de fazer adesão química forte com o osso adjacente. A composição 45%  $\text{SiO}_2$ , 24.5% de  $\text{CaO}$ , 24.5%  $\text{Na}_2\text{O}$  e 6%  $\text{P}_2\text{O}_5$  (% expressa em peso), ficou conhecida como 45S5, o Bioglass®. O nome "45S5" refere-se ao teor de  $\text{SiO}_2$  (45% em peso) e à razão molar  $\text{Ca}/\text{P} = 5$  (KRISHNAN e LAKSHMI, 2013, HENCH, 2013).

De acordo com JONES *et al.* (2016) o vidro bioativo possui a habilidade de formar uma camada biologicamente ativa de hidroxiapatita com composição química e estrutura semelhante a do tecido ósseo, o que lhe permite formar uma forte ligação com o tecido ósseo. Fato que lhe conferiu o uso do termo de “bioatividade”, que segundo SIQUEIRA e ZANOTTO (2011), passou a ser utilizado, para descrever a habilidade que um material possui de se ligar fortemente ao tecido ósseo.

Durante o desenvolvimento do biovidro 45S5, foram avaliadas diferentes composições no sistema quaternário  $\text{SiO}_2-\text{CaO}-\text{Na}_2\text{O}-\text{P}_2\text{O}_5$ , onde a sílica foi utilizada com o objetivo de formar a rede, os óxidos de cálcio e fósforo para constituir a hidroxiapatita e o óxido de sódio para facilitar a fusão e processabilidade do material (JONES, 2015).

Segundo CHEN *et al.* (2006) a composição do vidro bioativo 45S5 possui alta biocompatibilidade e variações desta, podem alterar suas características de bioatividade, biorreabsorção e reposta celular.

A avaliação da resposta desses vidros quando em contato com tecidos do organismo resultou no diagrama de composição, no qual a proporção mássica de  $\text{P}_2\text{O}_5$  foi fixada em 6% mássico (HENCH, 2006).

No diagrama de fases proposto por Hench, são indicadas as possíveis composições dos vidros bioativos do sistema  $\text{Na}_2\text{O}-\text{CaO}-\text{SiO}_2-\text{P}_2\text{O}_5$  e suas classificações de acordo com sua composição e bioatividade (Figura 3).

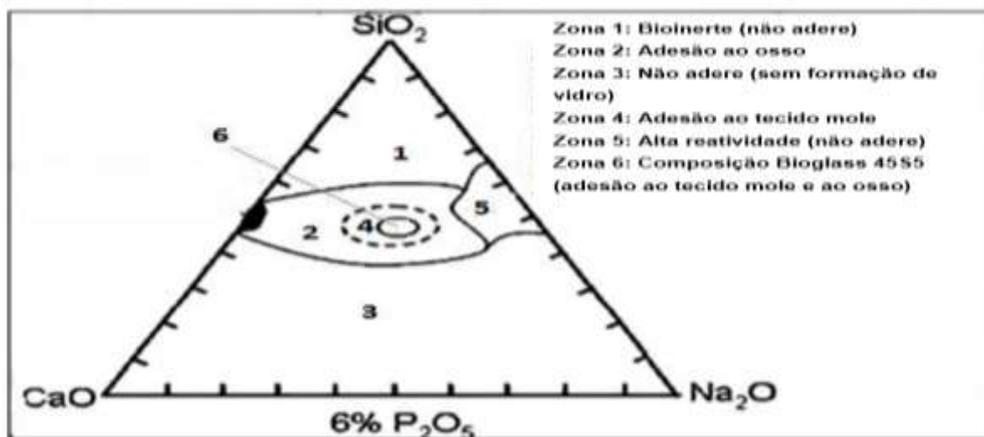


Figura 3: Diagrama ternário proposto por Hench. Adaptado de Hench (2006).

A partir do diagrama de fases, observa-se que a composição do biovidro 45S5 representado pela zona 6, que está contida tanto na zona 2 como na 4, faz ligação não só com o tecido ósseo, mas também com os tecidos moles adjacentes à região onde este biomaterial foi implantado. Interação que foi associada à camada de hidroxiapatita carbonatada formada pelo material quando em contato com o fluido corpóreo ou fluido corporal simulado – SBF (*Simulated Body Fluid*) (KOKUBO e TAKADAMA, 2006).

Segundo HENCH, *et al.* (2014), essa interação biológica ocorre devido a uma rápida sequência de reações químicas na superfície dos vidros bioativos. Os estágios desta interação vidro bioativo e tecido consistem em uma rápida lixiviação dos íons para o meio corpóreo e com isso, tem-se a formação de uma camada de sílica e, posteriormente, uma camada de hidroxiapatita na superfície do material, que por sua vez, juntamente com as proteínas adsorvidas do meio, controla a formação de um novo tecido ósseo na superfície do biomaterial.

Além da capacidade de adesão rápida ao tecido ósseo adjacente, o biovidro apresenta outras características que o tornam uma excelente opção para regeneração e reparo ósseo, como sua alta biocompatibilidade testada tanto *in vitro* quanto *in vivo* (HENCH, 2006 e 2013).

No teste *in vivo*, verificou-se que após seis semanas da implantação no fêmur de um rato, se formou um vínculo com o osso tão forte que não podia ser removido sem que este se quebrasse. A descoberta deu origem ao artigo publicado em 1971, no *Journal of Biomedical Materials Research*, o qual resumiu os resultados *in vivo* e os testes *in vitro* que levaram à proposta da primeira teoria acerca do mecanismo de ligação interfacial do implante ao osso (HENCH, 2006 e 2013, JONES, 2013).

Já os testes *in vitro* mostraram que a composição 45S5 desenvolveu uma camada de hidroxiapatita em soluções biológicas que não continham íons de cálcio ou de fosfato. A camada HA formada *in vitro* teve uma correspondente equivalente observada *in vivo*, fato que foi comprovado por microscopia eletrônica de transmissão. Por outro lado, também se verificou que os cristais de HA estavam ligados a camadas de fibras colágenas produzidas na interface pelos osteoblastos (HENCH, 2006 e 2013, JONES, 2013).

Testes posteriores revelaram que o vidro criado por Hench, estimulava a diferenciação de osteoblastos, sendo então atribuído características como a osteocondutividade e a osteoindutividade (HENCH, 2013). De acordo com WANG *et al.* (2013), para que haja bioatividade associada ao material, são necessários alguns fatores na composição estrutural dos biovidros como: a quantidade de SiO<sub>2</sub> inferior a 60% mol, altos valores de CaO e Na<sub>2</sub>O e uma elevada razão Ca/P.

Neste contexto, pôde-se observar que o biovidro, quando colocado em um ambiente cujas condições simulem as características fisiológicas de dissolução, tem o potencial de ativar os genes de controle da osteogênese e da produção de fatores de crescimento (HENCH, 2013).

Para HENCH (2006), o bom desempenho dos vidros bioativos nos reparos ósseos, podem ser atribuídos à reatividade de sua superfície nos fluidos corporais e as respostas celulares favoráveis que promovem a rápida formação óssea. Tendo em vista que a HA formada é quimicamente e estruturalmente semelhante ao mineral fosfato de cálcio presente no tecido ósseo humano, por conseguinte, os osteoblastos conseguem proliferar formando um forte vínculo no osso circundante.

Além de apresentar uma boa aplicabilidade como substituto ósseo, a HA não necessita de uma abordagem cirúrgica para retirada de enxerto da área doadora, de forma que promove melhor qualidade de vida ao paciente, visto que essa retirada pode levar a dor, como eventualmente a um enxerto autólogo (SOUZA *et al.*, 2011, LU *et al.*, 2016, CLAUDINO *et al.*, 2019, DA SILVA *et al.*, 2020).

Dentre os estudos sobre biovidro, observa-se a utilização de várias técnicas para sua produção, com aplicações específicas que promovem inúmeras possibilidades e vantagens, como observado nos estudos abaixo:

No estudo de BERTOLLA *et al.* (2017), o pó 45S5 sinterizado a 1050°C usando a técnica de sinterização por plasma de faísca, permitiu a produção de amostras exibindo superior densidade e propriedades mecânicas em comparação com os

produzidos por sinterização convencional. As principais contribuições para o aprimoramento das propriedades mecânicas do SPS 1050 foram atribuídas a uma densidade quase teórica e totalmente cristalina de microestrutura fina.

Já no estudo de BAINO e FIUME (2019), foram fabricados scaffolds vitrocerâmicos com base na composição 45S5 pelo método de réplica de espuma que exibiu uma rede de macroporos abertos imitando a arquitetura trabecular do osso esponjoso. Os *scaffolds* tinham uma compressão resistente e útil de  $1,2 \pm 0,2$  MPa e um módulo Weibull de 6, parâmetro que revela uma confiabilidade mecânica promissora para aplicações de reparo ósseo.

Cabe destacar que o biovidro 45S5 atualmente é a cerâmica de maior bioatividade conhecida no mundo e sua composição original ainda é utilizada até os dias atuais como referência para o desenvolvimento de diversos outros tipos de biovidro (CHUNG *et al.*, 2017, BAINO *et al.*, 2018).

Dentre os métodos de síntese do biovidro, destacam-se as seguintes técnicas:

a) Método de fusão/ resfriamento: é o método mais comum para produção de biovidro e envolve a fusão dos óxidos precursores a altas temperaturas (temperatura definida pelas propriedades estruturais dos óxidos) e posteriormente em um rápido resfriamento para conseguir um estado vítreo. Os vidros produzidos por esta técnica, apresentam propriedade mecânicas superiores à de vidros produzidos pela técnica sol-gel, que será discutida logo a frente. No entanto em termos de propriedades superficiais, esses materiais apresentam área superficial e porosidade inferior ao obtido pelo processo sol-gel (BOULILA *et al.*, 2018, KAUR *et al.*, 2014).

b) Técnica de replicação de espuma: consiste basicamente na utilização de uma espuma polimérica que será revestida pela suspensão cerâmica. O material polimérico é impregnado pela pasta cerâmica, de maneira que a morfologia final da cerâmica está diretamente associada ao modelo. Dessa maneira, o tamanho e a quantidade dos poros serão semelhantes ao modelo poroso e embebido pela suspensão cerâmica. Após a impregnação da suspensão cerâmica, tem-se a remoção do excesso da mesma, para evitar a obstrução dos poros e em seguida, tem-se a sinterização de toda a estrutura (SARKAR *et al.*, 2015).

c) Sinterização por plasma de faísca: é um método de sinterização por pressão moderada baseado na conjectura de um plasma de alta temperatura gerado momentaneamente nas aberturas dos materiais em pó por descarga elétrica durante a pulsação de corrente contínua. Tendo como vantagens em relação aos métodos

convencionais de sinterização, como a prensagem a quente, a sinterização dos materiais em apenas alguns minutos, em vez de horas e as temperaturas necessárias para consolidar a densidade total são significativamente menores (JIA *et al.*, 2011).

d) Método de processo sol-gel: método utilizado para produção de cerâmicas, vidros, vitrocerâmicas e compósitos em temperaturas mais baixas que a do método de sinterização/fusão (ALVES *et al.*, 2020). Trata-se de um processo simples que envolve a obtenção de uma matriz inorgânica por meio de reações de gelificação a baixas temperaturas (hidrólise e condensação), na qual se tem a transformação de um sol preparado inicialmente por hidrólise em um gel úmido, que após a retirada do líquido forma o gel seco e poroso que pode ser sinterizado em sólido denso e amorfo (BETANCOURT-PARRA *et al.*, 2019, CAÑAVERAL *et al.*, 2019).

Segundo REAKASAME *et al.* (2020), a temperatura ideal para a sintetização de um biovidro via sol-gel é de 500-600 °C, pois nessa faixa de temperatura tem-se o aumento da resistência mecânica sem afetar a bioatividade do biovidro (BV).

Neste processo é utilizado como base um alcóxido organo-metálico (M(OR)<sub>n</sub>) ou sais inorgânicos como fonte de cátions e ânions, e a água como agente de hidrólise e alcoóis como solventes. Através da reação da base com o ambiente aquoso, forma-se uma rede de ligações covalentes aleatórias, sendo esta a primeira etapa do processo (hidrólise do alcóxido (M(OR)<sub>n</sub>)), posteriormente tem-se a formação de um hidróxido metálico (M-OH), que faz com que a solução se torne um sol (que é uma suspensão coloidal de partículas sólidas dentro de um líquido). Em seguida, ocorre a condensação das espécies M-OH, transformando o sol em um gel (GUASTALDI e APARECIDA, 2010, SAKKA, 2013, BETANCOURT-PARRA *et al.*, 2019, PARASHAR *et al.*, 2020).

No caso dos BV, o alcóxido normalmente utilizado para formação da rede é a sílica, frequentemente sob a forma de tetrametilortossilicato (TMOS) ou de tetraetilortossilicato (TEOS), induzindo a formação de nanopartículas coloidais (sol), e subsequentemente a formação de partículas esféricas em condições básicas (CAÑAVERAL *et al.*, 2019, PARASHAR *et al.*, 2020, SILVA *et al.*, 2021).

Os sóis podem ser definidos como sistemas dispersos constituídos de duas fases, onde a fase dispersante é um líquido e a dimensão média das partículas está compreendida entre 10 e 1000 nm. Este estado de matéria dispersa dá às soluções coloidais um conjunto de características que justificam o seu reagrupamento. Entretanto as partículas dispersas podem ter estruturas e formas muito diferentes, o que determina suas diferentes propriedades (HENCH e WEST, 1990, BRINKER e SCHERER, 1990).

No que concerne ao termo gel este pode ser definido como um sistema formado por uma estrutura rígida de cadeias poliméricas (gel polimérico) ou de partículas coloidais (gel coloidal) que imobilizam a fase líquida nos seus interstícios (HIRATSUKA *et al.*, 1995).

De acordo com HENCH e WEST (1990), a transição sol-gel é o fenômeno no qual uma suspensão coloidal ou uma solução transforma-se em gel pelo estabelecimento de ligações entre as partículas ou entre as espécies moleculares, que leva a formação de uma rede tridimensional. Como consequência, o sistema adquire caráter elástico. Após a transição, a estrutura sólida permanece aberta e impregnada pela fase líquida. O passo inicial para formação do microgel é a agregação de algumas partículas para formar cadeias curtas.

Ainda segundo HENCH e WEST (1990) o tamanho dessas regiões aumenta continuamente pela incorporação de partículas que circundam essa fase. Esse processo continua até a fase gel ocupar todo o volume do sistema. A diferença entre a formação do gel e a formação de um precipitado é que na região do gel a concentração de partículas estruturadas em redes tridimensionais é muito próxima daquela suspensão que a circunda.

Durante a gelificação, a viscosidade aumenta até formar um sólido que adapta-se a forma do molde (SAKKA, 2013, BETANCOURT-PARRA *et al.*, 2019). Os géis após secagem, podem ser os produtos finais ou podem ser transformados em outros produtos por calcinação ou sinterização (GUASTALDI e APARECIDA, 2010, MUNHOZ JR., *et al.*, 2018).

Dentre os fatores que influenciam o processo de gelificação, tem-se o pH, que poderá induzir uma gelificação lenta com longas cadeias ramificadas que produzem o gel monolítico no caso do pH ácido, ou uma gelificação rápida com pequenos aglomerados ramificados quando o pH for básico (WRIGHT e SOMMERDIJK, 2000).

Os géis mais estudados como precursores de vidros são formados pela polimerização de alcóxidos metálicos hidrolisados em soluções alcoólicas. As reações são muito sensíveis às condições experimentais tais como a presença de catalizadores ácidos ou básicos, temperatura de gelificação e quantidade de água adicionada. Conseqüentemente, as propriedades dos géis obtidos pela transição sol-gel de alcóxidos metálicos dependem fortemente das condições experimentais de execução (BRINKER e SCHERER, 1990).

Após a produção do gel, inicia-se o processo de secagem para remover os solventes residuais, como o álcool e a água, antes do tratamento térmico. No tratamento térmico o gel seco é tratado para ser convertido em vidro. Este processo requer um tratamento térmico acima da temperatura de transição vítrea. Durante esta conversão, ocorrem as transformações químicas e estruturais: adsorção física da água e solventes das paredes dos microporos, carbonização e combustão de grupos orgânicos residuais (HENCH e WEST, 1990).

Em suma, o processo sol- gel segue as seguintes etapas (NEACȘU *et al.*, 2016 e SAKKA, 2013):

1) Hidrólise e Condensação/policondensação: formação do sol através da mistura mecânica das partículas coloidais em água; as reações envolvendo o tetraetilortosilicato (TEOS - fornecedor de silício para a formação do vidro) liberam água e álcool que resultam no início da formação das redes de sílica, as quais mantêm presos em seu interior água e álcool expelidos pela reação do TEOS;

2) Moldagem: devido sua baixa viscosidade, o sol deve ser colocado em moldes;

3) Gelificação: as partículas coloidais e a sílica condensada se conectam formando uma rede tridimensional, aumentando consideravelmente a viscosidade e formando um sólido no formato do molde;

4) Envelhecimento: o material do molde permanece imerso em líquido por um período que pode variar de horas a alguns dias, durante este período continuam a ocorrer as reações de condensação concomitantemente com a solução e precipitação de redes do gel;

5) Secagem: ocorre a remoção do líquido presente nos poros interconectantes da rede; logo este processo deve ser controlado de forma a evitar trincas e falhas no material durante a evaporação da água;

Após este processo ocorre a estabilização química e a densificação do material, uma vez que as ligações de silanol são removidas da rede dos poros e os poros posteriormente são eliminados por meio da exposição a altas temperaturas.

Logo, o processo sol-gel é descrito como o conjunto de duas reações: a hidrólise e a condensação, sendo que na última poderá ocorrer condensação de álcool ou condensação de água. Frisa-se que a hidrólise de um alcóxido metálico, é complexo e é afetado por parâmetros como o solvente, o catalisador, a agitação, a temperatura, e o pH.

Destaca-se que com o método sol-gel é possível manipular de forma simplificada parâmetros importantes como: textura, estrutura, composição e características químicas das matrizes obtidas como a distribuição do tamanho dos poros e o volume, que resulta em amostras de alta pureza, com boas distribuições e altamente homogêneas, se comparado com as demais rotas de sínteses (BRINKER e SCHERER, 1990, DUHAN *et al.*, 2010).

Este método alternativo, criado para ser uma alternativa ao processo de fusão, é conhecido há mais de um século, mas somente nas últimas três décadas ganhou maior importância (SEPULVEDA *et al.*, 2001). Sendo atualmente empregado entre outras coisas, para a produção de cerâmicas para fins biomédicos, assim como possibilitada a produção de um pó fino, homogêneo e de elevada pureza (MARTIN *et al.*, 2012, SILVA *et al.* 2021).

Com o avançar das pesquisas, diversos trabalhos sobre a técnica de produção do biovidro pela via sol-gel estão sendo publicados, incluindo entre outros materiais a produção de vidros densos, partículas, materiais porosos e scaffolds.

Dentre eles tem-se o estudo realizado por FURLAN *et al.* (2018) que teve como objetivo preparar o biovidro 45S5 a base de boro, por meio do uso do processo sol-gel e sais solúveis em água. De acordo com os autores, o processo sol-gel foi utilizado com sucesso para a preparação do biovidro 45S5 à base de boro. Tendo como resultados a formação de grandes quantidades de hidroxiapatita.

No estudo de LIN *et al.* (2019), os autores buscaram determinar e comparar as propriedades microestruturais das amostras do Biovidro (BV) / nanotubos de carbono (NTC) com as da matriz de BV pura, com base na estrutura mesoporosa e no princípio de biocompatibilidade. Neste estudo, os compósitos de BV com diferentes concentrações de NTC foram formados com sucesso usando o método sol-gel. Compósitos que mostraram tamanhos de poros maiores do que a matriz de BV pura. Frente aos resultados dos testes de bioatividade e proliferação celular foi indicado que a amostra BV / 0,05 NTC exibiu a maior biocompatibilidade, sendo observado que uma quantidade excessiva de NTC é potencialmente prejudicial para as células.

Já no estudo de GUIMARÃES *et al.* (2016), foi desenvolvido uma nova rota de obtenção de scaffolds porosos de BV por adição de agentes porogênicos ao BV obtido via sol-gel. Entre seus resultados os autores concluíram ser possível adicionar agentes porogênicos ao BV obtido via sol-gel e observaram que os scaffolds de BV induziram a

proliferação das células osteoblásticas primárias, fatores de relevância para o sucesso da regeneração óssea e sua utilização na engenharia de tecido ósseo.

Frisa-se que a criação do método sol-gel, possibilitou a produção de vidros bioativos com maior pureza e homogeneidade, além de expandir significativamente as gamas de composições que apresentam bioatividade, em comparação com vidros bioativos preparados pelo método tradicional de fusão. Outras vantagens do método sol-gel estão relacionadas com a baixa temperatura de processamento, a alta bioatividade e a nanoescala de interconectividade, dentre outras (MEDEIROS *et al.*, 2017).

Fato que pode ser observado na pesquisa de SPIRANDELI *et al.*, (2020) que estudou a influência de duas rotas de síntese sol-gel na obtenção de um vidro bioativo derivado da composição 45S5 e avaliou a influência na morfologia, fases estruturais, grupos funcionais e bioatividade das duas rotas de síntese, constatando que a rota de síntese de sol-gel coloidal apresentou morfologia, fases cristalinas e grupos funcionais semelhantes à rota tradicional, levando a melhores testes de bioatividade *in vitro*.

Segundo TOURI *et al.*, (2013) outra vantagem para a técnica foi o uso de um ácido orgânico nas reações sol-gel. Em sua pesquisa, eles demonstraram que o ácido cítrico pode ser usado em vez do ácido nítrico usual para catalisar as reações sol-gel. A substituição de ácido nítrico pelo ácido cítrico permitiu reduzir fortemente a concentração da solução ácida necessária para catalisar a hidrólise de alcóxidos de silício e fósforo (TEOS e TEP), sem alteração da bioatividade do vidro bioativo 45S5. Sendo a melhor composição química do vidro bioativo obtida com o ácido cítrico de baixa concentração e temperatura ambiente.

No estudo de REZABEIGI *et al.*, (2014) pode-se observar o desenvolvimento da rota sol-gel de forma orgânica com ácido láctico, livre de nitrato, para a síntese de biovidro 45S5, processo que permitiu a síntese de pó homogêneo, puro e submicron, mostrando as vantagens da técnica sol-gel para a síntese de biovidro em temperatura ambiente por meio de uma rota simples, flexível e barata.

Em suma, observa-se que o biovidro vem sendo estudado com muito interesse devido sua excelente propriedade biológica, assim como os métodos para a sua síntese e seu aperfeiçoamento com biomaterial. Sendo um desafio constante a melhora das suas propriedades mecânicas para uso na regeneração óssea.

#### 4.4 POLI (ÁCIDO LÁCTICO) – PLA

O poli (ácido láctico) (PLA) é um polímero da classe dos ésteres, sendo um dos polímeros bioabsorvíveis e biocompatíveis mais estudado para aplicações biomédicas. Já vem sendo utilizado em fios de estruturas reabsorvíveis e outros dispositivos por sofrer degradação em meio fisiológico. Dessa forma atendendo a necessidade dos *scaffolds* que se degradarem após um tempo, além de possuir elevadas propriedades mecânicas (SANTORO *et al.*, 2016, MURARIU e DUBOIS, 2016).

Obtido de fontes renováveis, este polímero é produzido a partir da policondensação de ácido láctico ou polimerização por abertura de anel de lactídeo. O PLA é ótima opção para regeneração óssea, por ser possível adaptar a taxa e o grau de cristalinidade e, conseqüentemente, as propriedades mecânicas e o comportamento de degradação, e isso é possível controlando a arquitetura estereoquímica e o peso molecular do polímero. O ácido láctico possui um átomo de carbono assimétrico, o que torna sua estrutura quiral, assim esse polímero pode existir em duas formas distintas, devido aos diferentes arranjos dos átomos na molécula. A Figura 4 mostra os dois estereoisômeros do PLA: poli-L-láctico (PLLA) e poli-D-láctico (PDLA) (NASEEM, *et al.*, 2021; BRÉZULIER *et al.*, 2021).



Figura 4: Estereoisômeros do PLA: poli-L-láctico (PLLA) e poli-D-láctico (PDLA). Adaptado de Brézulier *et al.* (2021).

Já liberado para uso em fluidos biológicos pela *Food and Drug Administration* (FDA), no corpo humano, quando implantado, o PLA após a hidrólise transforma-se em ácido  $\alpha$ -hidroxi láctico e, deste modo, é incorporado ao ciclo do ácido tricarbóxico produzindo dióxido de carbono e água, e posteriormente excretado através da respiração ou urina, sendo, seus produtos de degradação não são tóxicos e ótima escolha como biomaterial (HAMAD *et al.*, 2015, FARAH *et al.*, 2016).

Assim, o PLA, sendo um poliéster alifático, seus grupos ésteres são susceptíveis a degradação hidrolítica em ambiente fisiológico. Sua principal rota de degradação se dá pela clivagem das ligações de éster por hidrólise, levando a uma redução sucessiva de

seu peso molecular. Esta degradabilidade, juntamente com sua biocompatibilidade favorecem seu uso como *scaffolds* para regeneração óssea (ALARIBE *et al.*, 2016, NASEEM, *et al.*, 2021).

Quanto ao PLA comercial, é comumente fornecido na forma de grânulos e dependendo da aplicação, às vezes é necessário reduzir a granulometria ou transformá-la em um filamento. Para obter este último, usa-se uma extrusora de filamentos onde as pelotas são depositadas em um funil que passa por um bocal aquecido à temperatura de extrusão do PLA, da mesma forma que uma impressora 3D (BRÉZULIER *et al.*, 2021). Assim, o PLA é um dos materiais mais utilizados na impressão 3D por fusão.

#### 4.5 NANOMATERIAIS

Em 2011 a Comissão Europeia emitiu uma recomendação sobre a definição de nanomaterial, transcrita como: “*material natural, fabricado ou incidental, que contém partículas num estado desagregado ou na forma de um agregado ou de uma aglomeração, e em cuja distribuição número-tamanho 50% ou mais de partículas tem uma ou mais dimensões externas na gama de tamanhos compreendidos entre 1 nm e 100 nm*” (COMISSÃO EUROPEIA, 2011).

Segundo ZARBIN (2007) o estudo por esses materiais na faixa dos nanômetros (chamados de nanomateriais) ganhou importância significativa no final do século XX, levando ao aparecimento e consolidação de toda uma área do conhecimento, que hoje é conhecida como “Nanociência e Nanotecnologia”.

A Nanociência é uma fase da pesquisa científica que visa entender o comportamento da matéria na escala nanométrica, os fenômenos, os efeitos e as influências do tamanho nas propriedades dos materiais. Já a Nanotecnologia procura explorar os efeitos da escala nanométrica para criar estruturas, equipamentos, dispositivos, sistemas, materiais com novas propriedades e funcionalidades passíveis de comercialização (ZARBIN, 2007, ASSIS *et al.*, 2012).

Embora os nanomateriais estejam presentes ao longo da História, o enorme interesse na nanotecnologia é hoje motivado não só pelo interesse de manipulação na escala nanométrica, mas pelas propriedades funcionais únicas não encontradas na escala macro (ASSIS *et al.*, 2012).

De acordo com CHAWLA (2012) na medida em que se atinge a escala nanométrica, novas propriedades têm sido descobertas, dessa forma, sendo um potencial de aplicação tecnológica em todos os setores econômicos por favorecer inúmeras

aplicações em função da sua multifuncionalidade e possibilidade de realizar combinações de propriedades, inatingíveis com materiais tradicionais e, assim possibilitando a criação de nanocompósitos.

Assim, define-se um nanomaterial como: aquele que possui ao menos uma dimensão na faixa de tamanho nanométrica, abaixo do tamanho crítico de 100 nm capaz de alterar alguma de suas propriedades (ZARBIN, 2007, LAZZARETTI *et al.*, 2019)

Apesar de encontrar em muitos dos textos recentes sobre Nanociência e Nanotecnologia o arbitrar de valores fronteira para as dimensões de um nanomaterial, por exemplo, até 100 nm, entende-se que este procedimento é absolutamente equivocado (BERNARDO *et al.*, 2018). Pois, só existe um nanomaterial se existir uma propriedade que se manifesta exclusivamente devido ao tamanho reduzido, sendo esta propriedade diferente do material massivo (LOURO *et al.*, 2013, LAZZARETTI *et al.*, 2019).

Em outras palavras, um nanomaterial é um material com uma ou mais dimensões externas, ou com estrutura interna baseada na nanoescala, que pode exibir novas características em comparação com o mesmo material sem dimensões nanométricas.

O grande diferencial deste tipo de material é potencializar as propriedades físicas e químicas dos materiais, o que tem despertado muito interesse e uma crescente prioridade para futuras aplicações tecnológicas. Dentre os materiais nanométricos estudados, nenhum é mais significativo e representativo para nanociência e nanotecnologia quanto os nanotubos de carbono (LAZZARETTI *et al.*, 2019, ZARBIN, 2019).

#### 4.5.1 Nanotubos de Carbono

Os nanotubos de carbono (NTC) são definidos como átomos de carbono arranjados em anéis aromáticos condensados, formados por folhas de grafeno enrolados em cilindros, conforme evidenciado na Figura 5 (MACHADO *et al.*, 2014).

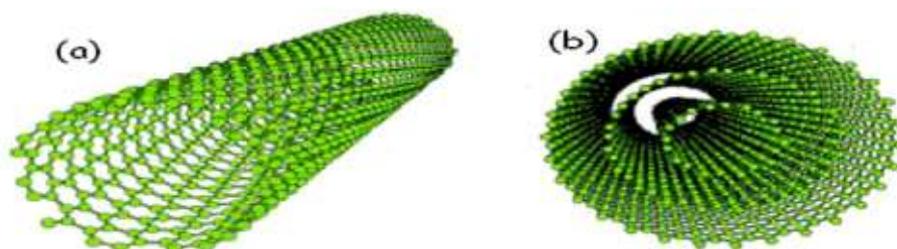


Figura 5: Representação da estrutura atômica de nanotubos de carbono de parede simples (a) e de parede múltiplas (b). Adaptado de Zarbin (2007).

Uma folha de grafeno, segundo MACHADO *et al.* (2014), é uma estrutura bidimensional, composta por uma rede de átomos de carbono dispostos em forma hexagonal e unidos entre si por hibridização de órbitas de seus elétrons.

O termo “nanotubos de carbono” corresponde, a uma grande família de materiais com características diferentes entre si, formados a partir do enrolamento de uma ou mais folhas de grafeno a partir do seu próprio eixo, formando estruturas cilíndricas (tubulares) com diâmetros na faixa dos nanômetros (nanotubos), e comprimentos que variam de alguns micrometros até vários centímetros (ZARBIN e OLIVEIRA, 2013, ZARBIN, 2019).

De forma mais específica, os NTC pertencem à família dos fulerenos, ou seja, à terceira forma alotrópica do carbono, juntamente com o grafite e o diamante, sendo sua principal vantagem tecnológica a resistência mecânica (BIANCO *et al.*, 2011).

De acordo com o número de camadas de grafeno, os NTC podem ser classificados em nanotubos de carbono de parede simples (NTCPS), de parede dupla (NTCPD) ou múltiplas (NTCPM). O primeiro é caracterizado por uma única folha de grafeno enrolada sobre si mesma formando um tubo cilíndrico, o segundo é constituído por dois tubos concêntricos, sendo o diâmetro do tubo externo da mesma ordem do NTCPS, já o terceiro é formado por várias camadas em que as estruturas cilíndricas se encontram concêntricas, normalmente separadas por uma distância de 0,35 nm e com diâmetros de 1 até 100 nm, com forças de Van der Waals entre as camadas adjacentes (MACHADO *et al.*, 2014, IMANI-YENGEJEH *et al.*, 2016, ZARBIN, 2019, ADITHYA *et al.*, 2020).

Em relação a sua estrutura, os NTC possuem elevada resistência e leveza surpreendente, podendo chegar a ser 100 vezes mais resistente e 6 vezes mais leve que o aço. Além disso, existem nanotubos condutores ou semicondutores que conseguem se deformar elasticamente 60 vezes mais do que o aço (GONTIJO, 2019).

Segundo AQEL *et al.* (2012) e VALVERDE *et al.* (2016) o diâmetro, o tamanho, a largura e a direção de rolagem da folha de grafeno variam nos NTC de acordo com sua forma de produção e influenciam diretamente em suas propriedades físico-químicas. Dentre mecanismos de síntese de nanotubos de carbono, os principais são: método do arco elétrico, deposição química de vapor e ablação a laser. Cada um deles possui características específicas e produzem diferentes estruturas e níveis de pureza, sendo que segundo é o mais convencional por viabilizar a produção em escala industrial (HARRIS, 2009).

Os NTC têm despertado grande interesse de pesquisadores para a aplicação na engenharia de tecidos devido às suas propriedades físico-químicas únicas, tais como baixa densidade, alta flexibilidade, alta condutividade elétrica (de  $10^7$  a  $10^9$  A/cm<sup>2</sup>) e térmica (2000 a 7500 W/mK), alta estabilidade química, grande área de superfície e alta resistência mecânica (módulo de Young de 1,0 TPa e força de tração de 50 GPa), além de ser de fácil funcionalização (GONTIJO, 2019 e RODRIGUES *et al.*, 2022).

Estudos *in vitro* mostram que NTCPM, não modificados quimicamente, promovem formação óssea por meio de sua interação com os osteoblastos (SHIMIZU *et al.*, 2012). De acordo com PEI *et al.* (2019) e UZAIR *et al.* (2021) há uma aceleração na diferenciação de osteoblastos, atribuída ao acúmulo de cálcio promovido pelos NTCPM.

Ainda para UZAIR *et al.* (2021), a presença dos NTC aumenta a concentração de cálcio e essa, quando detectada por osteoblastos indiferenciados, faz com que eles se diferenciem em osteoblastos maduros que promovem a calcificação. A absorção de cálcio pelos NTCPM é atribuída ao seu potencial negativo, que atrai os íons de cálcio.

Resultados promissores também têm sido demonstrados em estudos *in vivo*, corroborando com biocompatibilidade, osteointegração e osteocondução, ou seja, condições fundamentais para o uso dos NTC em implantes ósseos. Neste exemplo, o estudo de USUI *et al.*, (2008), mostra partículas de NTC de parede múltiplas aderiram diretamente em defeitos tibiais induzidos em ratos e, se integraram à matriz óssea, sem interferir no reparo ósseo e se tornando integradas ao tecido ósseo.

Na aplicação clínica, os NTC têm um enorme potencial, no entanto, é preciso garantir a segurança de seu uso quanto à compreensão de sua toxicidade (MADANI *et al.*, 2013). De acordo com os estudos realizado por MORIMOTO *et al.* (2013) a utilização de NTC, seja ele de parede simples ou múltipla, em alta concentração induz o processo de inflamação ou formação granulomatosa no pulmão, assim como sua instilação intratraqueal induz inflamação persistente no pulmão.

Por tais situações, países como o Japão, Europa e Estados Unidos estipularam os valores da concentração de exposição aceitável ao NTC, valores que foram baseados em dados de inalação subaguda e subcrônica de estudos de instilação endotraqueal de NTC. Assim, as concentrações propostas foram: 0,03, 0,05 e 0,007mg/m, respectivamente, tendo-se em vista, que quanto menor a concentração menor o risco de efeitos adversos (MORIMOTO *et al.*, 2013).

Quanto ao NTC a ser utilizado no biomaterial de escolha, a opção pelo NTC de parede múltiplas se dá por sua menor toxicidade, quando comparado ao NTC de parede simples, dado que pode estar relacionado às diferenças de tamanho e área de superfície de contato (OLIVEIRA *et al.*, 2015).

Além disso, em compósitos, para melhorar a dispersão e aumentar a interação dos NTC com a matriz, usa-se a funcionalização. A funcionalização de um material consiste na ligação de elementos externos aos átomos de um determinado material. Para isso existem formas de obtenção, podendo ser química ou termicamente introduzidos (YEO *et al.*, 2007).

Além disso, as ligações C-C dos nanotubos de carbono do tipo sp<sup>2</sup> confere grande estabilidade fornecendo a capacidade de serem pouco reativos. Dessa forma, para melhorar a interação com outra superfície, usa-se a funcionalização (BASTOS e CAMPS, 2013). Assim, a funcionalização facilita a utilização de NTC como reforço para a matriz de biocerâmicas.

Foi o que mostrou o estudo de AFROZE *et al.* (2016), onde sintetizaram nanocompósitos de hidroxiapatita (HA) com 3% em peso de NTCPM funcionalizado por processo de precipitação química. O grupo funcional carboxila (-COOH) introduzido pelo tratamento com ácido na superfície dos NTCPM mostrou forte ligação interfacial com as moléculas de HA.

Quanto a melhoria das propriedades mecânicas, o estudo realizado por XU *et al.* (2009) mostrou que o compósito com hidroxiapatita e 2% de volume de NTC sintetizado pelo método de sinterização plasma exibiu uma resistência mecânica superior, incluindo alto valor do módulo e dureza, aumentando também a resistência à fratura (92%) e módulo de elasticidade (25%) quando comparado com a matriz de hidroxiapatita pura. Além disso, também foi observada uma excelente proliferação de células de osteoblasto humano. A inclusão de NTC na matriz de hidroxiapatita melhorou as propriedades biomecânicas e promoveu o crescimento celular em células de osteoblastos, dessa forma, permitindo sua utilização na engenharia de e tecido ósseo.

Na pesquisa de ZANELLO *et al.* (2006), foi analisada a biocompatibilidade dos NTC e seu potencial na regeneração óssea, demonstrando que o uso de nanotubos na regeneração óssea é promissor. Células ósseas de ratos foram cultivadas em NTCPM quimicamente modificados e a biocompatibilidade deste sistema foi avaliada pela multiplicação de osteoblastos e formação de cristais de hidroxiapatita.

Outros estudos também mostraram elevado nível de viabilidade celular com células fibroblásticas e osteoblásticas em contato com NTCPM, demonstrando uma biocompatibilidade celular dos nanotubos, fato importante para aplicações biomédicas de nanotubos, em particular para reparação de tecidos biológicos (AOKI *et al.*, 2005, CHŁOPEK *et al.*, 2006).

Neste contexto de reparação de tecidos, sabe-se que a HA é um dos materiais mais estudados atualmente devido à sua alta similaridade com o tecido ósseo e que tem suas aplicações limitadas, devido baixa resistência mecânica. Contexto que pode ser mudado, através do uso de NTC, que além de propriedades terapêuticas, servem como reforço, para melhorar as propriedades mecânicas da HA (BALANI *et al.*, 2007).

Fato que é passível de comprovação, através do estudo de YE *et al.* (2017) que sintetizou compósito de hidroxiapatita reforçado com 0,5, 1, 2, 3, 5% em peso de nanotubos de carbono de parede múltiplas por técnica de sinterização de plasma por faísca (SPS) com temperatura de 1273 K, pressão 40 MPa e tempo de manutenção de cinco minutos. A pesquisa mostrou que o conteúdo ideal de nanotubos nos compostos foi de 1% em peso. A dureza dos compósitos diminuiu consideravelmente em comparação com a matriz de HA pura. A resistência à flexão e a tenacidade à fratura aumentaram 147% (até 69,2 MPa) e 95% (até 1,56 Mpa<sup>1/2</sup>) respectivamente. Confirmando que os nanotubos são bons candidatos como reforço da matriz HA pura.

Ainda sobre o reforço mecânico com resposta celular, o estudo de XU *et al.* (2009), mostrou que o compósito de HA reforçados com nanotubos de carbono (2% em volume) sintetizado por sinterização de plasma de faísca a 1100 °C, acarretou propriedades mecânicas aprimoradas com alto valor de módulo (131,1 GPa) e dureza (6,86 GPa). Além disso, a presença dos nanotubos em HA promoveu crescimento e adesão de células de osteoblastos em meio de cultura.

Já no estudo de AFROZE *et al.*, (2018), o nanocompósito HA e NTCMP preparado com a adição de uma pequena quantidade (0,5% em peso) de nanotubos funcionalizados exibiu uma melhoria muito maior nas propriedades mecânicas devido à forte adesão interfacial apresentando resistência mecânica, dureza e tenacidade à fratura em cerca de 317,5%, 172,4% e 237%, respectivamente. Além disso, o nanocompósito exibiu excelente hemocompatibilidade.

Além da melhoria das propriedades mecânicas, um estudo comparativo da capacidade osteogênica entre NTCPM tratados e nano-hidroxiapatita mostrou que a eficácia de fixação celular (força) e proliferação em nanotubos de carbonos foram

melhores do que aqueles em nano-hidroxiapatita, sendo o mais importante, que os NTCPM podem induzir a diferenciação osteogênica, devido maior área de superfície e maior capacidade de adsorção de proteínas, podendo modular a quantidade e conformação das proteínas adsorvidas e, conseqüentemente, modular não apenas a proliferação de células, mas também a diferenciação das células em direção à linhagem osteoblástica. Resultados *in vitro* e *in vivo* que indicam que os NTCPM podem ser materiais mais eficazes para acelerar a formação óssea (ZHIPO *et al.*, 2021).

No mesmo da HA, pode se associar o biovidro ao NTC, a fim de melhorar suas propriedades, assim como inserir novas características, tendo em consideração as propriedades eletrônicas, mecânicas e químicas únicas dos NTC (BIANCO *et al.*, 2011). Dentre os estudos publicados sobre o compósito biovidro e nanotubos de carbono, pôde-se observar que uma das principais funções dos nanotubos de carbono (NTC) no biovidro é promover resistência, assim como melhorar sua condutividade elétrica.

No estudo de JIA *et al.* (2011) e de ZHANG *et al.* (2012) os autores avaliaram o efeito do teor de NTC nas propriedades mecânicas dos compósitos NTCPM / 45S5 Biovidro, identificando os parâmetros ótimos do processamento. Os compósitos NTCPM / 45S5 Biovidro foram sintetizados com sucesso por meio de um processo mecânico de liga seguido por sinterização por plasma de faísca. Em comparação com a matriz 45S5 Biovidro, a dureza dos compósitos diminuiu sensivelmente. Já a resistência à flexão e tenacidade à fratura aumentaram 159% (até 106 MPa) e 105% (até 1,17 MPa m<sup>1/2</sup>), respectivamente. Propriedades físicas e estruturais que sugerem seu potencial para serem usadas como materiais matriciais de dentes ou suportes artificiais na engenharia de tecido ósseo.

Já no estudo realizado por TOURI *et al.* (2013), que teve com o objetivo avaliar o efeito do NTC nas propriedades mecânicas do compósito NTC / 45S5 Biovidro como *scaffolds* para a engenharia de tecidos ósseos, foi observado como resultado que, o conteúdo ideal de NTCPM no compósito foi de 0,25 wt.% em peso. Em comparação com os *scaffolds* preparados com 100% de pós 45S5 Biovidro, a adição de 0,25 wt.% em peso de NTCPM aumentou a resistência à compressão e o módulo de elasticidade do *scaffolds* 45S5 Biovidro de 2,08 a 4,56 MPa, demonstrando que as propriedades dos *scaffolds* de nanocompósitos preparados eram comparativos com o osso esponjoso natural, sendo importante ressaltar a melhoria das propriedades mecânicas desses *scaffolds*.

No estudo de PORWAL *et al.* (2015), há o relato da fabricação de compósitos de Biovidro 45S5 e Nanotubos de Carbono de parede múltipla (BV/ NTCPM) por meio do método de processamento coloidal aquoso, sem o uso de qualquer surfactante seguido por consolidação de sinterização por plasma de chama. Como resultado os autores observaram que a condutividade elétrica do biovidro aumentou com a adição de NTCPM, devido à formação de uma rede de percolação de NTCPM dentro da matriz de biovidro.

Quanto ao uso com biopolímeros, a adição de NTCMP ao ácido polilático (PLA) demonstrou uma melhora no crescimento osteoblasto devido às suas excelentes propriedades elétricas, uma vez que a estimulação elétrica pode modificar atividades celulares, como adesão celular ou migração celular (SHAO *et al.*, 2011).

Isso pode ser constatado no estudo de SILVA *et al.* (2017), que preparou *scaffolds* porosos tridimensionais com PDLLA (Poli D, L Lático), nanotubos de carbono de parede múltiplas e óxido de grafeno, mostraram alto desempenho mecânico e resultados *in vitro*, mostramos cito compatibilidade que permitia uma melhor diferenciação osteogênica e, a arquitetura em favo de mel induziu formação óssea mais lamelar do que *scaffolds* de PDLLA puros.

Corroborando com os resultados do estudo de ARMENTIA *et al.* (2020) que mostra os avanços de nanomateriais à base de carbono como candidatos promissores para aplicações de reparo e regeneração óssea devido à combinação excepcional de excelentes propriedades mecânicas, térmicas e elétricas e suas comprovadas capacidades antimicrobianas e de regeneração celular.

Por todo exposto, espera-se alcançar com esta associação (Biovidro e NTC), um biomaterial capaz de se submeter a tensões mecânicas, além de possibilitar alterações benéficas em suas propriedades físicas, de modo a imitar as condições químicas e físicas existentes no meio biológico natural e assim promover o processo osteogênico para remodelação do tecido ósseo e assim ser posteriormente utilizado em vastas áreas da biomedicina e dos biomateriais, para benefício da sociedade.

#### 4.6 IMPRESSÃO TRIDIMENSIONAL (3D)

A produção de *scaffolds* com propriedades mecânicas adequadas é um dos grandes desafios para biomateriais de regeneração óssea, devido a arquitetura porosa ser muito importante para haver a vascularização do novo tecido. O *scaffolds* age como uma matriz temporária de modo a possibilitar a ligação, proliferação e diferenciação de

células, para isso, a estrutura e propriedades bioquímicas devem possibilitar o crescimento celular e interação adequada entre o material e o organismo (LI *et al.*, 2013, SEYEDNEJAD *et al.*, 2012).

Os *scaffolds* utilizados para a regeneração óssea podem ser de diferentes materiais, podendo ser natural ou sintético. Entre as vantagens dos sintéticos estão a reprodutibilidade e controle de propriedades mecânicas e degradação. Entre eles temos o poli (ácido láctico) (PLA), um poliéster derivado do ácido láctico que apresenta elevada resistência mecânica e as cerâmicas bioativas como o biovidro que apresenta interação óssea, sendo eles bioabsorvível e biocompatível (ALARIBE *et al.*, 2016).

A produção de *scaffolds* pode ser feita por métodos tradicionais, porém com limitantes para o controle de tamanho, geometria, interconectividade e distribuição espacial dos poros e reprodutibilidade. A manufatura aditiva ou impressão 3D veio como uma alternativa para superar essas limitações (ABBASI *et al.*, 2020).

A impressão tridimensional é um processo para criar objetos a partir de dados de modelo 3D desenhados com o auxílio de computador projeto auxiliado (CAD) ou um programa semelhante (VAN DEN EYNDE e VAN PUYVELDE, 2018). Existem muitos métodos de impressão 3D com diferentes princípios de trabalho utilizadas para a confecção de *scaffolds*, os mais utilizados são:

Estereolitografia (SLA) que é reconhecida como o primeiro processo de impressão 3D. Trata-se de um processo baseado em laser ultravioleta que, ao entrar em contato com resinas de polímero fotopolimerizáveis, geram uma reação de fotopolimerização formando um sólido de forma muito precisa (GHILAN *et al.*, 2020).

A Sinterização Seletiva a Laser (SLS) é um processo semelhante a estereolitografia, porém, neste caso, o laser incide sobre uma plataforma coberta por material pulverizado. Em seguida, um rolo aquecido cobre a superfície de impressão com uma outra camada de pó, e então é feita a sinterização da camada seguinte. O processo se repete até que o modelo final seja formado (GHILAN *et al.*, 2020).

Outra técnica, é a Modelação por deposição de material fundido (FDM), sendo esta a mais utilizada. Neste processo a deposição de material fundido forma objetos tridimensionais a partir de modelos sólidos ou de superfície gerados por computador. O método utiliza uma pequena câmara de aquecimento com temperatura controlada capaz de depositar o filamento termoplástico semifundido sobre uma plataforma em um processo camada a camada (KHOSRAVANI e REINICKE, 2020).

Neste método, o filamento é movido por dois rolos e atua como um pistão para conduzir o material extrudado fundido. No final de cada camada, a plataforma base é rebaixada e a próxima camada é depositada. O caminho de deposição e os parâmetros para cada camada são designados de acordo com o material utilizado, as condições de fabricação, as aplicações da peça projetada e as preferências do projetista (KHOSRAVANI e REINICKE, 2020).

Dentre todas as técnicas de impressão 3D, a FDM apresenta algumas vantagens importantes como: grande simplicidade e flexibilidade no manuseio e processamento de material, tempo de permanência reduzido de material aquecido, capacidade de produção contínua e baixo custo comparado com outras técnicas (KORPELA *et al.*, 2013).

No estudo de ZHANG *et al.* (2021), scaffolds compostos de PLA e hidroxiapatita foram fabricados com sucesso usando a tecnologia de impressão 3D do tipo FDM. Neste estudo, os *scaffolds* produzidos mostraram excelente bioatividade e uma melhor capacidade de osteo-regeneração *in vivo*.

Já BARBECK *et al.* (2017), produziram *scaffolds* PLA e biovidro por impressão 3D e na avaliação *in vivo* as reações teciduais mostraram vascularização significativa no local do implante com elevado número de células, caracterizando o material com potencial para a cicatrização de defeitos do tecido ósseo e da cartilagem.

Por fim o estudo de ALKSNE *et al.* (2020), avaliou as propriedades bioativas dos *scaffolds* PLA + HA e PLA + BG impressos em 3D (FDM) e comparou seu impacto na osteogênese *in vitro* e os resultados mostraram que as partículas BG, em comparação com a HA, são mais adequadas para a produção de *scaffolds* compostos impressos em 3D para regeneração óssea, já que íons dissociados de BG, sílica, cálcio, sódio e fosfato estimulam a osteogênese mais do que o HA.

Quanto a importância dos poros, o estudo feito por ABBASI *et al.* (2020) examinou o tamanho dos poros e a porosidade no comportamento celular durante ossificação e angiogênese, bem como a porosidade dos scaffolds quanto as propriedades mecânicas e de degradação. Entre as várias técnicas de fabricação, as tecnologias de fabricação aditiva, provaram ser as mais bem-sucedidas na fabricação de designs personalizados de *scaffolds* 3D com a melhor configuração para o controle e tamanho dos poros, sendo os *scaffolds* macroporoso (100 e 600  $\mu\text{m}$ ) permitem uma melhor integração com o tecido ósseo hospedeiro.

Com relação às propriedades mecânicas do *scaffolds*, um maior módulo de compressão está associado a tamanhos de poros menores, uma porosidade gradiente e

poros orientados escalonados. A vantagem de usar *scaffolds* de porosidade gradiente é a sua capacidade de manter e recuperar suas propriedades elásticas após a deformação, enquanto os poros quadrados ajudam a melhorar a resistência mecânica. Uma taxa de degradação mais rápida é atribuída a um tamanho de poro maior, por ser maior a dispersão de produtos ácidos durante a degradação (ABBASI *et al.*, 2020).

Ainda quanto aos poros, DIEZ-ESCUADERO *et al.* (2021), produziu *scaffolds* em PLA e HA impressos em 3D (FDM) com variações sistemáticas no tamanho dos poros e geometria. Foram comparados dois tipos de geometrias compostas por triângulos, com ângulos agudos e tamanhos de poros de 200  $\mu\text{m}$ , e hexágonos com uma média de 450  $\mu\text{m}$  com maior número de ângulos obtusos, sendo observado apenas pequenas diferenças entre os dois em termos de viabilidade celular e diferenciação osteoblástica. No entanto, a mineralização foi fortemente aprimorada na presença de poros triangulares e hexagonais.

Dessa forma, a técnicas de impressão 3D permite a fabricação de *scaffolds* de forma controlável com deposição espacial desejável. Nesse contexto, o poli (ácido láctico) (PLA) tem se mostrado favorável à fabricação de *scaffolds* via impressão 3D, sendo proposto como biomaterial adequado utilizados em regeneração do tecido ósseo.

Além disso, observa-se que a regeneração óssea pode ser maximizada combinando materiais para formação de *scaffolds* mais bioativos, com a tecnologia de bioimpressão 3D, que oferece um controle cada vez mais preciso sobre a arquitetura de construção e conteúdo espacial, que são importantes para o crescimento celular.

#### **4.6.1 *Scaffolds* favo de mel**

Com o avanço da tecnologia, a impressão 3D com o design auxiliado por computador (CAD), permitiu o desenvolvimento de novas formas geométricas para *scaffolds* ósseos, o que possibilitou a combinação de produtos personalizados com arquiteturas cada vez mais complexas (WU *et al.*, 2020).

Entre os tipos de biomateriais produzidos pela tecnologia 3D, os *scaffolds* de favo de mel têm atraído cada vez mais a atenção de pesquisadores, dado à sua alta porosidade e bom desempenho mecânico, que lhes proporciona grande potencial para engenharia de tecidos e da medicina regenerativa, além de já ser aplicado em campos como o da arquitetura, transporte, engenharia mecânica e química e nanofabricação (ZHANG *et al.*, 2015, PEREZ e MESTRES, 2016, MISHRA, MILITKY, 2019).

Os *scaffolds* de favo de mel são células unitárias com diâmetros que variam de micrômetros a milímetros com estruturas fechadas, repetidas em duas dimensões, a fim de criar um sólido celular (ZHANG *et al.*, 2015). Tais estruturas, seguem o preceito da biomimética, que é um ramo da ciência que se apropria de formas encontradas na natureza e de seus desenhos para atingir características específicas. No caso dos *scaffolds* favo de mel, assim como sugere seu nome, a inspiração veio dos desenhos dos favos de mel produzidos pelas abelhas, que conforme sua distribuição pode ser organizadas para criar formas triangulares, quadradas, hexagonais ou circulares, sendo as células hexagonais, a mais comum (MISHRA e MILITKY, 2019).

No que concerne à medicina regenerativa, a produção desse biomaterial está, entre outras áreas, ligada a regeneração óssea, que segundo PAUN *et al.* (2018) tem como desafio a projeção de estruturas com uma porosidade adequada, que permita a migração, a proliferação e a vascularização das células semeadas para a promoção da osteogênese. Cabe destacar que além da porosidade, diversos fatores influenciam no desempenho do *scaffolds* de crescimento celular, tais como: a estrutura unitária, a forma, estrutura do poro e permeabilidade, entre outros parâmetros (WANG *et al.*, 2021).

Conforme dados da literatura, a porosidade de um *scaffold* é primordial para o desenvolvimento da osteogênese e deve ser de aproximadamente de 60% (CHEN *et al.*, 2020) a 80% (WANG *et al.*, 2021). No que concerne ao tamanho dos poros, relata-se que, poros muito grandes (macroporos poros > 50  $\mu\text{m}$ ) tendem a afetar a capacidade das estruturas de fornecer suporte físico para a célula, enquanto poros muito pequenos (microporos < 50  $\mu\text{m}$ ) limitam a semeadura e alimentação das células nas superfícies internas das estruturas (WANG *et al.*, 2021, KAWANO *et al.*, 2014, PEREZ e MESTRES (2016).

Segundo estudos, as estruturas dos *scaffolds* de favo de mel, além de apresentar uma boa porosidade, ela oferece excelentes propriedades mecânicas, como: alta resistência, boa absorção de energia, baixo peso e menos material, o que tem atraído a atenção de pesquisadores de diversas áreas, sendo destacado aqui a medicina regenerativa Frisa-se que o padrão hexagonal é um design exclusivo com uma área de contato máxima entre as camadas nas interseções, o que faz com que mantenha sua alta porosidade (THOMAS e TIWARI, 2019, SARI *et al.*, 2021, WANG *et al.*, 2021).

ROOHANI *et al.* (2016) em seu estudo com um *scaffolds* vitrocerâmico com design hexagonal puderam demonstrar uma alta resistência à fadiga (1.000.000 ciclos a

1–10 MPa de carga cíclica de compressão), boa confiabilidade de falha e resistência à flexão (30 MPa) em comparação com os da arquitetura convencional, sendo que a resistência obtida foi de 150 vezes a mais do que os valores relatados para *scaffolds* poliméricos e compósitos, assim como foi 5 vezes maior do que os valores relatados para *scaffolds* de cerâmica e vidro com porosidade semelhante (50% a 70%).

Por sua vez, SAKEMI *et al.* (2021), em seu estudo com blocos cilíndricos contendo macroporos quadrados com canais organizados de forma unidirecional, demonstrou que a arquitetura do favo de mel produzida pelo método de extrusão, permitiu que vasos ósseos e sanguíneos penetrassem facilmente nos *scaffolds* através desses canais, além de proporcionar uma elevada força mecânica na direção dos poros.

Já no estudo de WANG *et al.* (2021), pode-se observar a análise de quatro conjuntos de modelos de *scaffolds* hexagonais com características diferentes projetadas pela tecnologia 3D com o mesmo tamanho básico (1mm), descritas da seguinte maneira: 1°) *Scaffolds* com estrutura uniforme simples; 2°) *Scaffolds* com estrutura uniforme que se sobrepõem; 3°) *Scaffolds* composto por duas estruturas unitárias com diferentes tamanhos e espessuras, e o tamanho dos poros possui um certo gradiente ao longo da direção longitudinal; e 4°) *Scaffolds* com estrutura uniforme, exceto que a estrutura unitária é baseada na estrutura hexagonal regular em favo de mel e adiciona um conjunto de estruturas curvas internas. Neste estudo, foi possível observar que as quatro estruturas podem atender aos requisitos de propriedades estáticas, assim como corresponderam ao módulo de elasticidade (1,6–3 GPa) do osso esponjoso (0,1–4,5 GPa), e obteve resistência ao escoamento (88–146 MPa) maior do que a do colo do fêmur (0,56–3,71 MPa).

DOMÍNGUEZ-RODRÍGUEZ *et al.* (2018), por sua vez, ao avaliar o efeito da orientação de impressão e a densidade relativa das propriedades compressivas, incluindo a rigidez das amostras impressas em 3D com padrões de preenchimento em favo de mel e retangular, descobriram que os padrões de preenchimento em favo de mel são mais rígidos e mais fortes quando comparados com o preenchimento retangular. No entanto, o preenchimento em favo de mel levou quase o dobro do tempo de impressão do preenchimento retangular.

Tal resistência mecânica, tem sido atribuída à maior área de contato entre os suportes impressos, que leva a uma transferência de carga aprimorada, bem como à arquitetura altamente anisotrópica dos andaimes com padrões hexagonais.

De acordo com HAYASHI *et al.* (2022), os *scaffolds* favo de mel possuem o potencial de atingir os requisitos acima mencionados devido às seguintes razões: 1) sua taxa de reabsorção e resistência mecânica podem ser controladas ajustando a espessura da haste; 2) seus canais uniaxiais facilitam o crescimento interno de ossos e vasos sanguíneos (canais com tamanho de abertura de 230–300  $\mu\text{m}$ ); 3) microporos ( $<2 \mu\text{m}$ ) dentro dos suportes de *scaffolds* promovem a formação óssea; e 4) microporos de tamanho previsível podem ser criados dentro dos suportes construindo os suportes com componentes esféricos com base na teoria de empacotamento de esferas: empacotamento de esferas de 5  $\mu\text{m}$  cria microporos  $<1 \mu\text{m}$ , resultando no aprimoramento da osteogênese e angiogênese.

Assim, observa-se que a composição do *scaffold* é importante para a biocompatibilidade e, a geometria e os canais de abertura interna primordiais para promover a proliferação e diferenciação celular, bem como a regeneração tecidual.

## 5 METODOLOGIA

A Figura 6 apresenta o fluxograma das etapas experimentais desenvolvidas.

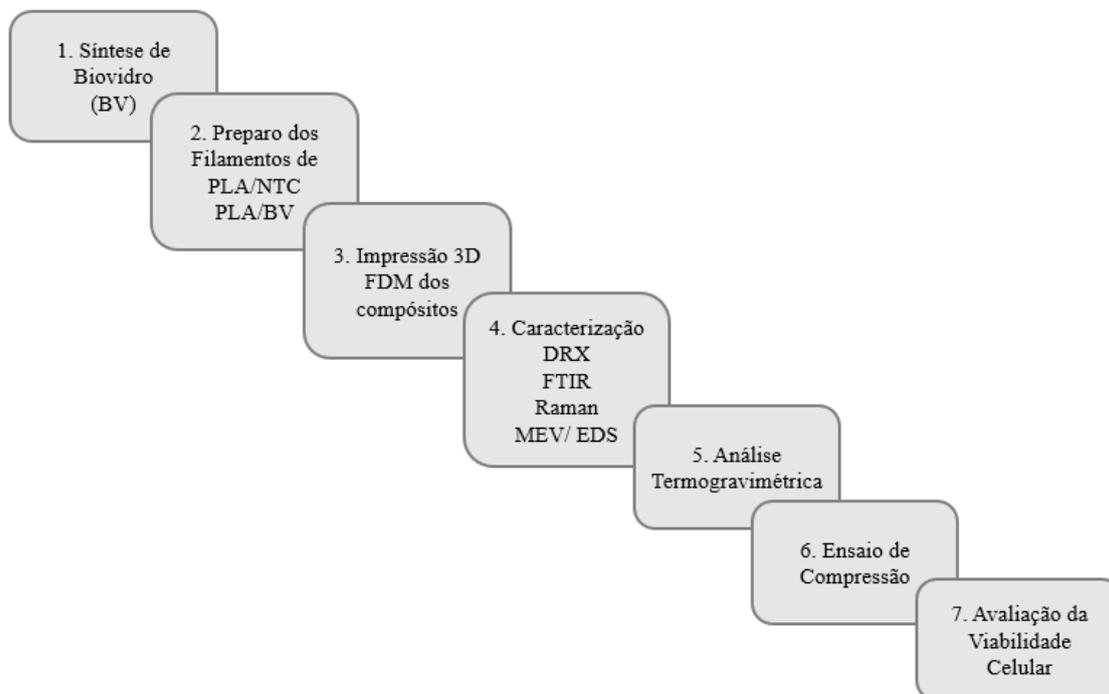


Figura 6: Fluxograma das etapas da metodologia.

### 5.1 SÍNTESE DO BIOVIDRO

A síntese de biovidro por sol-gel seguiu a metodologia adotada por FAURE e colaboradores (2015).

Para a síntese de biovidro foi usado os seguintes precursores químicos: Ortossilicato de tetraetil (TEOS) e fosfato de trietil (TEP) da Sigma-Aldrich (SP/Brasil), nitrato de cálcio tetra-hidratado, nitrato de sódio e o ácido cítrico da Dinâmica (SP/Brasil). A Figura 7 apresenta os reagentes químicos usados na síntese do biovidro.



Figura 7: Reagentes químicos: Nitrato de cálcio tetra-hidratado, nitrato de sódio e ácido cítrico da marca Dinâmica (A). Ortossilicato de tetraetil e fosfato de trietil da marca Sigma (B).

A solução aquosa de ácido cítrico a 5 mM foi utilizada para catalisar a reação de hidrólise. Primeiramente, a solução ácida (26 mL) foi agitada magneticamente no reator termostado da marca THEGA em temperatura ambiente (Figura 8A). Posteriormente, TEOS (11,6 mL) e TEP (1 mL) foram adicionados gota a gota à solução e agitada até que uma solução clara foi obtida. Em seguida, o pó de nitrato de sódio (4,66g) foi adicionado lentamente à solução agitada até sua completa dissolução. Por último, o pó de nitrato de cálcio tetra-hidratado (7,15g) foi adicionado lentamente a solução agitada durante 1h para resultar em um sol transparente. Dessa forma, o sol começou a se transformar em gel através de reações de policondensação (Figura 8B).



Figura 8: Processo de obtenção do biovidro via rota sol-gel: (A) Solução ácida agitada magneticamente no reator termostado; (B) Gelificação da solução. (C) Gel em estufa. (D) Calcinação em mufla. (E) Peneiramento para redução de granulometria.

Posteriormente, o gel foi então mantido a 60°C em estufa marca Gigante modelo G42L por 18h (Figura 8C) e finalmente calcinado a 200 °C e 700 °C por 5 h e 2 h, respectivamente em mufla SOLIDSTEEL modelo SSfm (Figura 8D). Após a etapa de calcinação, o produto passou por processo de peneiramento em peneira com abertura de 100 Tyler para obter um pó de menor granulometria (Figura 8E).

A síntese do biovidro foi replicada três vezes em espaçamento anual (nos anos de 2020, 2021 e 2022). Essa reprodutibilidade foi realizada com o intuito de obter informações sobre a formação de fases bioativas no material estudado. Entretanto, destaca-se que o ácido cítrico pode apresentar alterações na sua concentração durante seu período de manipulação e armazenamento que pode afetar a formação de fases bioativas e indução de formação de outras fases cristalinas.

## 5.2 IMPRESSÃO 3D

Para a preparação dos compósitos impressos de poli (ácido lático) e biovidro (PLA/ BV) e, poli (ácido lático) e nanotubos de carbono (PLA/ NTC), foram usados filamento de PLA de diâmetro 1,75 mm da marca 3D Fila translúcido cortado em pedaços para dissolução em acetona banho ultrassônico e depois misturados em agitador magnético aquecido com solução de BV até evaporação da acetona. Mesmo processo feito com NTC. O resultado da mistura foi depositado na superfície do filamento de PLA e colocado na bobina aquecida a 190 °C da impressora FDM garantido assim, ponto de fusão do PLA e a inserção das nanopartículas na matriz impressa. Todos os detalhes deste processo estão descritos a seguir no item 5.2.1. Os compósitos impressos foram fornecidos pelo grupo de pesquisa em Materiais Nano e Microestruturados da Amazônia da UFPA.

### **5.2.1 Recobrimento do filamento de PLA dopado com BV e NTC para impressão FDM**

Para o processo de produção das soluções de PLA e BV e PLA e NTC foram usados os seguintes materiais: Nanotubos de carbono (0,007g) funcionalizado com ácido carboxílico; biovidro (0,016g) e acetona 100% na quantidade para dissolução do PLA.

Para a dissolubilidade do PLA (0,2g) foi usado uma quantidade de acetona suficiente (5 ml) para dissolver o PLA sem ocorrer degradação do polímero. Depois o BV (0,016g) foi disperso em 1,5 ml de acetona em lavadora ultrassônica L100 Schuster por 360 segundos. Posteriormente, as soluções de PLA e BV foram colocadas em agitador magnético a temperatura aproximadamente 65 °C para evaporação da acetona, ocorrendo redução do volume e aumento da viscosidade. Ao final do processo, a solução resultante foi usada para recobrimento do filamento de PLA.

O mesmo processo foi usado para a solução com NTC. Para a dissolubilidade do PLA (0.2g), foi usado uma quantidade de acetona suficiente (5 ml) para dissolver o PLA sem ocorrer degradação do polímero. Já para a dispersão do NTC funcionalizado (0,007g) foi usado 1,5 ml de acetona em lavadora ultrassônica por 360 segundos. Após este processo as duas soluções de PLA e NTC foram colocadas em agitador magnético a temperatura aproximada de 65 °C suficiente para evaporação da acetona, ocorrendo redução do volume e aumento da viscosidade. Ao final do processo, a solução resultante foi usada para recobrimento do filamento de PLA. A Figura 9 apresenta o processo de preparo dos filamentos.

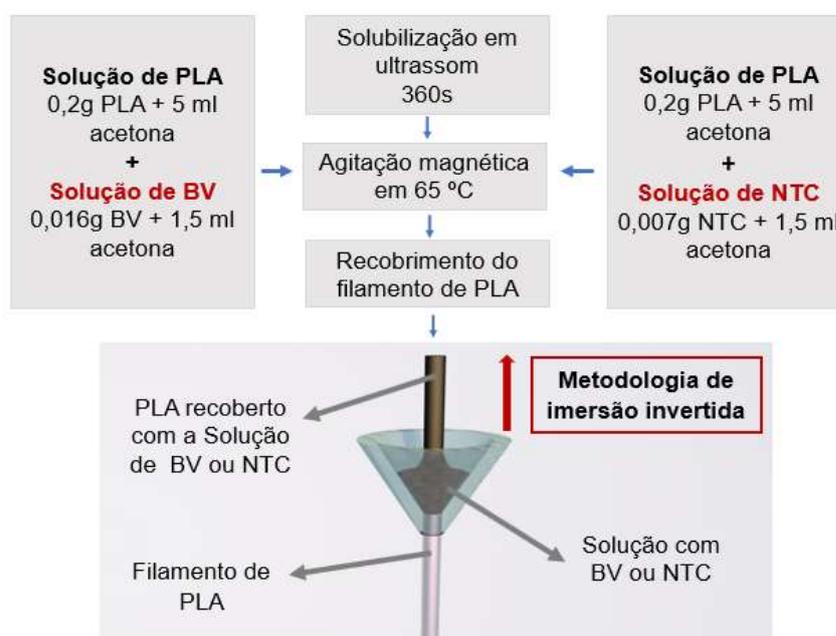


Figura 9: Preparo dos filamentos para impressão FDM.

Para o processo de recobrimento do filamento de PLA foi usado a metodologia de imersão invertida. Essa metodologia consiste no uso de um funil com um pequeno furo de espessura aproximada ao diâmetro do filamento, onde o filamento é introduzido na extremidade do funil. Posteriormente foi adicionado à solução com BV ou NTC na parte superior do funil. O filamento foi tracionado para cima, com velocidade de tração de 0,05 m/s, até que o comprimento útil para impressão fosse pigmentado com a solução dopada com BV ou NTC.

Após este processo, o filamento foi deixado para secagem e aderência em condições ambientes com temperatura de 30 °C por 2h. Após esse tempo foi realizado novamente o procedimento da imersão invertida e, assim, para recobrimento do filamento com uma segunda camada sobreposta sobre a anterior. Finalizado esta etapa,

o filamento foi separado para secagem por mais 5 horas, sendo posteriormente utilizado na impressão FDM.

### 5.2.2 Impressão dos compósitos de PLA/ BV e PLA/ NTC por FDM

O equipamento utilizado para impressão dos compósitos foi uma impressora 3D do tipo FDM comercial da marca Stella<sup>3</sup> LITE. A Figura 10 apresenta a impressora 3D.

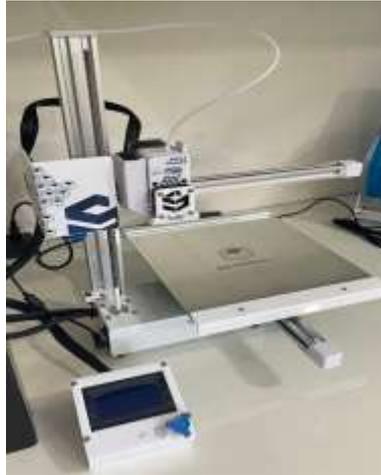


Figura 10: Impressora 3D FDM.

Os parâmetros utilizados na impressão foram:

- ✓ Diâmetro do bico: 0,2 mm.
- ✓ Diâmetro do filamento: 1,75 mm.
- ✓ Diâmetro de abertura: 2 e 4 mm.
- ✓ Espessura de camada: 0,1 mm.
- ✓ Espessura da parede: 0,4 mm
- ✓ Temperatura inicial: 210°C.
- ✓ Temperatura das demais camadas: 180°C.
- ✓ Temperatura da mesa: ambiente.
- ✓ Velocidade de impressão parte externa: 20 mm/seg.
- ✓ Velocidade de impressão parte interna: 10 mm/seg.

As peças impressas foram projetadas pelo software de modelagem Cinema 4D (versão gratuita) e os parâmetros de impressão gerenciados pelo software fatiador Prusa-Slicer versão 2.3.2 (versão gratuita). Dessa forma, foram obtidos os *scaffolds* com as

seguintes dimensões, conforme apresentado na Figura 11, por limitações da impressora FDM.

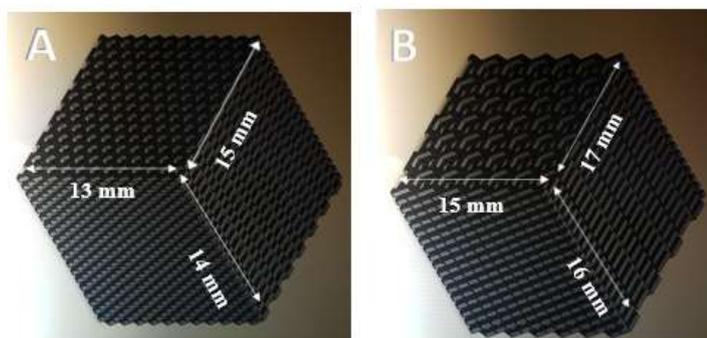


Figura 11: Estrutura dos *scaffolds* projetados com 2 mm (A) e 4 mm (B) de diâmetro de abertura.

### 5.2.3 Impregnação térmica da superfície dos compósitos com biovidro

Para proceder a impregnação da superfície dos *scaffolds* com o biovidro, seguiram-se os devidos passos: As amostras dos *scaffolds* de PLA, PLA/ BV e PLA/ NTC inicialmente foram cortadas nas dimensões 4x4 mm, sem alterar a geometria, esterilizadas em solução de peróxido de hidrogênio em agitador magnético da marca ST-10A por 20 minutos. Depois foram colocados em água destilada por 20 minutos e em seguida secos a temperatura ambiente. Após a esterilização, foi adicionado pó do biovidro sobre os *scaffolds* recobrendo toda a amostra e colocados em estufa da marca Sterilifer modelo SX 1.2 até a temperatura de 130 °C com taxa média de aquecimento de 4,8 °C por minuto, seguido do resfriamento por convecção. Dessa forma foram produzidos *scaffolds* impressos de PLA, PLA/ BV e PLA/ NTC impregnado com biovidro na superfície.

## 5.3 CARACTERIZAÇÕES MICROESTRUTURAL DO BIOVIDRO E DOS COMPÓSITOS

Neste estudo, as técnicas utilizadas para caracterização da microestrutura do biovidro e dos compósitos foram a difração de raios X (DRX), a espectroscopia vibracional no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), Espectroscopia Raman e a microscopia eletrônica de varredura (MEV) com Espectroscopia de raio X por energia dispersiva (EDS). O aspecto visual dos compósitos também foi analisado por microscopia óptica (MO).

### 5.3.1 Difração de raios X

As análises de DRX foram realizadas no difratômetro de raios X do modelo X'Pert Pro 3 MPD (PW 3040/60) PANalytical, com goniômetro PW3050/60( $\theta$ - $\theta$ ) e com tubo de Raios X cerâmico de anodo de Cu ( $K\alpha_1 = 1,540598 \text{ \AA}$ ) modelo PW3373/00, foco fino longo. O equipamento pertence ao Laboratório de Caracterização Mineral da UFPA. A medida foi realizada nas amostras de biovidro e nos filamentos PLA, PLA/BV e PLA/NTC.

### **5.3.2 Espectroscopia vibracional no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)**

A espectroscopia vibracional no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) foi realizada no Laboratório de Caracterização Mineral da UFPA, utilizando um espectrofotômetro da marca Thermo Scientific, modelo Nicolet iS50 FTIR. As amostras foram analisadas na região espectral do infravermelho médio (MIR – Middle Infrared), de  $4.000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ . A medida foi realizada na amostra de biovidro.

### **5.3.3 Espectroscopia Raman**

As medidas de espalhamento Raman foram realizadas no Laboratório de espectrometria vibracional e altas pressões da UFPA, utilizando o equipamento Espectrômetro LabRam modelo HR Evolution da marca Horiba. Para as medidas foram utilizadas as seguintes condições: Laser de 633 nm; Range de  $600 - 3200 \text{ cm}^{-1}$ ; Tempo de 120 segundos; Acumulações de 2; Filtro de Potência do laser de 5% e, Lente de 100x. As medidas foram realizadas nas amostras de biovidro e nos *scaffolds* de PLA, PLA/BV e PLA/NTC antes e após a impregnação térmica com BV na superfície.

### **5.3.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

Para a observação morfológica, uma quantidade do pó e pequenos pedaços dos *scaffolds* foram depositados sobre um porta amostra com o auxílio de fita adesiva de carbono. As amostras foram metalizadas com Au/Pd para permitir condutividade elétrica necessária no processo de formação das imagens, sendo usado metalizadora da marca QUORUM TECHNOLOGIES, SC7620. Em seguida, observado em um microscópio eletrônico de varredura da marca TESCAN VEGA 3 com corrente do feixe de elétrons de  $85-90 \mu\text{A}$ , voltagem de aceleração de 15 kV e WD de 15 mm. O equipamento pertence ao laboratório de Nanociência e Nanotecnologia da Amazônia da UFPA. A observação por MEV foi realizada nas amostras de biovidro e dos *scaffolds*

PLA, PLA/BV e PLA/NTC antes e após a impregnação com BV na superfície. A medição do tamanho de poro dos filamentos também foi realizada por MEV.

### 5.3.5 Microscopia Óptica

Os *scaffolds* PLA, PLA/BV e PLA/NTC produzidos por impressão 3D foram observados também em microscópio óptico da marca Even com amplitude de 10x e zoom de 0.8x. O equipamento pertence ao laboratório de Caracterização de Materiais do campus de Ananindeua da UFPA. A observação por MO foi realizada nos *scaffolds* PLA, PLA/BV e PLA/NTC.

### 5.4 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA

A análise termogravimétrica (TGA-DTG) foi realizada utilizando um equipamento Shimadzu modelo DTG-60H do laboratório de Óleos da Amazônia (LOA). O teste foi realizado sob uma atmosfera contínua de oxigênio a 50 ml/min, aumentando a temperatura de 20 °C/min da temperatura ambiente para 800 °C. A medida foi realizada na amostra do *scaffold* PLA/NTC impregnada com BV na superfície para avaliar a estabilidade térmica, o comportamento de degradação e a porcentagem da massa residual do andaime composto.

### 5.5 ENSAIO DE COMPRESSÃO

Para determinação das propriedades mecânicas em compressão dos *scaffolds* PLA, PLA/BV e PLA/NTC com 2 e 4 mm diâmetro de abertura, foram confeccionados um conjunto de três corpos de prova de cada tipo de *scaffold* com dimensões de 28x14x13 mm, por impressão 3D dos materiais estudados seguindo as diretrizes da norma ASTM D695-10. Os ensaios foram realizados em equipamento modelo EMIC DL-500 com célula de carga 500 kgf e taxa 1mm/ min que pertence ao laboratório de Eco Compósitos da UFPA. A Figura 12 apresenta a projeção dos corpos de provas.

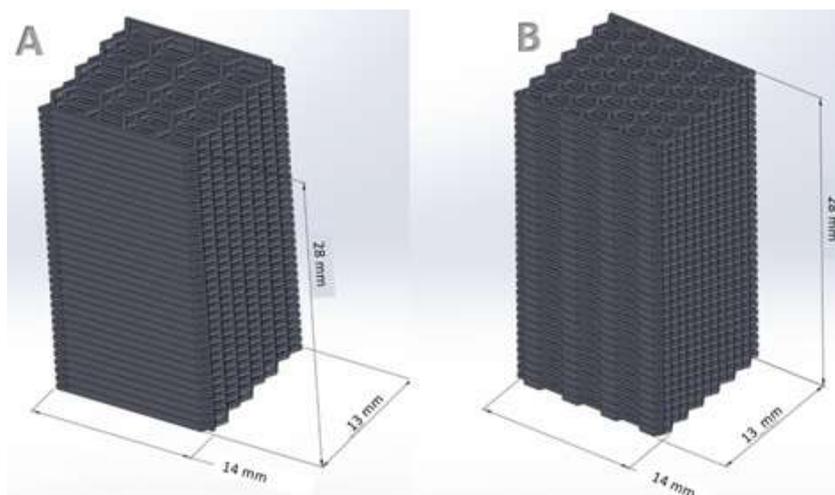


Figura 12: Corpos de provas projetados com 4 mm (A) e 2 mm (B) de diâmetro de abertura para ensaio de compressão.

### 5.6 AVALIAÇÃO DE VIABILIDADE CELULAR

A linhagem celular pré-osteoblástica derivada da calvária murina MC3T3 de ratos (obtida da American Type Culture Collection/ ATTC, EUA) foi utilizada para analisar a viabilidade celular. As células foram cultivadas em meio  $\alpha$ -MEM (meio essencial mínimo) suplementado com soro fetal bovino a 10% e solução antibiótico/antimicótica a 1% (todos de Gibco, EUA). Vinte e quatro horas antes do cultivo nos *scaffolds*, as células foram mantidas em condição nutricionalmente deficiente (meio de cultura sem adição de soro fetal bovino) para manter todas as células na mesma fase do ciclo celular. A viabilidade celular foi avaliada usando o ensaio Alamar Blue, uma solução pronta para uso à base de resazurina, um composto não tóxico que é permeável à célula e de cor azul não fluorescente, que funciona como um indicador da saúde celular. Ao entrar em contato com células metabolicamente ativas, o corante é reduzido a resorufina, um composto de cor vermelha altamente fluorescente que aumenta a fluorescência geral e a cor dos meios circundantes das células, o que permite a avaliação da viabilidade sem a necessidade de separar as células dos *scaffolds* ou lisá-las para avaliação.

As células MC3T3 foram cultivadas nas amostras de andaimes PLA, PLA/BV e PLA/NTC de 2 e 4 mm de diâmetro de abertura impregnadas com BV na superfície em placas de 24 poços a uma densidade de  $1 \times 10^4$  células por poço. Células cultivadas em uma superfície plástica de poliestireno compuseram o grupo controle. Dois experimentos independentes foram realizados em sextuplicado ( $n=6$ ). Após os tempos experimentais de 24, 48 e 72h, o meio foi retirado dos poços e as células incubadas com

30  $\mu\text{L}$  de Alamar Blue (Invitrogen, EUA) e 270  $\mu\text{L}$  de meio  $\alpha\text{-MEM}$  em condições regulares de cultura. Após 4 horas, as absorbâncias da solução foram determinadas utilizando um leitor de microplacas (a 570 nm para a forma reduzida e 600 nm para a forma oxidada) e a redução percentual de Alamar Blue em cada amostra foi calculada utilizando a equação fornecida pelo fabricante.

### 5.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para validação dos resultados obtidos dos testes mecânico e biológicas foi realizado tratamento estatístico. Os dados quantitativos foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão. A análise de variância unidirecional (ANOVA) foi usada para testar a hipótese nula, de que as médias do grupo eram iguais, contra uma hipótese alternativa, de que pelo menos duas das médias do grupo eram diferentes, a um nível de significância = 0,05. Quando o valor de  $p$  resultante do modelo ANOVA inicial foi determinado  $< 0,05$ , foram feitas comparações múltiplas entre as médias dos grupos com o teste de Tukey.

Dessa forma os resultados obtidos foram avaliados utilizando o método de análise de variância (ANOVA) por meio do teste F com nível de significância de 5%, para todos os testes. A ANOVA foi aplicada para verificar a existência de diferenças relevantes entre as médias dos resultados obtidos medidas durante o ensaio mecânico e biológico. A Tabela 1 demonstra os parâmetros estatísticos utilizados para a realização da variância.

Tabela 1: Parâmetros utilizados na análise de variância (ANOVA).

Fonte da variação	SQ	GL	MQ	F	F crítico
Tratamentos	SQTr	k-1	QMT	QMT/QMR	Tabela F
Resíduos	SQR	k(r-1)	QMR		(5% de significância)
Total	SQT	n-1			

Sendo:

SQ – Soma dos quadrados;

GL – Número de graus de liberdade;

MQ – Quadrado médio;

F – Estatística F (Fisher);

SQTr – Soma dos quadrados dos tratamentos;

SQR – Soma dos quadrados do resíduo

SQT – Soma dos quadrados totais;

k – Número de tratamentos (percentuais de reforço de fibras utilizados);

r – Número de repetições do tratamento;

n – Número total de observações;

n-1 – Número total de graus de liberdade;

QMT – Quadrado médio dos tratamentos;

QMR – Quadrado médio do resíduo.

Quando o valor de F calculado for superior ao F crítico, pode-se concluir que as médias dos resultados obtidos para cada tratamento não são iguais. Quando não houve essa igualdade entre as médias, foi necessário a verificação da existência de uma diferença significativa entre as médias dos resultados obtidos por meio do teste de Tukey, onde pode ser obtido o valor de D.M.S. (diferença mínima significativa), encontrado por meio da equação:

$$D.M.S = q \cdot \sqrt{QMR/n}$$

Onde:

q = Amplitude total estudentizada (valor tabulado), ao qual é função do grau de liberdade (GLR) e amostras;

QMR = Quadrado médio do resíduo dentro do grupo;

n = Número de repetições de cada amostra dentro do grupo.

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 6.1 CARACTERIZAÇÃO DO PLA

O poli (ácido lático) é um polímero comercial já muito estudado para uma variedade de aplicações biomédicas. Neste estudo, foi utilizado o filamento de PLA comercial da marca 3D Fila como matriz para produção dos *scaffolds* por impressão FDM.

#### 6.1.1 Difração de raios X

A Figura 13 apresenta o difratogramas de raios X do filamento de PLA.

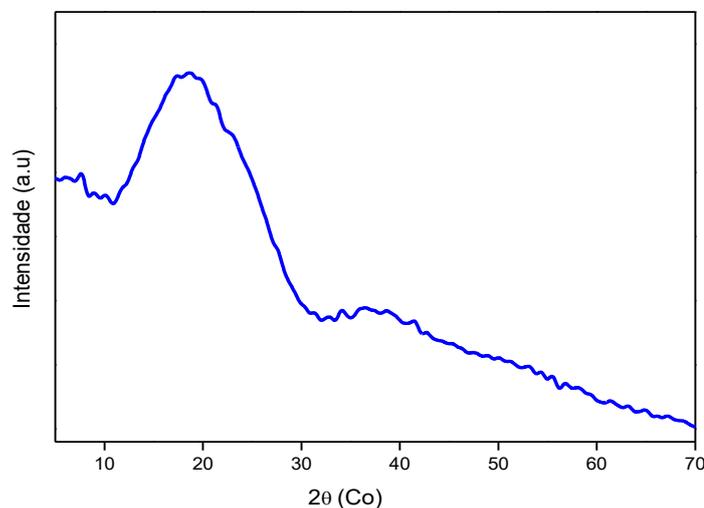


Figura 13: Difratograma do filamento de PLA.

Observa-se que não há picos cristalinos no difratograma do PLA e apenas a existência de uma corcunda ampla no espectro indicando que o filamento de PLA utilizado é predominantemente amorfo. O mesmo padrão foi observado por CHEN *et al.* (2019) e ALAM *et al.* (2020).

#### 6.1.2 Espectroscopia vibracional no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A Figura 14 apresenta o espectro no infravermelho do filamento de PLA.

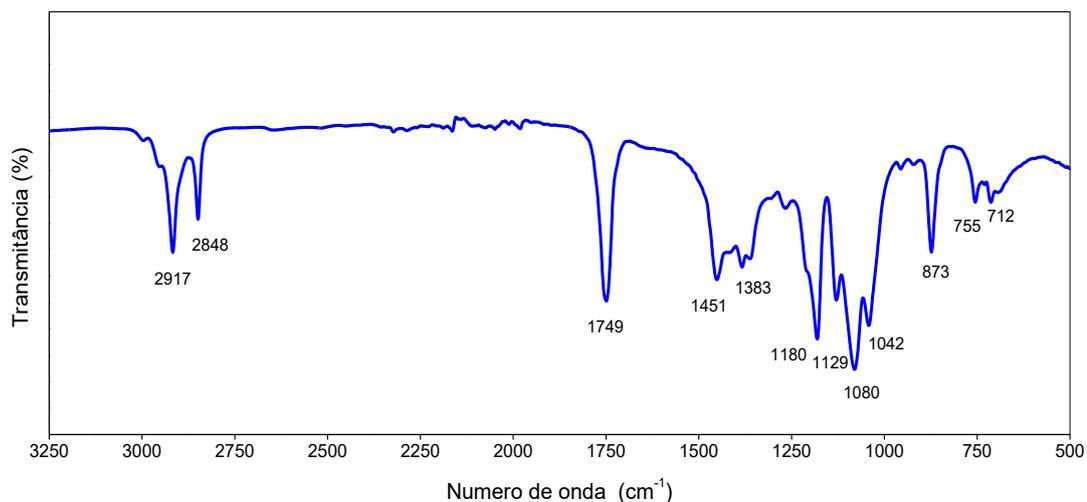


Figura 14: Espectroscopia no infravermelho do filamento de PLA.

No espectro FTIR do filamento de PLA são observadas bandas características de absorção, 2917, 1749, 1180 e 1080  $\text{cm}^{-1}$ , que correspondem às vibrações de alongamento dos grupos -OH, C=O e C-O do PLA, respectivamente. A 1451  $\text{cm}^{-1}$  há uma vibração de dobramento do grupamento  $\text{CH}_3$  e em 1383  $\text{cm}^{-1}$  banda decorrente da deformação C-H. As bandas a 873 e 755  $\text{cm}^{-1}$  correspondem à vibração de alongamento dos grupos C-C e C-H, respectivamente, semelhante ao encontrado por BORTOLI *et al.* (2022).

### 6.1.3 Espectroscopia RAMAN

A Figura 15 apresenta o espectro raman do *scaffold* de PLA produzido por impressão FDM.

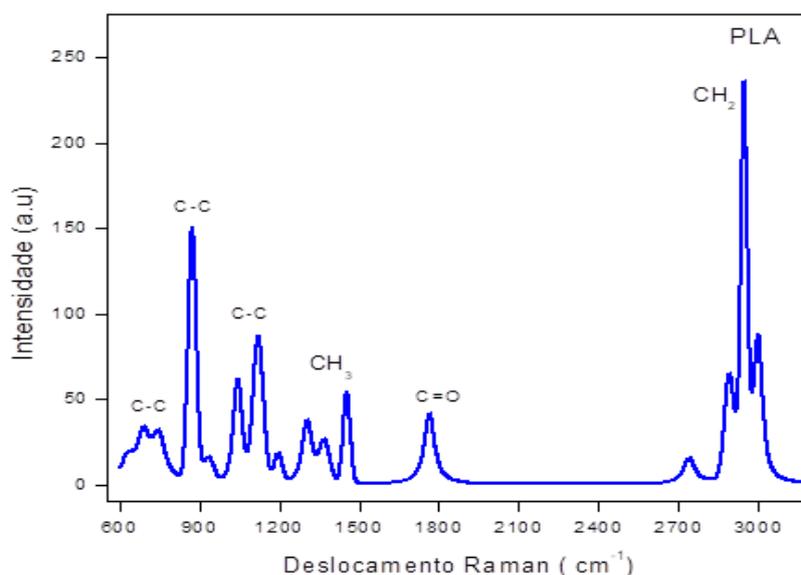


Figura 15: Espectro Raman do *scaffold* de PLA.

Os picos característicos do PLA foram atribuídos a 2740, 2891, 2947 e 3000  $\text{cm}^{-1}$  correspondente à vibração de alongamento do arranjo estrutural  $\text{CH}_2$ ; 1765  $\text{cm}^{-1}$  corresponde à vibração de alongamento de  $\text{C}=\text{O}$ ; 1454, 1370, 1306  $\text{cm}^{-1}$  corresponde à vibração de dobramento do arranjo  $\text{CH}_3$ ; 1196, 1122, 1045, 746, 689 e 632  $\text{cm}^{-1}$  corresponde à vibração de alongamento de  $\text{C}-\text{C}$ ; 934  $\text{cm}^{-1}$  a vibração com  $\text{CH}_3$  modos de balanço e; 873  $\text{cm}^{-1}$  corresponde à vibração de alongamento  $\text{C}-\text{COO}$  da unidade repetitiva da cadeia polimérica do PLA (CHEN *et al.*, 2019; VANO-HERRERA e VOGT, 2017; CUIFFO *et al.*, 2017; AURAS *et al.*, 2011).

## 6.2 CARACTERIZAÇÃO DO BIOVIDRO

### 6.2.1 Difração de raios X (DRX)

A Figura 16 traz os difratogramas de raios X do biovidro sintetizado (triplicatas). Os resultados revelaram que das três réplicas, duas foram semelhantes (1 e 3) e uma foi distinta (2). Os produtos 1 e 3 apresentam como fase principal e semelhante o silicato de sódio e cálcio ( $\text{Na}_2\text{CaSiO}_4$ ), que era a fase majoritária pretendida; como fases secundárias: o silicato de cálcio ( $\text{Ca}_3\text{SiO}_5$ ) foi detectado apenas no produto 1 e o óxido de cálcio ( $\text{CaO}$ ) apenas no produto 3. Já o produto 02 apresentou como fase principal o silicato de sódio e cálcio conhecido como combeite ( $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$ ). A ausência de fases

similares no ensaio (2) pode estar associada a alterações (involuntárias) na concentração do ácido cítrico utilizado na síntese.

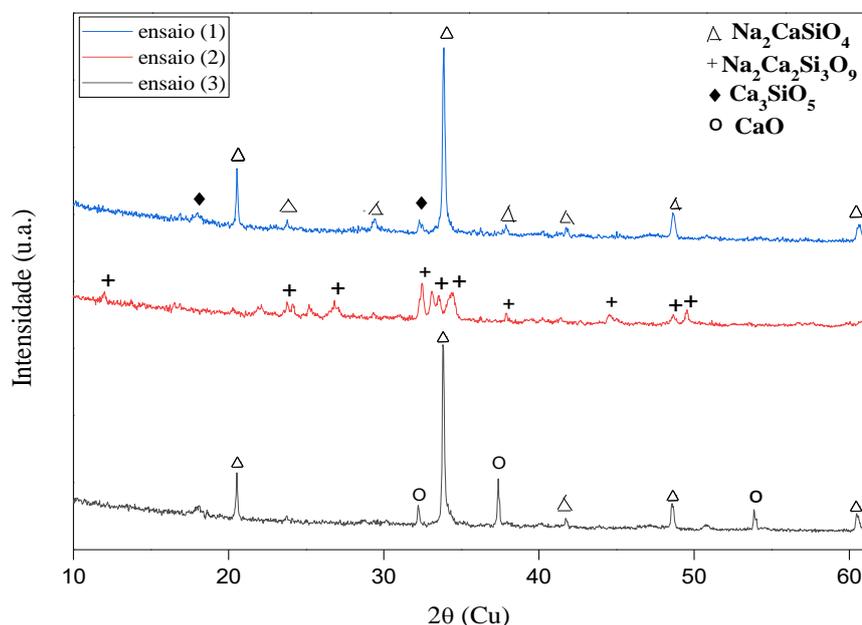


Figura 16: Difratogramas do pó das três sínteses de biovidro por sol gel.

A fase  $\text{Na}_2\text{CaSiO}_4$  também foi aquela presente majoritariamente no biovidro sintetizado por ZHAO *et al.* (2009), usando o mesmo método sol gel aplicado no presente trabalho. Tal fase silicática, de menor peso molecular, tem mais alta capacidade de indução de formação de apatita do que a fase combeíte, de maior peso molecular ( $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$ ) (ZHAO *et al.*, 2009; BELLUCCI *et al.*, 2014). Embora EL-GHANNAM *et al.* (2004) tenham usado o método de sinterização ao invés de sol gel, também obtiveram como fase majoritária no biovidro sintetizado a fase  $\text{Na}_2\text{CaSiO}_4$ .

As cerâmicas bioativas contendo silicatos de cálcio são bastante investigadas devido sua excelente bioatividade e ligação com o tecido ósseo. A fase combeíte ( $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$ ) também foi encontrada como fase principal na síntese de biovidro com ácido orgânico (FAURE *et al.*, 2015; VAFA *et al.*, 2021). Além de outras de fases bioativas de silicatos de cálcio ( $\text{Ca}_3\text{SiO}_5$ ) também encontradas na síntese de biovidro (FU *et al.*, 2017).

## 6.2.2 Espectroscopia vibracional no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A Figura 17 traz os espectros de FTIR do biovidro sintetizado (triplicatas).

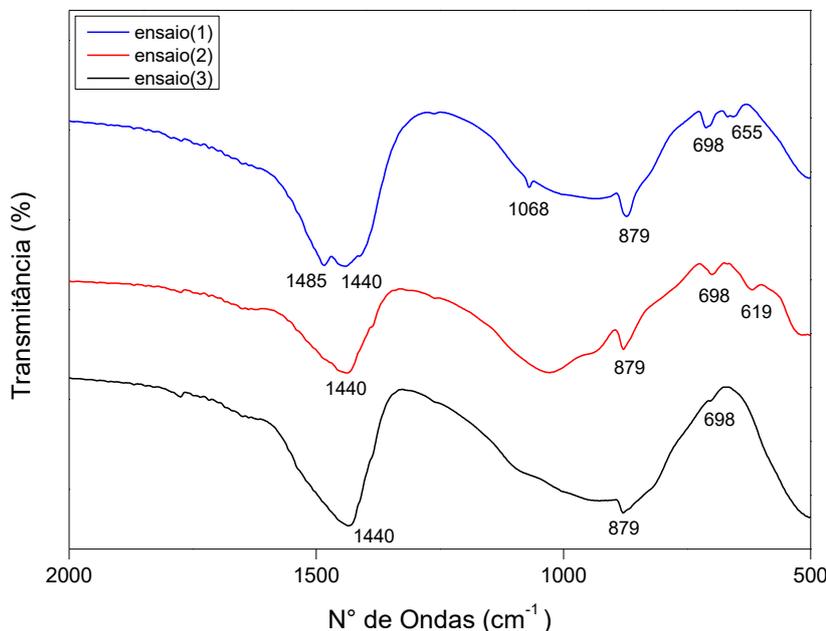


Figura 17: Espectroscopia no infravermelho do pó das três sínteses de biovidro

Observam-se nos três espectros os seguintes comprimentos de ondas correspondendo a: 879 e 1068  $\text{cm}^{-1}$  associados as vibrações de alongamento do silício com oxigênio; 619, 650 e 698  $\text{cm}^{-1}$  as vibrações do grupamento fosfato e, em 1440 e 1485  $\text{cm}^{-1}$  as vibrações de carbono com oxigênio (BENTO *et al.*, 2021; ZHAO *et al.*, 2009, VAFA *et al.*, 2021; LUCAS-GIROT *et al.*, 2011; CACCIOTTI *et al.*, 2012; AGUIAR *et al.* 2009).

Com base nos resultados, optou-se pelo pó da primeira síntese para seguimento da pesquisa por esta apresentar fases de silicato de interesse bioativo de cadeia curta, objetivo desta pesquisa.

## 6.2.3 Espectroscopia RAMAN

A Figura 18 apresenta o espectro Raman do biovidro sintetizado por sol gel no ensaio 1 com suas principais bandas e picos.

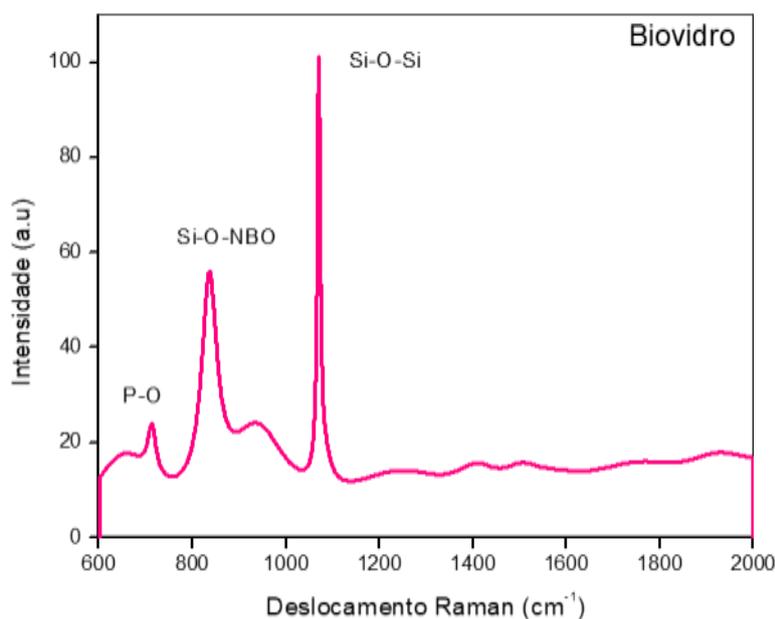


Figura 18: Espectro Raman do Biovidro.

É possível observar as vibrações das bandas típica da ligação Si-O-Si. As bandas de absorção na faixa de 600 a 660  $\text{cm}^{-1}$  foram atribuídas à vibração modo de balanço Si-O-Si, já a faixa de 900 a 970  $\text{cm}^{-1}$  a vibração de alongamento Si-O-NBO (oxigênios não-pontes) e de 1000 a 1200  $\text{cm}^{-1}$  a vibração de alongamento assimétrico de Si-O-Si (AGUIAR *et al.*, 2009 e GONZÁLEZ *et al.*, 2003).

Já as bandas de 800 a 1100  $\text{cm}^{-1}$  associados à ligação Si-O-Si na tetraedra de sílica com um número diferente de oxigênios não-pontes (NBO) (BELLUCCI *et al.*, 2011). Enquanto, as bandas vibracionais em 938  $\text{cm}^{-1}$  são características dos modos de alongamento e dobra Si-O-Si, o pico a 1069  $\text{cm}^{-1}$  é atribuído a uma vibração de alongamento de ligação, na qual o átomo de oxigênio de ponte se move paralelamente às linhas Si-Si na direção oposta aos seus vizinhos Si. Em contrapartida, a banda em torno de 600  $\text{cm}^{-1}$  também pode ser atribuída a vibração do fosfato (P-O) (BALAMURUGAN *et al.*, 2006).

#### 6.2.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de raio X por energia dispersiva (EDS)

A Figura 19 traz as micrografias do pó de biovidro mostrando aglomerados de tamanho variáveis e uma superfície rugosa com formação de poros que são benéficos

para biomateriais por permitir a circulação dos fluído fisiológicos e favorecer crescimento celular.

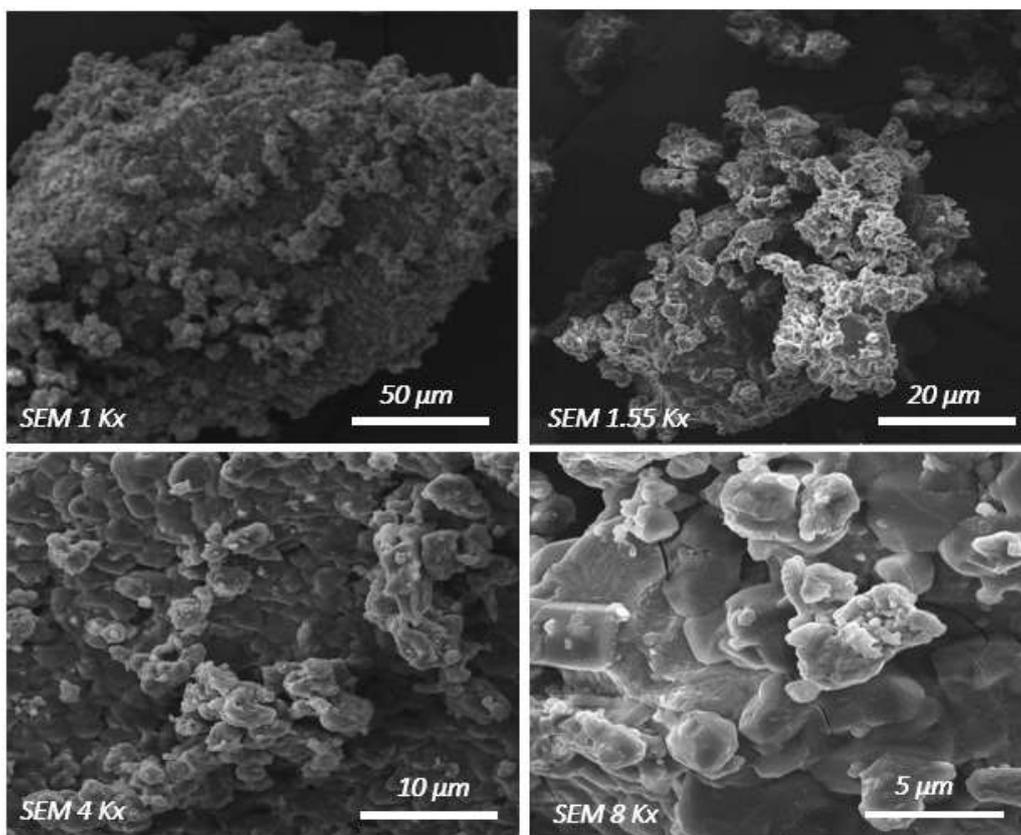


Figura 19: Micrografias do pó do biovidro.

A melhor ligação com o tecido ósseo se deve a maior rugosidade e porosidade do material. Assim, ocorre mais hidratação da superfície e, portanto, a bioatividade é aumentada (VAFA *et al.*, 2021).

Segundo FAURE *et al.* (2015), o uso de ácido cítrico causa mais rugosidade e porosidade na superfície do biovidro devido o ácido cítrico permitir reduzir fortemente a concentração da solução ácida necessária para catalisar a hidrólise de alcóxidos de silício e fósforo. Além disso, a presença de poros é benéfica para os biomateriais, pois permite a circulação do fluído corpóreo e estimula o crescimento celular e, conseqüentemente, gera um aumento na bioatividade (VAFA *et al.*, 2021). Portanto, a presença da porosidade no biomaterial é um importante atributo para a reparação óssea.

Para a avaliação qualitativa da composição química desse pó de biovidro foi utilizado a espectroscopia por energia dispersiva (EDS). Os resultados podem ser observados na Figura 20.

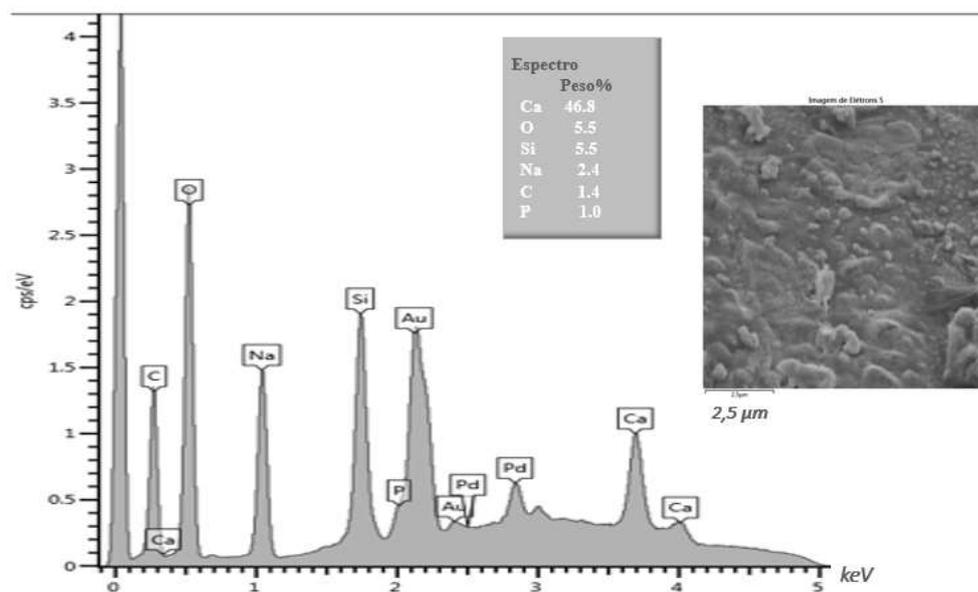


Figura 20: Espectro de EDS do biovidro sintetizado.

Os resultados da composição química mostram a presença dos mesmos elementos que aparecem nas fases de silicato de sódio e cálcio como mostrado no DRX da amostra e, assim, confirmando a presença das fases em questão. Destaca-se que essas fases são importantes para a biocompatibilidade do material em estudo e para induzir a colonização das células, contribuindo para a substituição do compósito pelo tecido ósseo durante o processo de regeneração celular.

O biovidro derivado pelo método sol gel possuem uma superfície mais reativa favorecendo melhor formação da camada de apatita em meio biológico (ARCOS e VALLET-REGÍ, 2010, CATTEAUX *et al.*, 2013). Logo, as pesquisas apontam que a síntese por rota orgânica favorece um produto mais bioativo.

### 6.3 CARACTERIZAÇÃO DO NANOTUBOS DE CARBONO

Os nanotubos de carbono funcionalizados foram produzidos e cedidos pelo grupo de pesquisa em Materiais Nano e Microestruturados da Amazônia da UFPA do campus de Abaetetuba.

#### 6.3.1 Difratoograma de Raios X

O Anexo 1 apresenta o difratograma de raio X dos nanotubos de carbono utilizado na produção dos *scaffolds* deste estudo. Pode-se observar uma corcova ampla no espectro em torno de 26° e 43°.

A posição A em torno de  $26^\circ$ , corresponde a estrutura hexagonal do grafeno e, a posição B, próximo a  $43^\circ$ , corresponde a planos do grafeno (RODRIGUES *et al.* 2022).

### 6.3.2 Espectroscopia RAMAN

O Anexo 2 traz o espectro raman dos nanotubos de carbono utilizado na produção dos *scaffolds* deste estudo, onde é possível observar as bandas D e G na faixa de  $1200\text{ cm}^{-1}$  a  $1700\text{ cm}^{-1}$ , enquanto uma banda 2D foi observada na faixa de  $2500\text{ cm}^{-1}$  a  $3000\text{ cm}^{-1}$ .

Nas principais bandas raman D, G e 2D ou G', a banda de grafeno em  $1582\text{ cm}^{-1}$  é conhecida como a banda G. A banda a cerca de  $2700\text{ cm}^{-1}$  conhecida como a banda 2D ou G'. Essa banda tem sido frequentemente usada para estudar estresse interfacial dos nanotubos com o polímero. Já a banda D em torno de  $1350\text{ cm}^{-1}$  é referida como banda de desordem ou banda de defeito e sua intensidade em relação à intensidade da banda G é frequentemente usada como uma medida da qualidade dos nanotubos de carbono (BATAKLIEV *et al.*, 2019).

Além da principais bandas, observa-se as sub-bandas para um melhor entendimento da influência dos nanotubos com o material de estudo. As deconvoluções lorentzianas mostraram os picos ao redor da banda D (chamados  $D_L$  e  $D_R$ ) referindo-se a sua posição em relação a banda D, respectivamente, e o pico  $D_{Middle}$  que estão relacionados ao grau de carbono amorfo na amostra. Já a banda G apresentou duas grandes sub-bandas,  $G_{interno}$  e  $G_{externo}$ , que estão relacionadas ao estresse/ pressão, estresse/ deformação dos NTC. Além da banda 2D que também apresentou duas sub-bandas, conhecidas como  $2D_{interno}$  e  $2D_{externo}$  que estão relacionadas com as distribuições de diâmetro mais íntimo e externo do NTCPM (RODRIGUES *et al.*, 2022).

## 6.4 CARACTERIZAÇÃO DOS SCAFFOLDS PRODUZIDO POR IMPRESSÃO 3D

### 6.4.1 Características dos filamentos produzidos por impressão 3D

A Figura 21 compara visualmente os filamentos de PLA, PLA/BV e PLA/NTC após extrusão na impressora. Observa-se que o filamento de PLA se apresenta translúcido ou transparente, enquanto o filamento de PLA e biovidro mais branco e opaco. Já o filamento de PLA e NTC, apresenta-se mais escuro. Os filamentos produzidos apresentam 1,75mm de diâmetro.

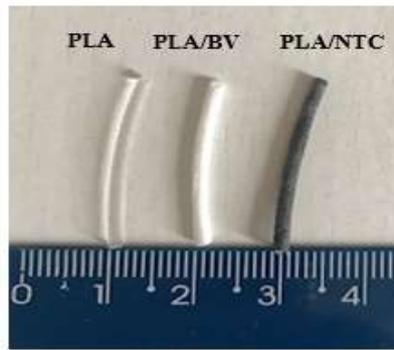


Figura 21: Filamento produzido na impressão 3D.

Quanto ao difratograma dos filamentos é apresentado na Figura 22. O difratograma do filamento de PLA puro apresenta apenas o halo amorfo. Já no difratograma do PLA/BV e PLA/NTC, observa-se dois picos correspondentes a  $2\theta$  iguais a  $16,5^\circ$  e  $19^\circ$  relativos a cristais e sendo mais intenso no PLA/NTC.

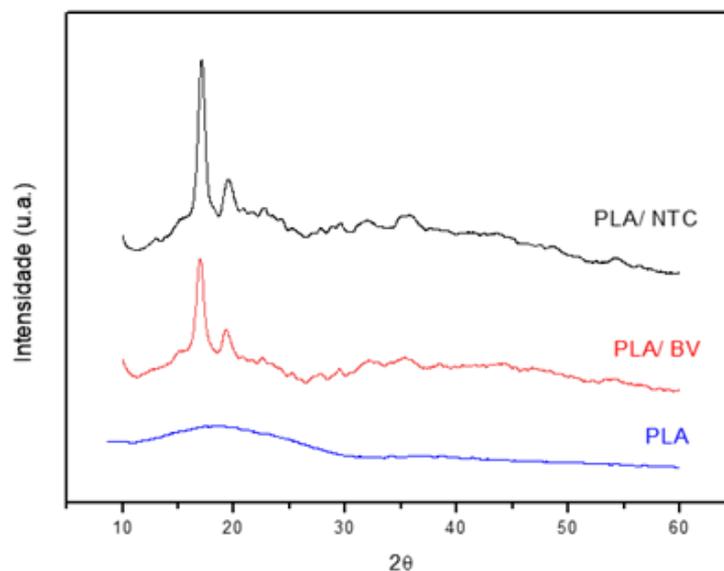


Figura 22: Difratograma dos filamentos de PLA, PLA/BV e PLA/NTC produzidos na impressão 3D.

Estes picos correspondem aos cristais  $\alpha'$  e  $\alpha$ , respectivamente, do PLA que segundo HUANG *et al.* (2017), é devido a fusão do polímero que ocorre na extrusão da impressão FDM, sugerindo que o comportamento cristalino do PLA é afetado pelo BV e NTC após a impressão 3D. De acordo com Zhou *et al.*, (2021), essa adição atua como local de nucleação para o crescimento de cristais de PLA.

Já a Figura 23 mostra as micrografias dos filamentos de PLA, PLA/BV e PLA/NTC produzidos pela impressão FDM. Pode-se observar que o filamento PLA não apresentou porosidade, porém com a adição de BV e NTC, observou-se o aparecimento de poros na estrutura do filamento PLA. A média de tamanho de poro para o filamento com BV foi igual a  $2,43 \pm 1,29 \mu\text{m}$  e para o filamento com NTC  $5,83 \pm 3,20 \mu\text{m}$ . Dessa forma, a inserção desses componentes no PLA causou um aumento da porosidade no filamento.

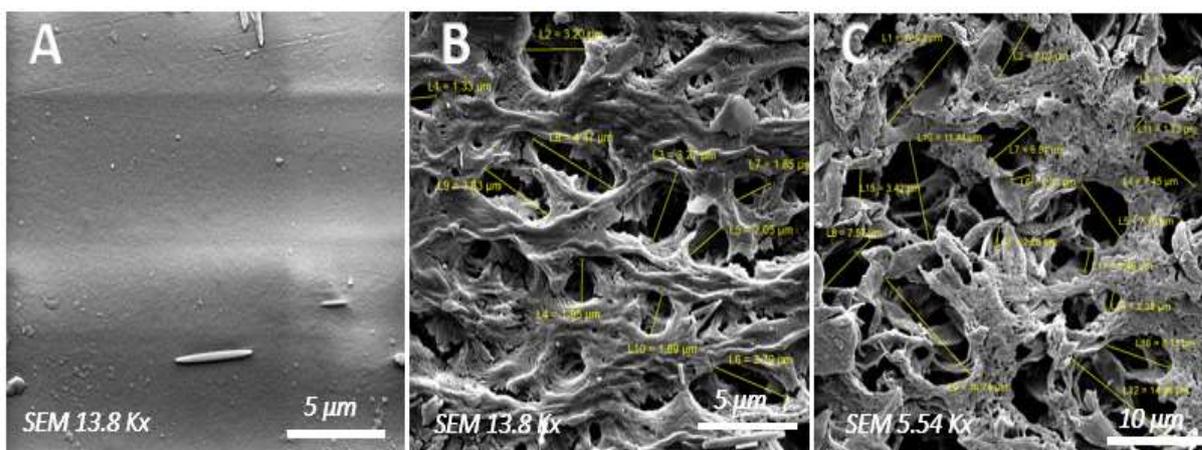


Figura 23: Micrografias dos filamentos de PLA (A), PLA/BV (B) e PLA/NTC (C).

#### 6.4.2 Aspecto visual dos *scaffolds*

Nos *scaffolds* produzidos por impressão FDM, observa-se que o PLA é mais translúcido em relação ao compósito de PLA/BV, enquanto o de PLA/NTC possui a coloração mais escura, conforme se observa na Figura 24 os *scaffolds* produzidos com 4 e 2 mm de diâmetro de abertura.

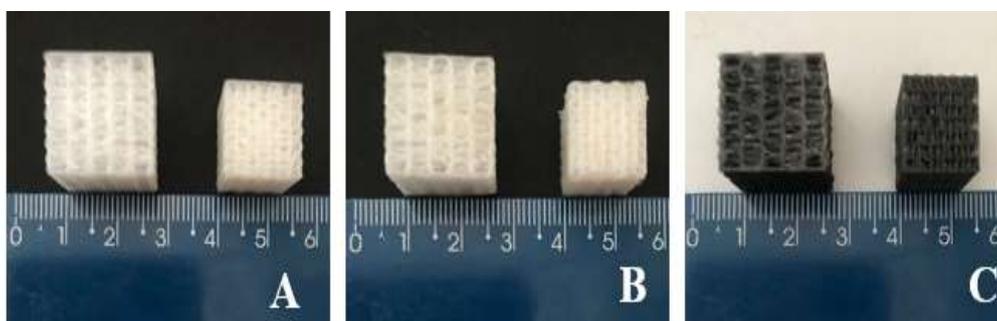


Figura 24: Aspecto visual dos *scaffolds* produzido por impressão 3D de 4 mm e 2 mm de diâmetro de abertura: Em (A) PLA, (B) PLA/BV e (C) PLA/NTC.

Já na Figura 24, pode-se observar o *scaffold* em diferentes vistas, assim como a geometria da abertura hexagonal de semelhança a favo de mel.

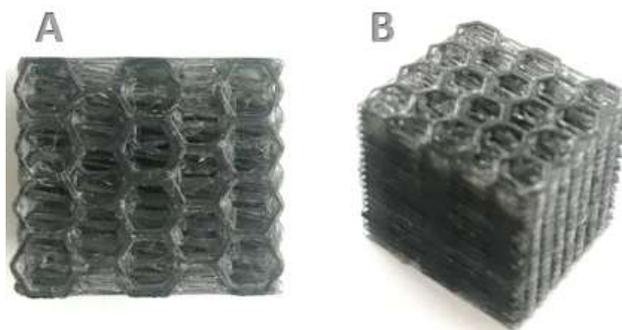


Figura 25: Diferentes vistas dos *scaffolds* produzido por impressão 3D, vista frontal em (A) e vista lateral em (B).

É possível observar as treliças internas produzidas pelas estruturas intercaladas das aberturas hexagonais, dessa forma, produzindo diâmetros menores em sua estrutura interna.

Na Figura 26, pode-se observar as imagens obtidas por microscopia óptica com amplitude de 10x e zoom de 0,8x. Assim, também se observa a geometria de formato favo de mel com estruturas hexagonais.

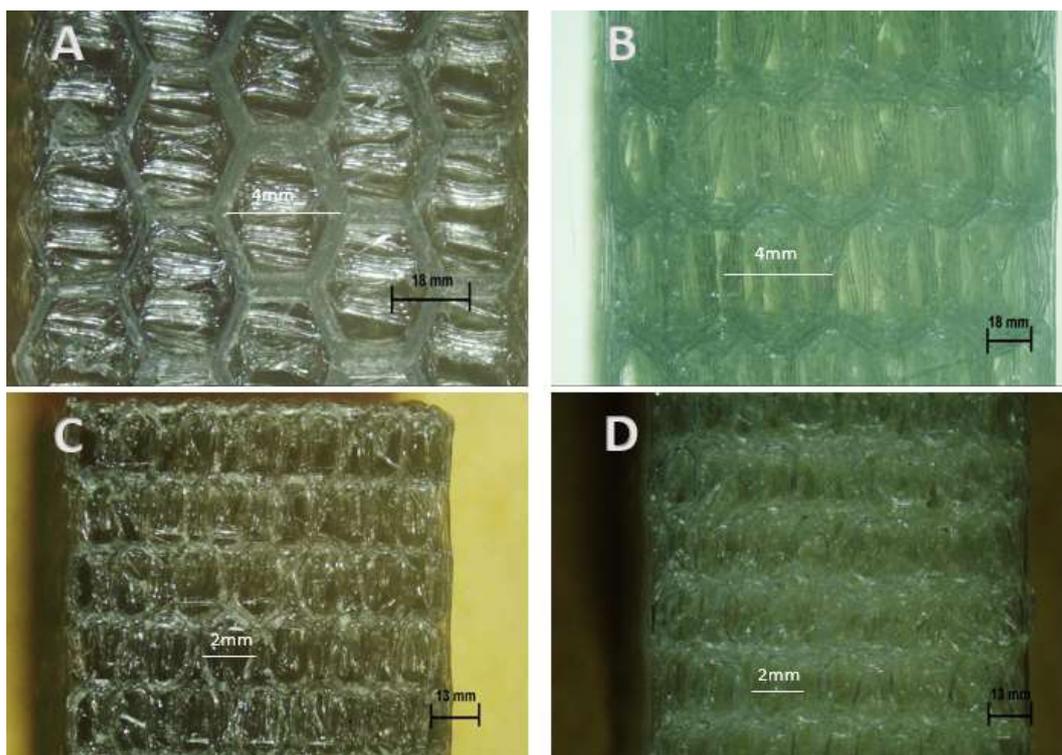


Figura 26: Vista superior dos *scaffolds* por microscópio óptico com amplitude de 10x e zoom de 0,8x. *Scaffolds* de 4mm de abertura (A e B) e *scaffolds* de 2mm de abertura (C e D).

Conforme observado na Figura 26 (A e B), os *scaffolds* impressos com diâmetro de abertura 4 mm possuem 18mm de tamanho de peça e, na Figura 26 (C e D) os

impressos com diâmetro de 2mm, possuem 13mm de tamanho de peça. Também foi possível confirmar os tamanhos das aberturas dos dois tipos *scaffolds* produzidos.

Segundo DIEZ-ESCUADERO *et al.* (2021), os *scaffolds* com geometria de ângulos agudos e obtusos favorecem melhor viabilidade celular e diferenciação osteoblástica. Em seu estudo, com *scaffolds* de PLA e HA produzidos por impressão 3D, apontaram um melhor resultado para aberturas hexagonais. Assim como, ABBASI *et al.* (2020), mostraram a importância do tamanho das aberturas e geometria no comportamento celular durante a ossificação e angiogênese.

#### 6.4.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos *scaffolds*

A Figura 27 apresenta as micrografias dos *scaffolds*. Na Figura 27 (A), no *scaffold* de PLA se observa a superfície lisa. Já na Figura 27 (B), no *scaffold* de PLA/BV se observa a presença do biovidro fazendo parte da estrutura do PLA e, na Figura 29 (C e D), no *scaffold* de PLA/ NTC se observa a presença dos nanotubos de carbono visualizados em área de corte do *scaffold* ficando assim exposto na estrutura de PLA.

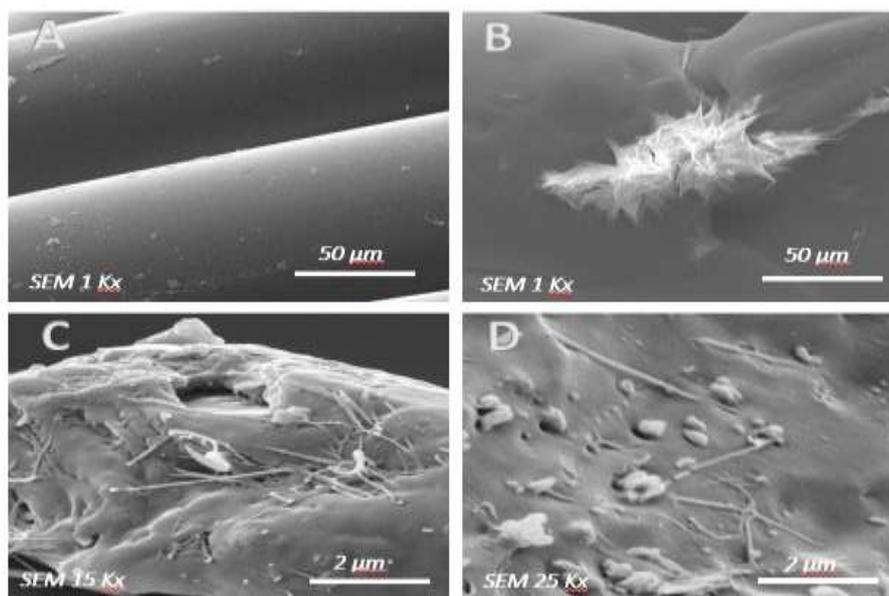


Figura 27: Micrografias dos *scaffolds* de PLA (A), PLA/BV (B) e PLA/NTC (C e D).

Já na Figura 28 se tem as micrografias dos *scaffolds* após impregnação térmica da superfície com biovidro. Na Figura 28 (A), observa-se as partículas do biovidro em aglomerados aderidas a superfície do *scaffold*. Já na Figura 28 (B), as partículas de biovidro aderidas entre as treliças internas do *scaffold* e, na Figura 28 (C) as partículas se fundindo na parede do *scaffold*.

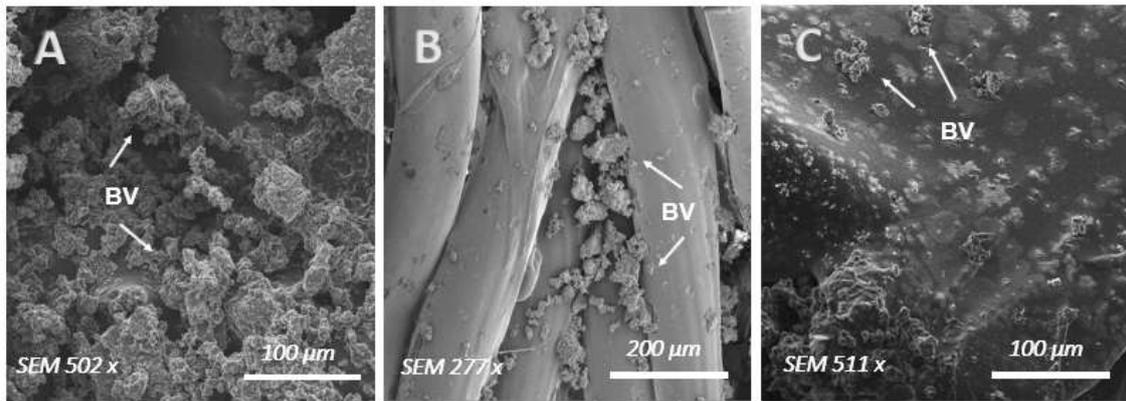


Figura 28: Micrografias dos *scaffolds* após a impregnação térmica da superfície com biovidro: PLA (A), PLA/BV (B) e PLA/NTC (C).

Com as partículas de biovidro aderidas na superfície dos *scaffolds* se pretende aumentar a bioatividade dos *scaffolds* por meio das propriedades bioativas do biovidro.

O poliácido láctico (PLA) têm sido considerado importante biomaterial devido à sua excelente biocompatibilidade e degradação em meio fisiológico, além de já aprovado para testes clínicos em humanos pela *Food and Drug Administration* dos EUA (HAMAD *et al.*, 2015, FARAH *et al.*, 2016). No entanto, o PLA puro tem baixa resposta celular, no estudo de CANALES *et al.* (2021), as nanopartículas de biovidro incorporadas no PLA por processo de fusão mostraram que a incorporação aumentou a degradação hidrolítica do polímero aprimorando seu processo de degradação e a bioatividade induzida pelo biovidro.

Além disso, com a impressão 3D foi possível desenvolver estruturas em favo de mel intercalado e com isso, favorecer várias dimensões de diâmetro de abertura na parte interna dos *scaffolds*, como mostrado na Figura 29 que apresenta as micrografias dos *scaffolds* com 2 e 4 mm de diâmetro de abertura numa visão da superfície superior dos *scaffolds* cortados. As micrografias foram realizadas para verificar as dimensões de tamanho de abertura interna obtidos com a estrutura favo de mel intercalado.

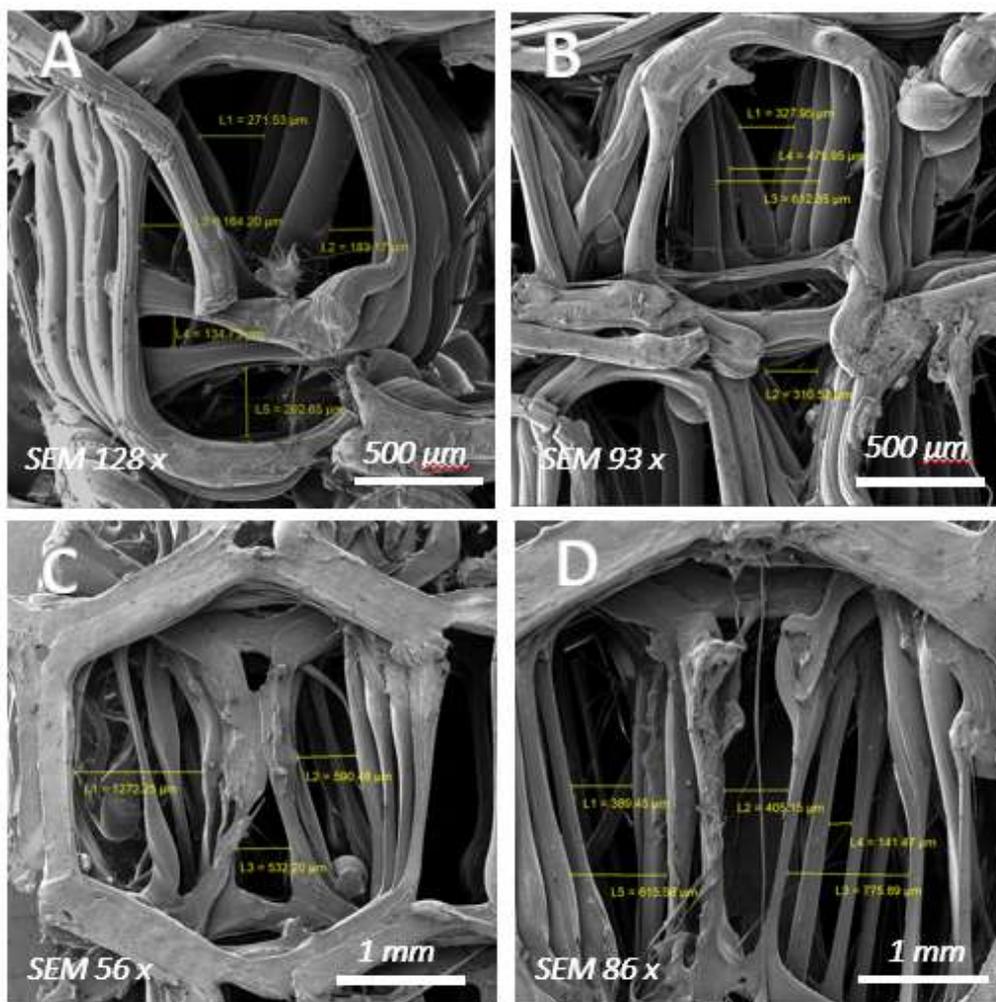


Figura 29: Micrografias dos *scaffolds* impressos: A e B com 2mm diâmetro de abertura e C e D com 4mm de diâmetro de abertura.

Assim, a Figura 29 mostra o modelo polimérico poroso 3D obtido pela impressão FDM. A presença de uma rede de aberturas interconectadas é uma característica fundamental para aplicações em regeneração óssea, a fim de favorecer a migração celular, vascularização e crescimento de um novo tecido. A Figura 29 (A e B) apresenta as micrografias do *scaffold* impresso com 2 mm de diâmetro de abertura que apresentou diâmetros interno de tamanho entre 130  $\mu\text{m}$  e 500  $\mu\text{m}$ . Já na Figura 29 (C e D), a micrografia do *scaffold* impresso com 4 mm apresentou diâmetros interno de tamanho entre 150  $\mu\text{m}$  e 800  $\mu\text{m}$ .

Dessa forma, é possível perceber que, devido a estrutura intercalada dos favos de mel, ocorre a formação de várias treliças internas que reduzem as dimensões internas. A geometria, tamanho das aberturas e a interconectividade são fatores que facilitam a angiogênese e promover uma boa vascularização, fixação, proliferação e diferenciação celular, sendo fundamentais para a regeneração óssea (MOHAMMADI *et al.*, 2021).

Frente a este contexto, CHEN *et al.* (2020), em seu estudo relata a criação de *scaffolds* porosos com tamanhos de abertura de 500  $\mu\text{m}$ , 600  $\mu\text{m}$  e 700  $\mu\text{m}$  que foram estudados e comparados entre si, os resultados experimentais *in vitro* indicaram que a proliferação e diferenciação celular dependiam significativamente do tamanho das aberturas dos *scaffolds*, apontando que aberturas de 500  $\mu\text{m}$  resultaram em melhor adesão celular, proliferação e diferenciação osteogênica de células ósseas, assim como nos testes *in vivo*, onde se teve o melhor crescimento ósseo entre todos os *scaffolds*.

Já para MOHAMMADI *et al.* (2021), sugere que *scaffolds* com aberturas de 320-600  $\mu\text{m}$ , e geometria hexagonal favorecem melhor osteogênese e angiogênese. Além disso, discute a importância da composição para os *scaffolds* de regeneração óssea e aponta que os materiais à base de silicato têm se mostrado mais promissores em relação aos de fosfato de cálcio devido à liberação de silício (Si), que é benéfico para o crescimento e diferenciação das células osteoblastos e, para os desafios quanto as limitações mecânicas, sugere pesquisas sobre o design de *scaffolds* para otimizar as propriedades biomecânicas.

O requisito mínimo para o tamanho das aberturas é considerado aproximadamente 100  $\mu\text{m}$  devido ao tamanho da célula, requisitos de migração celular e transporte de nutrientes. No entanto, os tamanhos maiores de 300  $\mu\text{m}$  são recomendados, devido à nova formação óssea aprimorada e à formação de capilares (KARAGEORGIU *et al.*, 2005).

Estudos têm se concentrado na estrutura geométrica dos *scaffolds*, pois além da composição, a estrutura geométrica também é considerada importante para induzir diferenciação celular e a formação óssea. O estudo de HAYASHI *et al.* (2020), aponta a geometria com limiar de tamanho efetivo da abertura dos *scaffolds* favo de mel para regeneração óssea variando de 200 a 300  $\mu\text{m}$  e demonstrando que os canais uniformes e interconectados do *scaffolds* permitem fácil penetração de células e vasos sanguíneos. Complementando, DIEZ-ESCUADERO *et al.* (2021), afirma que aberturas hexagonais de 450  $\mu\text{m}$  com ângulos obtusos melhoraram a mineralização óssea.

#### **6.4.4 Espectroscopia Raman**

Na Tabela 2, encontra-se as nomenclaturas usadas nos *scaffolds* para a caracterização Raman antes e após a impregnação da superfície com biovidro.

Tabela 2: Descrição das siglas de cada *scaffold* analisado pela espectroscopia Raman.

Sigla	Descrição do Scaffold
PLA	PLA por impressão 3D
PLA/ BV	PLA e biovidro por impressão 3D
PLA/ NTC	PLA e nanotubos de carbono por impressão 3D
PLA ImpBV	PLA por impressão 3D com impregnação da superfície com biovidro
PLA/ BV ImpBV	PLA e biovidro por impressão 3D com impregnação da superfície com biovidro
PLA/ NTC ImpBV	PLA e nanotubos de carbono por impressão 3D com impregnação da superfície com biovidro

A Figura 30 apresenta o espectro raman do biovidro e dos *scaffolds* antes e após impregnação com biovidro em superfície.

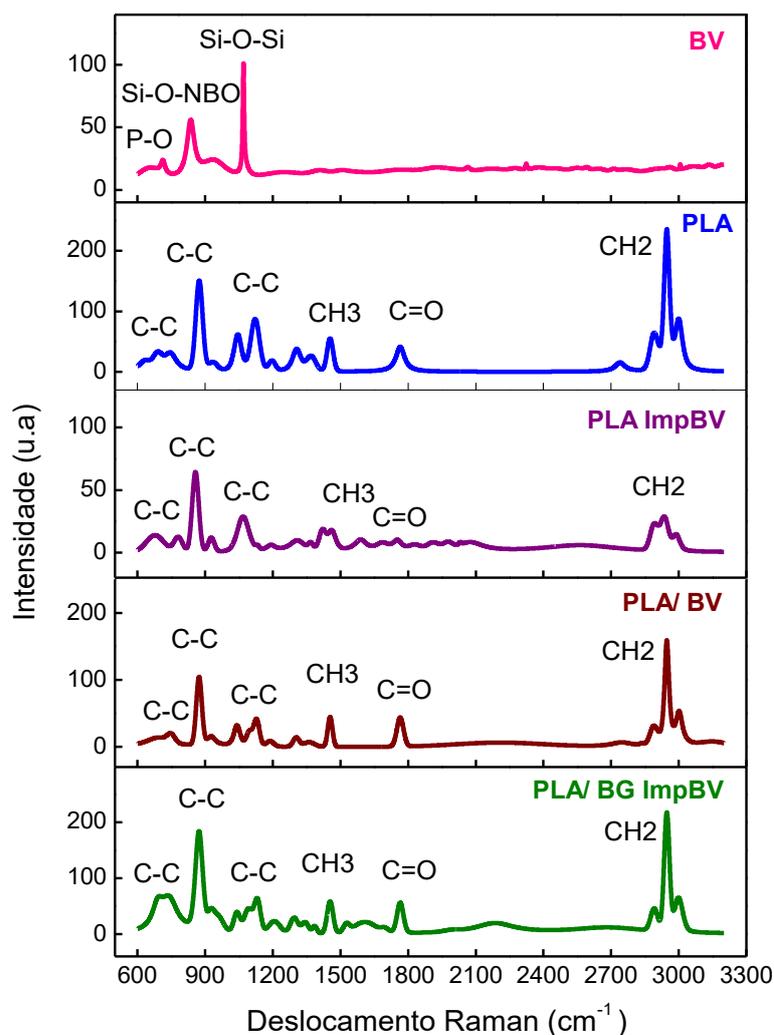


Figura 30: Espectro Raman do biovidro e dos *scaffolds* antes e após impregnação com biovidro em superfície.

Ao comparar os espectros Raman de PLA e PLA/BV antes e após a impregnação com biovidro, pode-se observar em todos os espectros os picos característicos do polímero, assim como o surgimento de novos picos e bandas com a incorporado o biovidro na matriz polimérica. Na Tabela 3 e 4, observa-se as deconvoluções dos principais picos desses espectros antes e após impregnado com biovidro, apontando as comparações entre largura e meia altura (FWHM).

Nota-se em todos os espectros, as bandas de vibração características do polímero e a forte interação com o biovidro induzindo novos modos vibracionais e gerando novas bandas entre 1400 e 2600  $\text{cm}^{-1}$ . Além disso, o aumento do FWHM nos indica um aumento de grupos funcionais adsorvidos na matriz, dessa forma, mostrando a interação do biovidro com a matriz de PLA.

Tabela 3. Deconvoluções dos picos do espectro Raman dos *scaffolds* de PLA e PLA impregnado com biovidro.

Deconvoluções dos picos de PLA $\text{cm}^{-1}$	FWHM PLA $\text{cm}^{-1}$	Deconvoluções dos picos de PLA ImpBV $\text{cm}^{-1}$	FWHM PLA ImpBV $\text{cm}^{-1}$
632	61,29	-	-
689	47,45	677	92,11
746	63,81	780	43,68
873	35,57	857	34,12
934	44,86	927	31,66
1045	39,67	1068	59,45
1122	45,04	-	-
1196	34,50	1191	46,43
1306	44,18	1308	80,90
1370	46,78	1368	23,03
-	-	<b>1419</b>	33,20
1454	31,25	1460	41,66
-	-	<b>1588</b>	65,43
-	-	<b>1685</b>	61,60
1765	45,87	1752	50,89
-	-	<b>1830</b>	57,41
-	-	<b>1910</b>	64,85
-	-	<b>1976</b>	47,29
-	-	<b>2030</b>	13,66
-	-	<b>2074</b>	141,43
-	-	<b>2564</b>	418,13
2740	51,34	-	-
2891	41,83	2891	40,75
2947	28,74	2936	41,20
3000	39,80	2989	38,01

\*A marcação em negrito corresponde a novos picos.

Tabela 4: Deconvoluções dos picos do espectro Raman dos *scaffolds* de PLA/BV e PLA/BV impregnado com biovidro.

Deconvoluções dos picos de PLA/BV $\text{cm}^{-1}$	FWHM PLA/BV $\text{cm}^{-1}$	Deconvoluções dos picos de PLA/BV ImpBV $\text{cm}^{-1}$	FWHM PLA/BV ImpBV $\text{cm}^{-1}$
691	131,56	689	56,70
748	39,99	740	90,75
873	28,69	873	31,53
926	47,39	955	56,77
1040	33,10	1040	32,55
1096	29,40	1091	43,52
1128	29,99	1132	32,94
1187	37,34	1206	58,41
1303	30,99	1294	40,33
1360	55,42	1343	20,03
-	-	<b>1385</b>	23,52
1454	27,61	1454	30,99
-	-	<b>1526</b>	31,91
-	-	<b>1608</b>	111,98
-	-	<b>1696</b>	38,10
1765	34,47	1765	33,25
2206	460,93	2183	211,63
		<b>2684</b>	401,89
2746	110,17	-	-
2835	17,80	-	-
2889	38,17	2891	36,87
2947	23,59	2947	27,62
3002	35,18	2999	43,44
3153	137,43	-	-

\*A marcação em negrito corresponde a novos picos.

A Figura 31 apresenta o espectro raman do *scaffold* de PLA/ NTC antes e após a impregnação da superfície com biovidro, trazendo as bandas do polímero e a banda D a  $1333 \text{ cm}^{-1}$  e banda G em  $1594 \text{ cm}^{-1}$  dos nanotubos de carbono, assim confirmando a existência deles no material impresso em 3D.

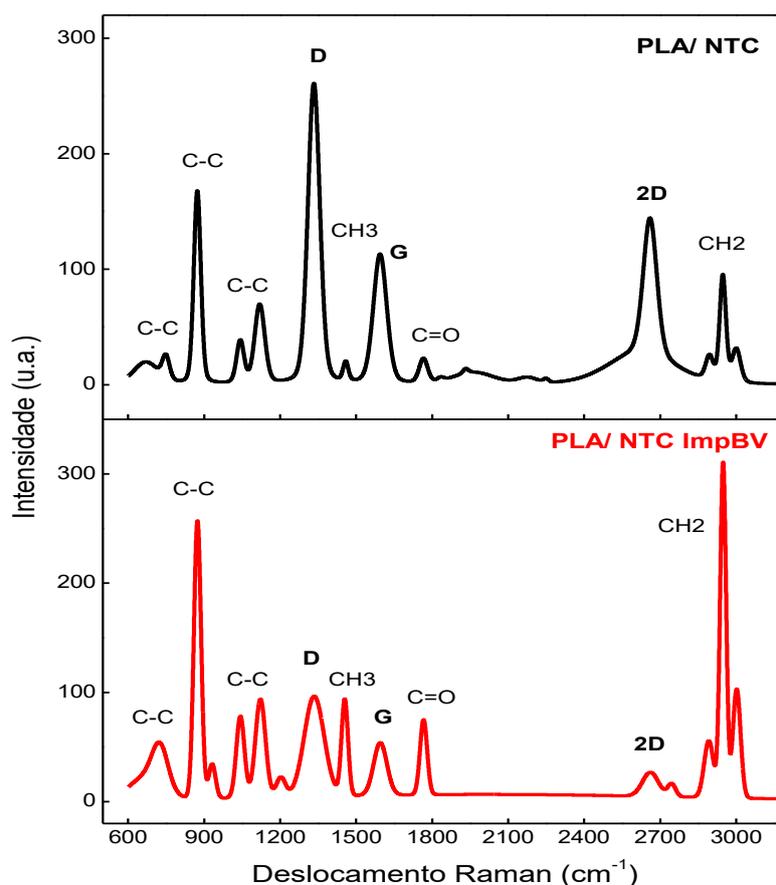


Figura 31: Espectro Raman dos *scaffolds* de PLA/ NTC antes e após impregnação com biovidro na superfície.

Resultado semelhante foi apresentado nas pesquisas de VIDAKIS *et al.* (2021) com fabricação de nanocompósitos de PLA/ NTC por impressão 3D e WESEŁUCHA-BIRCZYŃSKA *et al.*, (2014), com nanocompósito de espuma porosa de PLA/ NTC. Além disso, observou-se que as bandas 2890-3000  $\text{cm}^{-1}$  da matriz polimérica diminuíram com a presença do nanotubos de carbono (IVANOV *et al.*, 2019).

Já após a impregnação térmica da superfície com o biovidro, o espectro raman mostrou diminuição da intensidade dos picos referente a banda D (1334  $\text{cm}^{-1}$ ), G (1594  $\text{cm}^{-1}$ ) e 2D (2661 $\text{cm}^{-1}$ ) que são indicativos aos nanotubos de carbono.

O grau de defeitos da estrutura gráfitica é caracterizado pela razão entre as intensidades das bandas D e G ( $I_D/I_G$ ), sendo o menor valor da razão, menor a quantidade de defeitos na estrutura de carbono. Assim, os valores da razão ( $I_D/I_G$ ) para PLA/NTC foi de 2,2 e para o PLA/NTC ImpBV foi de 1,6. Também, observou-se o aumento do FWHM da banda D sendo indicativo do aumento de defeitos ou

funcionalização nos NTC e, também, a intensidade da banda D maior que a banda G confirmando também os defeitos de funcionalização.

Na Tabela 5, pode-se observar as deconvoluções dos principais picos do espectro de PLA/NTC antes e após impregnado com biovidro na superfície, apontando as comparações entre largura e meia altura (FWHM) dos picos.

Tabela 5: Deconvoluções dos picos principais do espectro Raman dos *scaffolds* de PLA/NTC e PLA/NTC impregnado com biovidro.

Deconvoluções dos picos PLA/ NTC $\text{cm}^{-1}$	FWHM PLA/ NTC $\text{cm}^{-1}$	Deconvoluções dos picos PLA/ NTC ImpBV $\text{cm}^{-1}$	FWHM PLA/ NTC ImpBV $\text{cm}^{-1}$
669	114,48	671	152,99
748	34,08	726	73,27
873	32,76	873	33,15
-	-	931	31,37
1042	34,59	1042	37,55
1119	46,69	1122	46,63
-	-	1202	42,07
<b>1333</b>	55,29	<b>1334</b>	92,17
1458	24,39	1454	30,00
<b>1594</b>	62,42	<b>1594</b>	87,64
1765	39,39	1765	32,85
1963	187,25	-	-
2175	89,70	-	-
2622	304,61	-	-
<b>2660</b>	63,05	<b>2661</b>	73,57
-	-	2745	35,65
2894	35,57	2892	43,53
2947	29,11	2948	27,52
3000	39,28	3001	35,58

\*A marcação em negrito corresponde aos picos dos NTC.

#### 6.4.5 Análise Termogravimétrica (TGA/ DTG)

Os resultados da análise termogravimétrica (TGA) e da derivada (DTG) na Figura 32, fornecem dados para a estabilidade térmica do compósito de PLA/NTC impregnado com BV e a porcentagem em massa aproximada de NTC e biovidro incorporado ao substrato do polímero.

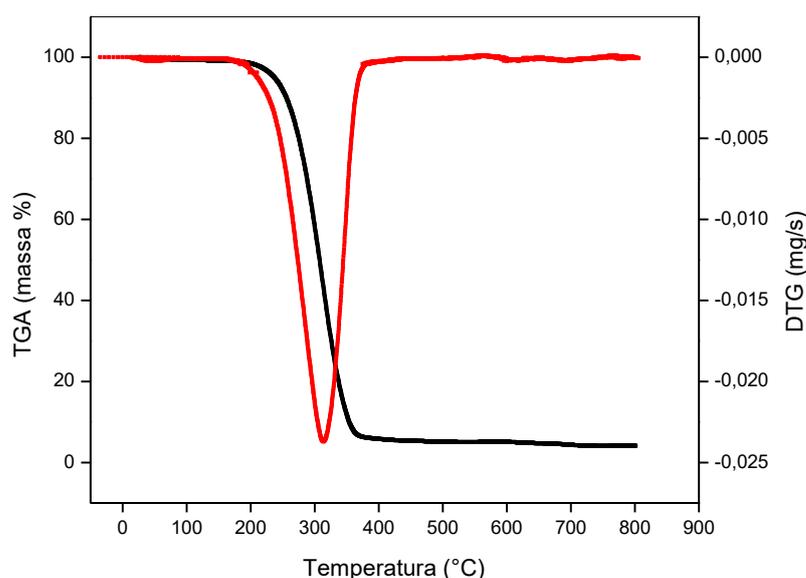


Figura 32: Curvas TGA e DTG do *scaffold* de PLA/ NTC Impregnado com Biovidro.

A curva da TGA na Figura 32 mostra duas perdas de massa após o aumento da temperatura. A massa inicial do compósito foi de 5,48 mg e as perdas apareceram nos intervalos de temperatura de 100 – 163 °C e 266 – 347 °C seguida de estabilização até 800 °C.

A primeira perda de peso de 100 – 163 °C foi cerca de 1,058% de perda de massa (0,058 mg) e pode ser atribuído a água adsorvida. A segunda perda de 266 – 347 °C bastante significativa com degradação e perda de 94,82% correspondente a 5,19 mg de massa e pico da curva DTG em torno de 315°C (indicando a temperatura máxima de degradação) atribuída a degradação do polímero. Ao final da degradação, percebe-se que todo material polimérico foi decomposto tendo resíduo de 5,2% de massa correspondente a 0,22 mg que não é degradada a temperatura máxima analisada, sugerindo ser de nanotubos de carbono e biovidro.

Nos estudos de ABEER *et al.* (2010), os *scaffold* de PLA puro mostrou decomposição térmica do polímero de 300 a 370 °C com perda de peso quase completa (99,15%), enquanto nos *scaffold* de PLA/ biovidro a decomposição térmica do polímero foi na faixa de 230 a 300 °C. Já nos estudos de ZHOUA *et al.* (2021), com compósitos de NTC/PLA por impressão 3D, o PLA puro se compôs por completo de 285 a 374 °C e nos compósitos NTC/ PLA, os resultados revelaram que a temperatura de

decomposição do PLA diminuiu com variação de temperatura inicial entre 255 e 284 °C e de temperatura final entre 370 a 372 °C com resíduo de 1 a 2% em massa.

#### 6.4.6 Ensaio de Compressão

Para a análise dos dados do teste de compressão e viabilidade celular foi usado a nomenclatura da Tabela 6 em referência ao diâmetro de poro dos *scaffolds*.

Tabela 6: Descrição das siglas de cada *scaffold* submetido aos testes de ensaio de compressão e biológico.

Sigla	Descrição do Scaffold
PLA 2	PLA por impressão 3D com poro de 2mm de diâmetro
PLA 4	PLA por impressão 3D com poro de 4mm de diâmetro
PLA/BV 2	PLA e biovidro por impressão 3D com poro de 2mm de diâmetro
PLA/BV 4	PLA e biovidro por impressão 3D com poro de 4mm de diâmetro
PLA/NTC 2	PLA e nanotubos de carbono por impressão 3D com poro de 2mm de diâmetro
PLA/NTC 4	PLA e nanotubos de carbono por impressão 3D com poro de 4mm de diâmetro

A Figura 33 apresenta os corpos de provas impressos em FDM para o ensaio de compressão medindo 28 mm de altura com 13 e 14 mm de largura.

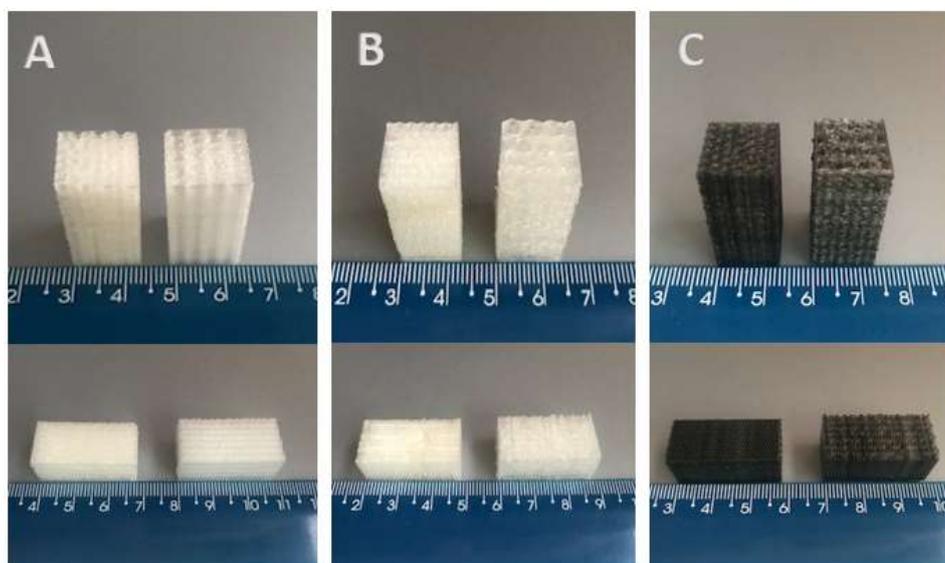


Figura 33: Corpos de prova para ensaio de compressão produzidos por impressão FDM com 2 e 4 mm de diâmetro de abertura: PLA (A), PLA/BV (B) e PLA/NTC (C).

Nas Figura 34 e 35, pode-se visualizar a morfologia dos corpos de provas resultante dos *scaffolds* durante e após os ensaios de compressão com o posicionamento a 90° do sentido de impressão. Observa-se, a diferença nos resultados obtidos entre os

posicionamentos dos corpos de provas impressos com 2 e 4 mm, assim, confirma-se que a diferença do tamanho do poro influencia no comportamento físico do material quando aplicado a força.

Na morfologia final, observa-se que os corpos de provas com 4 mm de diâmetro apresentam uma forma mais compacta em relação aos com 2mm. Além disso, os corpos de provas com NTC se apresentam mais íntegros também.

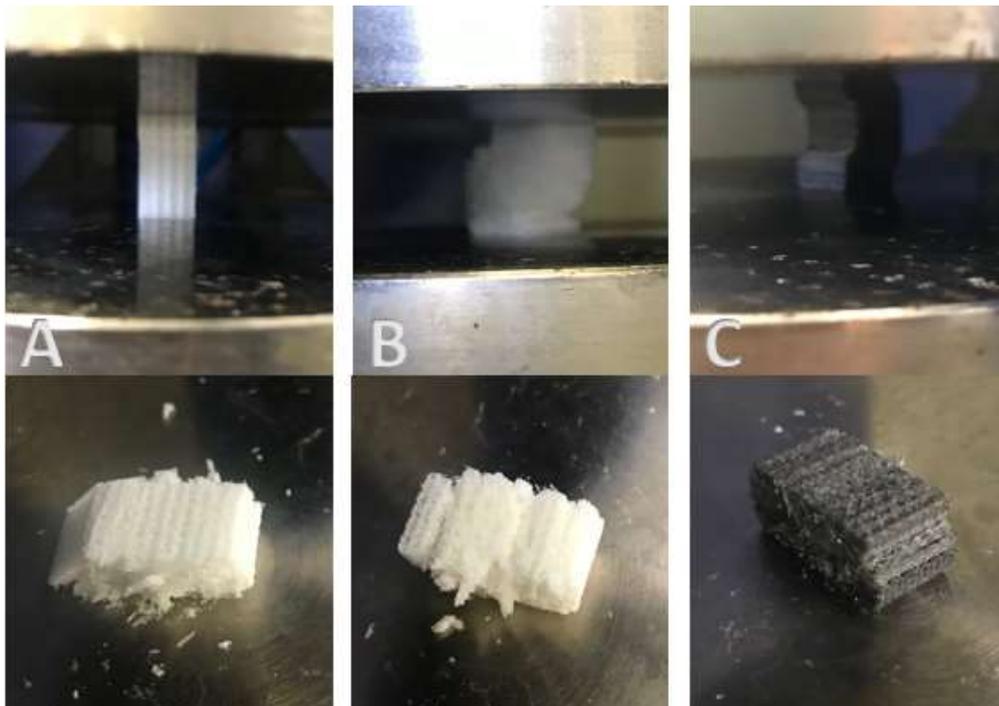


Figura 34: Corpos de prova de 2 mm de diâmetro de abertura durante e após ensaio de compressão: PLA (A), PLA/BV (B) e PLA/NTC (C).

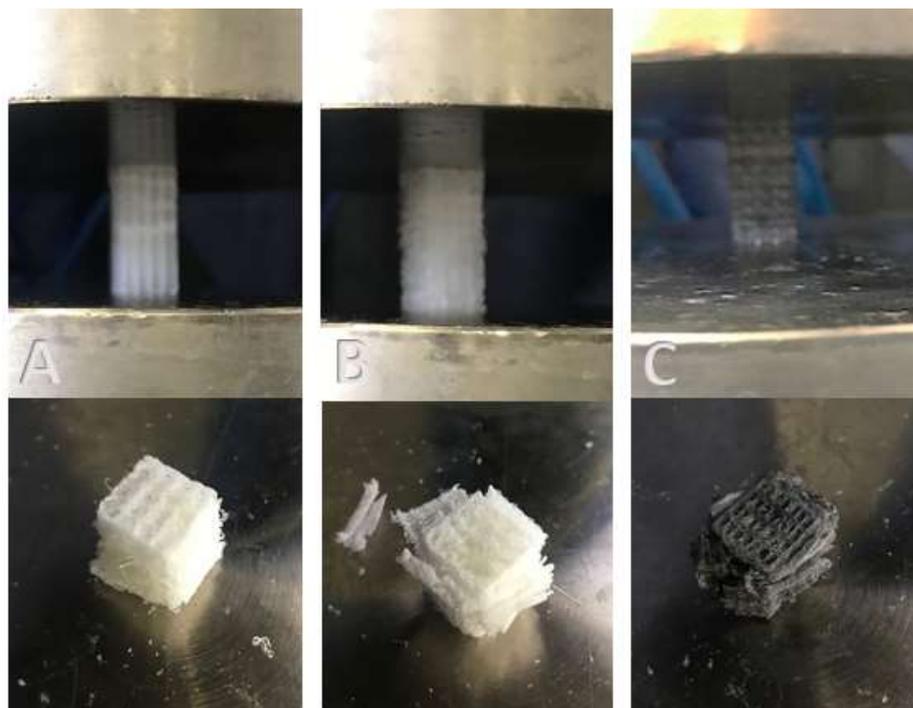


Figura 35: Corpos de prova de 4 mm de diâmetro de abertura durante e após ensaio de compressão: PLA (A), PLA/BV (B) e PLA/NTC (C).

A Figura 36 apresenta o gráfico da média da tensão máxima com seus respectivos desvios padrão referente a resistência a compressão de acordo com o tipo de material. Observa-se que entre os *scaffolds* com 2 mm de diâmetro, o de PLA apresenta maior resistência a compressão correspondendo a  $14,88 \pm 2,35$  (MPa). Enquanto entre os modelos de *scaffold* com 4 mm de diâmetro, o de PLA/NTC apresenta maior tensão a compressão de  $9,76 \pm 6,28$  (MPa).

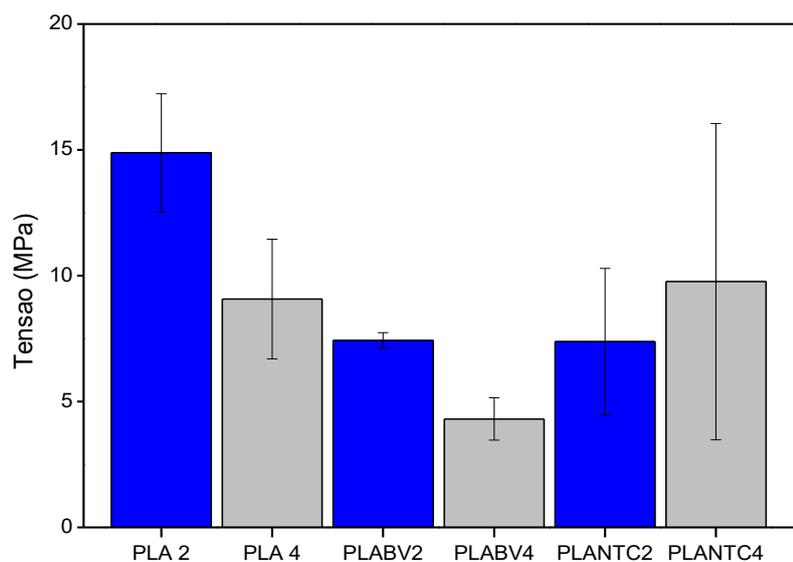


Figura 36: Gráfico de resistência a compressão dos *scaffolds*.

Para avaliar e comparar se houve diferença estatística significativa entre os valores apresentados entre os materiais de análise, realizou-se a análise de variância ANOVA de fator único e teste de Tukey, sendo que os dados do teste estatístico estão descritos na Tabela 7.

Tabela 7: Dados gerados pela ANOVA fator único para tensão entre os *scaffolds* de PLA, PLA/BV e PLA/NTC com 2 e 4 mm de diâmetro de abertura.

ANOVA						
Fonte da variação	SQ	Gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	186,1782	5	37,23564	<b>3,728483</b>	0,028695	<b>3,105875</b>
Dentro dos grupos	119,8417	12	9,986806			
Total	306,0198	17				

\* SQ: soma dos quadrados; gl: grau de liberdade; MQ: quadrado médio.

No teste estatístico o F (3,72) foi superior ao F crítico (3,10) e, ainda, MQ entre os grupos (37,23) foi maior que MQ dentro dos grupos (9,98). Esses resultados apontam pelo menos uma diferença significativa entre os grupos, podendo concluir que os valores de tensão diferem entre si. Para identificar quais as diferenças entre os

resultados, foi utilizado o teste de Tukey e o valor de D.M.S (diferença mínima significativa) encontrado foi de 6,87.

Com base nos resultados do teste de Tukey, na Tabela 8, verifica-se a diferença estatisticamente significativa entre os *scaffolds* de PLA2 e PLA/BV2, entre PLA2 e PLA/BV4 e PLA2 e PLA/NTC2.

Tabela 8: Dados gerados pelo teste de Tukey para tensão entre os *scaffolds* de PLA, PLA/BV e PLA/NTC com 2 e 4 mm de diâmetro de abertura.

	PLA2	PLA4	PLA/BV2	PLA/BV4	PLA/NTC2	PLA/NTC4
PLA2	0	5,81	<b>7,45</b>	<b>10,57</b>	<b>7,49</b>	5,11
PLA4	5,81	0	1,64	4,76	1,68	0,69
PLA/BV2	<b>7,45</b>	1,64	0	3,11	0,04	2,34
PLA/BV4	<b>10,57</b>	4,76	3,11	0	3,07	5,45
PLA/NTC2	<b>7,49</b>	1,68	0,04	3,07	0	7,74
PLA/NTC4	5,11	0,69	2,34	5,45	2,38	0

Em relação ao tamanho médio dos poros nos filamentos, apesar de ser menor nos *scaffolds* de PLA/BV, a resistência à compressão nesses materiais foi menor do que no PLA/NTC, sugerindo que, apesar de aumentar o tamanho dos poros no PLA, a inserção de NTC levou a um ligeiro aumento na resistência à compressão devido às suas propriedades intrínsecas. O mesmo padrão foi encontrado por CORCIONE *et al.* (2019), quando microesferas de hidroxiapatita foram incorporadas ao PLA na produção de *scaffolds* para uso na regeneração óssea. Os autores atribuíram a diminuição da resistência à compressão à incorporação de hidroxiapatita na estrutura do PLA.

SERRA *et al.* (2015), também obtiveram resultados semelhantes aos do presente estudo e os autores afirmam que, apesar da tensão ser menor que o do osso trabecular, o *scaffolds* foi capaz de atuar como molde durante as primeiras fases da regeneração óssea. Já BAPTISTA *et al.* (2021), encontraram melhores valores para o desempenho mecânico de *scaffolds* de PLA impressos via impressão 3D com variação de porosidade e geometria. Os autores concluíram que os intercalados apresentaram maior redução da porosidade aberta e aumento das propriedades mecânicas quando comparados às demais configurações.

Outra observação ressaltada por IVANOV *et al.* (2019), diz respeito a dispersão homogênea dos nanotubos de carbono no polímero ser essencial para o preparo do filamento, pois a heterogeneidade pode ser prejudicial à tecnologia de modelagem de

deposição fundida (FDM) podendo causar bloqueios no bico e instabilidade do fluxo durante a impressão, favorecendo a possíveis falha na interface do polímero com a cerâmica ou nanotubos de carbono, criando locais de maior fragilidade. Este fato, pode justificar o aumento do desvio padrão nos compósitos de PLA/ NTC.

Quanto a deformação, a Figura 37 apresenta o gráfico da média da deformação obtida com seus respectivos desvios padrão referente ao ensaio de compressão de acordo com o tipo de material. Observa-se que entre os *scaffolds* com 2 mm o de maior deformação elástica foi PLA2 com  $0,16 \pm 0,02$  (%) e, entre os de 4 mm a maior deformação foi o PLA/BV4 correspondendo a  $0,24 \pm 0,05$  (%).

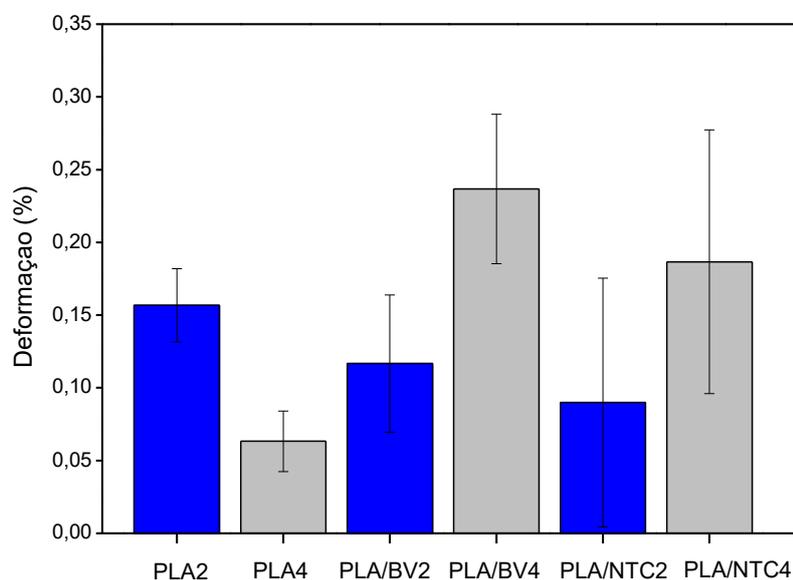


Figura 37: Gráfico de deformação a compressão dos *scaffolds*.

Para avaliar e comparar se houve diferença estatística significativa entre os valores apresentados entre os materiais de análise, realizou-se a análise de variância ANOVA de fator único e método de Tukey, sendo que os dados do teste estatístico descritos na Tabela 9.

Tabela 9: Dados gerados pela ANOVA fator único para deformação entre os *scaffolds* de PLA, PLA/BV e PLA/NTC com 2 e 4 mm de diâmetro de abertura.

ANOVA						
Fonte da variação	SQ	Gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	0,062117	5	0,012423	<b>3,47236</b>	0,035863	<b>3,105875</b>
Dentro dos grupos	0,042933	12	0,003578			
Total	0,10505	17				

\* SQ: soma dos quadrados; GL: grau de liberdade; MQ: quadrado médio.

No teste estatístico o F (3,47) foi superior ao F crítico (3,10) e, ainda, MQ entre os grupos (0,012) foi maior que MQ dentro dos grupos (0,003). Esses resultados apontam pelo menos uma diferença significativa entre os grupos, podendo concluir que os valores de deformação diferem entre si. Para identificar quais as diferenças entre os resultados, foi utilizado o teste de Tukey e o valor de D.M.S encontrado foi de 0,13.

Com base nos resultados do teste de Tukey, verifica-se diferença estatisticamente significativa entre os *scaffolds* de PLA4 e PLA/BV4 e entre PLA/BV4 e PLA/NTC2.

Tabela 10: Dados gerados pelo teste de Tukey para deformação entre os *scaffolds* de PLA, PLA/BV e PLA/NTC com 2 e 4 mm de diâmetro de abertura.

	PLA2	PLA4	PLA/BV2	PLA/BV4	PLA/NTC2	PLA/NTC4
PLA2	0	0,09	0,04	0,08	0,06	0,03
PLA4	0,09	0	0,05	<b>0,17</b>	0,02	0,12
PLA/BV2	0,04	0,05	0	0,12	0,02	0,07
PLA/BV4	0,08	<b>0,17</b>	0,12	0	<b>0,14</b>	0,05
PLA/NTC2	0,06	0,02	0,02	<b>0,14</b>	0	0,09
PLA/NTC4	0,03	0,12	0,07	0,05	0,09	0

A Figura 38 apresenta o gráfico da média do módulo de compressão aparente com seus respectivos desvios padrão de acordo com o tipo de material. Observa-se que os *scaffolds* com 2mm que apresentaram maior rigidez foi de PLA/NTC2  $0,58 \pm 0,36$  (GPa). Enquanto entre o *scaffolds* com 4mm o menos rígido é o de PLA/BV4 com  $0,03 \pm 0,01$  (GPa).

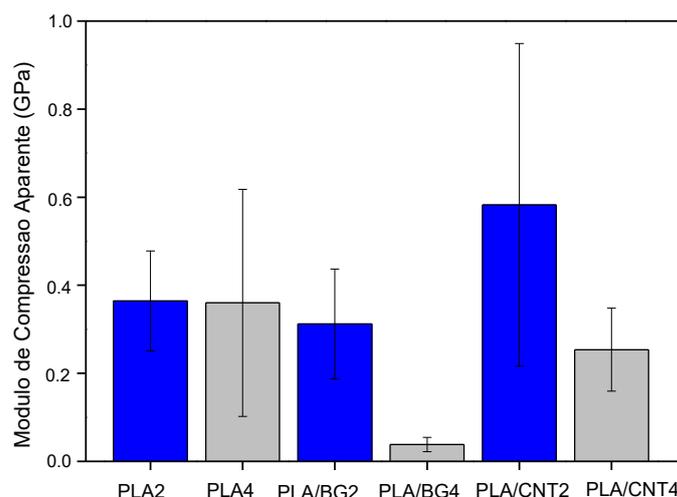


Figura 38: Gráfico do módulo de compressão aparente dos *scaffolds*.

Para avaliar e comparar se houve diferença estatística significativa entre os valores apresentados entre os materiais de análise, realizou-se a análise de variância ANOVA de fator único sendo que os dados do teste estatístico descritos na Tabela 11.

Tabela 11: Dados gerados pela ANOVA fator único para módulo de compressão aparente entre os *scaffolds* de PLA, PLA/BV e PLA/NTC com 2 e 4 mm de diâmetro de abertura.

ANOVA						
Fonte da variação	SQ	GL	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	0,469103	5	0,093821	<b>2,363193</b>	0,103199	<b>3,105875</b>
Dentro dos grupos	0,476409	12	0,039701			
Total	0,945512	17				

\* SQ: soma dos quadrados; GL: grau de liberdade; MQ: quadrado médio.

Neste caso, no teste estatístico o F (2,36) foi inferior ao F crítico (3,10). Esse resultado revela que não existe diferença estatística entre os materiais.

Numa comparação com a literatura, o estudo de ZHANG *et al.* (2021) com *scaffolds* poroso de PLA e PLA/ HA impresso em FDM de geometria quadrangular, a resistência à compressão das amostras de PLA, PLA/30%HA e PLA/50%HA foi de cerca de 45 MPa, 30 MPa e 15 MPa, respectivamente. Já o módulo de elasticidade dos *scaffolds* composto não mudou significativamente com a mudança do teor de HA, sendo

os valores cerca de 45 MPa. Já MATSUNAKA e FRANTZ (2021) produziram *scaffolds* de PLA por impressão FDM de três geometrias diferentes em um estudo comparativo de resistência a compressão, sendo o modelo quadrangular a geometria mais resistente com 20,19 MPa. Já SULTAN *et al.* (2022), produziram *scaffolds* poroso quadrangular com biovidro por impressão FDM, o PLA e o PLA/BV apresentaram resistências à compressão de  $8 \pm 2$  e  $14 \pm 2$  MPa, respectivamente, enquanto, o módulo não foi afetado significativamente pela adição de biovidro (PLA  $2,8 \pm 0,2$  e PLA/BG  $2,3 \pm 0,2$  GPa).

Dessa forma, a inclusão do biovidro e nanotubos de carbono na matriz de PLA causou alterações nas propriedades mecânicas de resistência a compressão e deformação dos *scaffolds*. Por outro lado, não foi encontrada diferença significativa nos valores de módulo de compressão aparente entre a matriz de PLA e os compostos com biovidro e nanotubos de carbono. Os resultados foram compatíveis com o osso trabecular, como por exemplo presente nas vértebras, crânio e articulações, que possui força compressiva de 2 a 20 MPa e módulo compressivo de 0,1 a 2,0 GPa (BOSE *et al.*, 2012 e MOHAMED; SHAMAZ, 2015).

#### 6.4.7 Viabilidade Celular

As leituras de fluorescência do Alamar Blue® foram realizadas em três diferentes tempos de incubação sendo os valores obtidos a partir das leituras de fluorescência em 12 h, 24 h e 72 h.

A Figura 39 apresenta os dados do ensaio Alamar Blue mostrando que todos os grupos de *scaffolds* exibiram menor proliferação celular em relação ao grupo controle. Entre os grupos de *scaffolds* analisados, os de 4 mm de diâmetro apresentaram melhor proliferação celular. Entre os *scaffolds*, em 24 h o grupo PLA BV4 foi o que apresentou melhor proliferação celular com  $32,82 \pm 0,90$  (%). Em 48 h, o mesmo grupo PLA BV4 também apresentou melhor resultado com  $32,53 \pm 16,78$  (%). Já em 72 h, o grupo PLA4 apresentou maior proliferação celular entre os *scaffolds* com  $38,53 \pm 24,39$  (%).

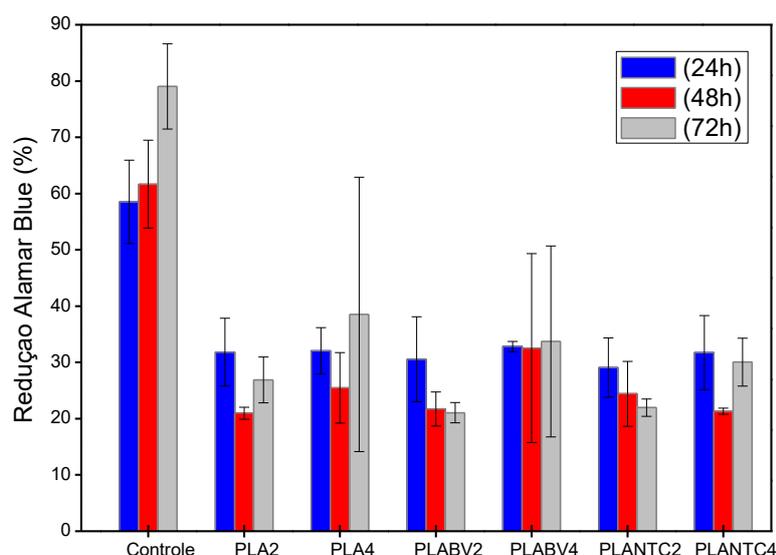


Figura 39: Redução do Alamar Blue nos diferentes intervalos (24, 48 e 72h). Os dados representam a média  $\pm$  desvio padrão da média amostrais de viabilidade celular em fluorescência.

Para avaliar e comparar se houve diferença estatística significativa entre os valores apresentados dos materiais analisados, realizou-se a análise de variância ANOVA de fator duplo (Tabela 12) e método de Tukey, sendo os dados do teste estatístico estão descritos na Tabela 13.

Tabela 12: Dados gerados pela ANOVA fator duplo para teste de redução Alamar Blue entre os *scaffolds* de PLA, PLA/BV e PLA/NTC com 2 e 4 mm de diâmetro de abertura.

ANOVA

Fonte da variação	SQ	GL	MQ	F	valor-P	F crítico
Amostra	479,8458837	2	239,922942	3,06595693	0,057166204	3,219942293
Colunas	11872,88706	6	1978,81451	<b>25,28711933</b>	1,81646E-12	<b>2,323993797</b>
Interações	1121,817086	12	93,4847571	1,194634564	0,318318863	1,991013158
Dentro	3286,661811	42	78,2538527			
Total	16761,21184	62				

\* SQ: soma dos quadrados; GL: grau de liberdade; MQ: quadrado médio.

Tabela 13: Dados gerados pelo teste de Tukey para teste de redução Alamar Blue entre o controle e os *scaffolds* de PLA, PLA/BV e PLA/NTC com 2 e 4 mm de diâmetro de abertura.

24 horas	Controle	PLA 2	PLA 4	PLA/BV2	PLA/BV4	PLA/NTC 2	PLA/NTC4
Controle	0,00	<b>26,70</b>	<b>26,46</b>	<b>27,96</b>	<b>25,69</b>	<b>29,44</b>	<b>26,79</b>
PLA 2	<b>26,70</b>	0,00	0,24	1,26	1,01	2,73	0,09
PLA 4	<b>26,46</b>	0,24	0,00	1,50	0,77	2,97	0,33
PLA/BV2	<b>27,96</b>	1,26	1,50	0,00	2,279	1,47	1,17
PLA/BV4	<b>25,69</b>	1,01	0,77	2,27	0,00	3,75	1,10
PLA/NTC2	<b>29,44</b>	2,73	2,97	1,47	3,75	0,00	2,64
PLA/NTC4	<b>26,79</b>	0,09	0,33	1,17	1,10	2,64	0,00

48 horas	Controle	PLA 2	PLA 4	PLA/BV2	PLA/BV4	PLA/NTC 2	PLA/NTC4
Controle	0	<b>40,70</b>	<b>36,19</b>	<b>39,95</b>	<b>29,14</b>	<b>37,25</b>	<b>40,35</b>
PLA 2	<b>40,70</b>	0	4,51	0,75	11,56	3,45	0,35
PLA 4	<b>36,19</b>	4,51	0	3,76	7,05	1,05	4,15
PLA/BV2	<b>39,95</b>	0,75	3,76	0	10,81	2,70	0,39
PLA/BV4	<b>29,14</b>	11,56	7,05	10,81	0	8,11	11,21
PLA/NTC2	<b>37,25</b>	3,45	1,05	2,70	8,11	0	3,09
PLA/NTC4	<b>40,35</b>	0,35	4,15	0,39	11,21	3,09	0

72 horas	Controle	PLA 2	PLA 4	PLA/BV2	PLA/BV4	PLA/NTC 2	PLA/NTC4
Controle	0	<b>52,16</b>	<b>40,50</b>	<b>57,99</b>	<b>45,30</b>	<b>57,08</b>	<b>48,99</b>
PLA 2	<b>52,16</b>	0	11,65	5,82	6,85	4,91	3,17
PLA 4	<b>40,50</b>	11,65	0	17,48	4,79	16,57	8,48
PLA/BV2	<b>57,99</b>	5,82	17,48	0	12,68	0,90	8,99
PLA/BV4	<b>45,30</b>	6,85	4,79	12,68	0	11,77	3,68
PLA/NTC2	<b>57,08</b>	4,91	16,57	0,90	11,77	0	8,09
PLA/NTC4	<b>48,99</b>	3,17	8,48	8,99	3,68	8,09	0

No teste estatístico entre as amostras dos materiais de estudo o F (3,06) foi inferior ao F crítico (3,21). Esses resultados apontam que não há uma diferença significativa entre os grupos de *scaffolds*. Entretanto, entre as amostras e o grupo controle, o F (25,28) foi superior ao F crítico (3,32) e assim, conclui-se que os valores diferem entre si estatisticamente, e para identificar quais as diferenças entre os resultados, foi utilizado o teste de Tukey sendo o valor de D.M.S encontrado de 22,37. Dessa forma, encontramos diferença estatisticamente significativa entre todos os materiais e o controle, pode-se inferir que eles são estatisticamente diferentes.

No estudo de MENG *et al.* (2011), a viabilidade celular de *scaffolds* de biovidro revestidos com nanotubos de carbono foi testada em meio Alamar Blue por quadro semanas, sendo que o resultado mostrou que o *scaffold* não revestido teve melhor

capacidade de promover células apenas no início da cultura e, ao longo do período, não foram detectadas diferenças entre os dois tipos de *scaffolds*.

Algumas limitações podem ter influenciado a diferença nos resultados do ensaio azul de Alamar entre o grupo controle e os *scaffolds* testados. A primeira é que a hidrofobicidade do PLA pode ser um obstáculo à viabilidade celular devido à sua degradação com produtos ácidos (SCHÄTZLEIN *et al.*, 2022). A segunda é que, no grupo controle, as células foram semeadas em uma superfície de poliestireno, que tem sido considerada a superfície padrão-ouro para culturas celulares aderentes devido à sua biocompatibilidade e propriedades físicas (ROSADO-GALINDO e DOMENECH, 2020), enquanto nos grupos testados as células precisam superar as possíveis limitações relacionadas às propriedades físicas do microambiente para que possam aderir e depois proliferar.

Em uma análise geral dos grupos de *scaffolds*, após uma queda no crescimento celular em 24 e 48 h, observa-se crescimento celular em 72 h. Como o estudo cobriu apenas três dias, a capacidade das células de superar essas eventuais dificuldades de integração com as superfícies dos *scaffolds* pode não ter sido adequadamente detectada.

## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo demonstrou que *scaffolds* de PLA, PLA/BV e PLA/NTC podem ser produzidos por impressão 3D pela técnica FDM com estrutura geométrica controlada com aberturas hexagonais em favo de mel intercalados, com boa reprodutibilidade e precisão, características fundamentais para a fabricação de biomateriais customizados e com propriedades mecânicas em compressão semelhantes ao osso trabecular. A análise MEV revela que o BV e NTC produziram porosidade no filamento de PLA e a microestrutura porosa dos *scaffolds* produzidos por impressão FDM. Na caracterização estrutural raman foi possível identificar o comportamento vibracional interativo dos arranjos estruturais dos materiais deste estudo e o surgimento de novos picos, não reportado pela literatura assim, demonstrando a interação do BV e NTC com a matriz polimérica. Além disso, a boa estabilidade térmica do compósito de PLA/NTC impregnado com biovidro na superfície. Os resultados dos testes mecânicos em compressão foram compatíveis com o osso esponjoso. Já a análise de viabilidade celular, os resultados foram inferiores ao grupo controle, no entanto, com 72 horas houve maior proliferação celular entre os *scaffolds*. Assim, os resultados mostraram que o *scaffold* tridimensional de geometria favo de mel hexagonal de PLA, BV e NTC possui potencial para aplicações em regeneração óssea, já que os dados são favoráveis para uso de compósitos impressos em 3D para reparação em ossos esponjosos, mas a aplicação em futuros implantes permanece limitada quanto a biocompatibilidade para a integração osteogênica, independentemente do tipo de *scaffold* gerado por impressão 3D. Dessa forma, sugerimos o compósito de PLA/NTC de 4mm impregnado com BV na superfície como melhor substituto ósseo.

Para finalizar, esta pesquisa alcançou seu objetivo principal com êxito no desenvolvimento dos *scaffolds* produzidos por impressão 3D associando as suas caracterizações morfológicas, químicas, mecânicas e biológicas com um resultado que torna possível aplicações futuras em ossos esponjosos.

## REFERÊNCIAS

- ABBASI, N., HAMLET, S., LOVE, R.M., *et al.*, 2020, “Porous scaffolds for bone regeneration”, *Journal of Science: Advanced Materials and Devices*, v. 5, Issue 1, pp. 1-9.
- ABCERAM. Associação Brasileira de Cerâmica. *Informações Técnicas Definição e Classificação*. 2021. Disponível: <<http://abceram.org.br/definicao-e-classificacao/>>. Acesso em: 04 nov 2021, 13:06:30.
- ABEER, M; ASHRAF, F; MOHMMAD, M. *et al.*, 2010, “Development, characterization, and in vitro bioactivity studies of sol–gel bioactive glass/poly(l-lactide) nanocomposite scaffolds”, *Materials Science and Engineering: C*, v. 30, Issue 1, pp. 120-31.
- ABIDIN, A.Z., PUSPASARI, P., NUGROHO, W.A., 2012, “Polymers for enhanced oil recovery technology”, *Procedia chemistry*, v. 4, pp. 11-16.
- ADITHYA, S. P., SIDHARTHAN, D. S. ABHINANDAN, R., *et al.*, 2020, “Nanosheets-incorporated bio-composites containing natural and synthetic polymers/ceramics for bone tissue engineering”, *International Journal of Biological Macromolecules*, 164, pp. 1960-1972.
- AFROZE, J.D., ABDEN, M.J., ALAM, M.S., *et al.*, 2016, “Development of functionalized carbon nanotube reinforced hydroxyapatite magnetic nanocomposites”, *Materials Letters*, v. 169, p. 24-27.
- AFROZE, J.D., ABDEN, M.J., ISLAM, M.A., 2018, “An efficient method to prepare magnetic hydroxyapatite–functionalized multi-walled carbon nanotubes nanocomposite for bone defects”, *Materials Science and Engineering: C*, v. 86, pp. 95-102.
- AGUIAR, H., SERRA, J., GONZÁLEZ, P., *et al.*, 2009, “Structural study of sol–gel silicate glasses by IR and Raman spectroscopies”, *Journal of Non-Crystalline Solids*, v. 355, Issue 8, pp. 475-480.
- ALAM, F., SHUKLA, V.R., VARADARAJAN, K.M., *et al.*, 2020, “Microarchitected 3D printed polylactic acid (PLA) nanocomposite scaffolds for biomedical applications”, *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, v. 103, pp. 103576.
- ALARIBE, F.N., MANOTO, S.L., MOTAUNG, S.C.K.M., 2016, “Scaffolds from biomaterials: Advantages and limitations in bone and tissue engineering”, *Biologia*, v. 71, pp. 353–366.
- ALKSNE, M., KALVAITYTE, M., SIMOLIUNAS, E., *et al.*, 2020, “In vitro comparison of 3D printed polylactic acid/hydroxyapatite and polylactic acid/bioglass composite scaffolds: Insights into materials for bone regeneration”, *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, v. 104, pp: 103641.

- ALLO, B.A., *et al.*, 2012, “Bioactive and Biodegradable Nanocomposites and Hybrid Biomaterials for Bone Regeneration”, *Journal of Functional Biomaterials*, v. 3, n. 2, pp. 432-463.
- ALVES, M. G. E., SANTOS, S. F., 2020, “Revisitando o tema pigmentos cerâmicos com ênfase na cor amarela e aspectos ambientais”, *Brazilian Journal of Development*, v. 6, n. 10, pp.74649-74663.
- ALVES, A.H.C., PATRÍCIO, A.C.F.A., ALBUQUERQUE, K.F., *et al.*, 2016, “Ocorrência de quedas entre idosos institucionalizados: prevalência, causas e consequências”, *Revista de Pesquisa Cuidado é Fundamental*, v. 8, n. 2, pp: 4376-86.
- ANDRADE, L. R., 2006, “Biomateriais utilizados em Bioengenharia ortopédica”, *Estudos de Biologia*, v. 28, n. 63, pp. 17-23.
- AOKI, N., YOKOYAMA, A., NODASAKA, Y., *et al.*, 2005, “Cell Culture on Carbon Nanotube Scaffold”, *Journal of Biomedical Nanotechnology*, v. 1, n. 4, pp. 402-405.
- AQEL, A., ABOU EL-NOUR, K. M. M., AMMAR, R. A. A., *et al.*, 2012, “Carbon nanotubes, science and technology part (I) structure, synthesis and characterization”, *Arabian Journal of Chemistry*, v. 5, n. 1, pp. 1–23.
- ARCOS, D., VALLET-REGÍ, M., 2010, “Sol–gel silica-based biomaterials and bone tissue regeneration”, *Acta Biomaterialia*, v. 6, Issue 8, pp. 2874-2888.
- ARCOS, D., VALLET-REGÍ, M., 2020, “Substituted hydroxyapatite coatings of bone implants”, *Journal of Materials Chemistry B*, v. 8, n. 9, pp. 1781-1800.
- ARMENTIA, S.L., DEL REAL, J.C., PAZ, E., *et al.*, 2020, “Advances in Biodegradable 3D Printed Scaffolds with Carbon-Based Nanomaterials for Bone Regeneration”, *Materials*, v. 13, pp. 5083.
- ASSIS, L. M., ZAVAREZE, E. R., PRENTICE-HERNÁNDEZ, C., *et al.*, 2012, “Revisão: Características de nanopartículas e potenciais aplicações em alimentos”, *Brazilian Journal of food technology*, v. 15, n. 2, pp. 99-109.
- ASTM D695-10. Standard Test Method for Compressive Properties of Rigid Plastics Compression tests. ASTM International: West Conshohocken, PA, USA, April 1, 2010.
- AURAS, R.A., LIM, L.T., SELKE, S.E. *et al.*, 2011, *Poly (Lactic Acid): Synthesis, Structures, Properties, Processing, and Applications*. New Jersey, John Wiley & Sons. Hoboken.
- BAINO, F., FIUME, E., 2019, “Mechanical characterization of 45S5 bioactive glass-derived scaffolds”, *Materials Letters*, v. 245, pp. 14–17.
- BAINO, F., SEPIDEH, H., SAEID, K., 2018, “Bioactive Glasses: Where Are We and Where Are We Going?”, *Journal of Functional Biomaterials*, v. 9, n. 1, pp. 25.

- BAINO, F., SONIA, F., CHIARA, V., 2016, “Bioactive glass-based materials with hierarchical porosity for medical applications: Review of recent advances”, *Acta Biomaterialia*, v. 42, pp. 18–32.
- BALAMURUGAN, A., SOCKALINGUM, G., MICHEL, J., *et al.*, 2006, “Synthesis and characterisation of sol gel derived bioactive glass for biomedical applications”, *Materials Letters*, v. 60, Issues 29–30, pp. 3752-3757
- BALANI, K., ANDERSON, R., LAHA, T., *et al.*, 2007, “Plasma-sprayed carbon nanotube reinforced hydroxyapatite coatings and their interaction with human osteoblasts in vitro”, *Biomaterials*, v. 28, pp. 618-624.
- BAPTISTA, R., PEREIRA, M.F.C., MAURÍCIO, A., *et al.*, 2021, “Experimental and numerical characterization of 3D-printed scaffolds under monotonic compression with the aid of micro-CT volume reconstruction”, *Bio-Design and Manufacturing*, v.4, pp. 222–242.
- BARBECK, M., SERRA, T., BOOMS, P., *et al.*, 2017, “Analysis of the in vitro degradation and the in vivo tissue response to bi-layered 3D-printed scaffolds combining PLA and biphasic PLA/bioglass components – Guidance of the inflammatory response as basis for osteochondral regeneration”, *Bioactive Materials*, v. 2, Issue 4, pp: 208-223.
- BASTOS, M., CAMPS, I., 2013, “Interactions of lead with carboxyl and hydroxyl-decorated (10,0) single-walled carbon nanotubes: First-principle calculations”, *Applied Surface Science*, v. 285, pp. 198–204.
- BATAKLIEV, T., PETROVA-DOYCHEVA, I., ANGELOV, V., *et al.*, 2019, “Effects of Graphene Nanoplatelets and Multiwall Carbon Nanotubes on the Structure and Mechanical Properties of Poly(lactic acid) Composites: A Comparative Study. *Applied Sciences*, v. 9, pp. 469.
- BELLUCCI, D., BOLELLI, G., CANNILLO, V., *et al.*, 2011, “In situ Raman spectroscopy investigation of bioactive glass reactivity: Simulated body fluid solution vs TRIS-buffered solution”, *Materials Characterization*, v. 62, pp. 1021-1028.
- BELLUCCI, D. SOLA, A. SALVATORI, R., 2014 “Sol–gel derived bioactive glasses with low tendency to crystallize: Synthesis, post-sintering bioactivity and possible application for the production of porous scaffolds”, *Materials Science and Engineering: C*, v. 43, pp. 573-586.
- BENTO, R., GADDAM, A., FERREIRA, J.M.F., 2021 “Sol–Gel Synthesis and Characterization of a Quaternary Bioglass for Bone Regeneration and Tissue” *Engineering. Materials*, v. 14, n. 16, pp. 4515.
- BERNARDO, G. A. M., LOPES, M. D., AZEVEDO, A. S. F., 2018, “Estudo teórico sobre as propriedades eletrônicas de nanoestruturas de carbono e h-BN”, *Pesquisa e Ensino em Ciências Exatas e da Natureza*, v. 2, n. 1, pp. 71–81.

- BERNARDO, M.P., PASCHOALIN, R.T., SANTOS, D.M., *et al.*, 2021, “Processamento E Aplicação De Biomateriais Poliméricos: Avanços Recentes E Perspectivas”, *Química Nova*, v. XY, n. 00, pp.1-17.
- BETANCOURT-PARRA, S., DOMÍNGUEZ-ORTIZ, M. A., MOSQUERA-PALACIO, D. M., *et al.*, 2019, “Deposición de capas funcionales sobre esmaltes cerámicos mediante la técnica sol-gel (revisión)”, *Ingenius*, n. 21, pp. 9-20.
- BERTOLLA, L., DLOUHÝ, I., TATARKO, P., *et al.* 2017, “Pressureless spark plasma-sintered Bioglass® 45S5 with enhanced mechanical properties and stress-induced new phase formation”, *Journal of the European Ceramic Society*, v. 37, n. 7, pp. 2727–2736.
- BIANCO, A., KOSTARELOS, K., PRATO, M., 2011, “Making carbon nanotubes biocompatible and biodegradable”, *Chemical communications*, v. 47, n. 37, pp. 10183-10188.
- BIGHAM-SADEGH, A., ORYAN, A., 2014, “Basic concepts regarding fracture healing and the current options and future directions in managing bone fractures”. *International wound journal*, v. 12, issue 3, pp. 238-247.
- BORTOLI, L.S., DE FARIAS, R., MEZALIRA, D.Z., *et al.*, 2022, “Functionalized carbon nanotubes for 3D-printed PLA-nanocomposites: Effects on thermal and mechanical properties”, *Materials Today Communications*, v. 31, pp. 103402.
- BOSE, S., KE, D., SAHASRABUDHE, H., *et al.*, 2018, “Additive manufacturing of Biomaterials”, *Progress in Materials Science*, v. 93, pp. 45-111.
- BOSE, S., ROY, M., BANDYOPADHYAY, A. 2012, “Recent advances in bone tissue engineering scaffolds”, *Trends in Biotechnology*, v. 30, Issue 10, pp. 546-554.
- BOULILA, S., OUDADESSE, H., KALLEL, R. *et al.*, 2018, “The performance of a scaffold bioglass–chitosan in the treatment of bone defect”, *Polymer Bulletin*, v. 75, pp. 5567–5586.
- BRÉZULIER, D., CHAIGNEAU, L., JEANNE, S. *et al.*, 2021, “The Challenge of 3D Bioprinting of Composite Natural Polymers PLA/Bioglass: Trends and Benefits in Cleft Palate Surgery”, *Biomedicines*, v. 9, pp. 1-19.
- BRINKER, C.J., SCHERER, G.W., 1990, **Sol-Gel Science: The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing**, Academic Press, San Diego.
- BULINA, N. V., CHAIKINA, M. V., PROSANOV, I. Y., *et al.*, 2020, “Strontium and silicate co-substituted hydroxyapatite: Mechanochemical synthesis and structural characterization”, *Materials Science & Engineering B*, v. 262, pp.1-5.
- CACCIOTTI, I., LOMBARDI, M., BIANCO, A., *et al.*, 2012, “Sol–gel derived 45S5 bioglass: synthesis, microstructural evolution and thermal behavior”, *Journal Materials Science: Materials Medicine*, v. 23, pp. 1849-1866.

CALLISTER Jr, W. D. 2015, **Ciência e engenharia de materiais: uma introdução**, 8 ed. Rio de Janeiro: LTC.

CANALES, D., SAAVEDRA, M., FLORES, M.T., *et al.*, 2020, “Effect of bioglass nanoparticles on the properties and bioactivity of poly (lactic acid) films”, **Journal Biomedical Materials Research**, v. 108, pp. 2032– 2043.

CAÑAVERAL, S., MORALES, D., VARGAS, A. F., 2019, “Synthesis and characterization of a 58S bioglass modified with manganese by a sol-gel route”, **Materials Letters**, v. 255p. 126-136.

CATTEAUX, R., GRATTEPANACHE-LEBECQ, I., DÉLANGLOIS, F., *et al.*, 2013, “Synthesis, characterization and bioactivity of bioglasses in the Na<sub>2</sub>O–CaO–P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>–SiO<sub>2</sub> system prepared via sol gel processing”, **Chemical Engineering Research and Design**, v. 91, Issue 12, pp. 2420-2426.

CDC. 2021, “Falls and the injuries and deaths they cause—are increasing. Learn how you can prevent falls”, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Acesso em: 31 jan 2022. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/falls/index.html>>. 14:50:10.

CHAWLA, K. K., 2012, **Composite Materials: Science and Engineering**. 3. ed. New York, Springer Science Business Media.

CHEN, L. *et al.*, 2014, “Preparation and evaluation of collagen-silk fibroin / hydroxyapatite nanocomposites for bone tissue engineering”, **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 65, pp. 1-7.

CHEN, Q. Z., THOMPSON, I. D., BOCCACCINI, A. R., 2006, “45S5 Bioglass® - derived glass-ceramic scaffolds for bone tissue”, **Biomaterials**, v. 27, n. 11, pp. 2414–2425.

CHEN, Q., THOUAS, G. A., 2015, “Metallic implant biomaterials” **Materials Science and Engineering: R: Reports**, v. 87, pp. 1-57.

CHEN, X., GAO, C., JIANG, J., *et al.*, 2019, “3D printed porous PLA/nHA composite scaffolds with enhanced osteogenesis and osteoconductivity in vivo for bone regeneration”, **Biomedical Materials**, v 14, n. 6, pp. 065003.

CHEN, Z., YAN, X., YIN, S., *et al.*, 2020, “Influence of the pore size and porosity of selective laser melted Ti6Al4V ELI porous scaffold on cell proliferation, osteogenesis and bone ingrowth”, **Materials Science and Engineering: C**, v. 106, pp. 110289.

CHŁOPEK, J., CZAJKOWSKA, B., SZARANIEC, B., *et al.*, 2006, “In vitro studies of carbon nanotubes biocompatibility”, **Carbon**, v. 44, pp. 1106-1111.

CHUNG, J. J., FUJITA, Y., LI, S., *et al.*, 2017, “Biodegradable inorganic-organic hybrids of methacrylate star polymers for bone regeneration”, **Acta Biomaterialia**, v. 54, pp. 411-418.

CLAUDINO, J., ALVES, L. A. C., 2019, “Biomateriais: uma realidade para as cirurgias de enxerto em Odontologia - revisão da literatura”, *Journal of the Health Sciences Institute*, v. 37, n. 2, pp. 174-7.

COMISSÃO EUROPEIA, 2011, *Recomendação da comissão de 18 de outubro de 2011 sobre a definição da nanomaterial*. JOUE. L275, pp. 38-40. Disponível em: <<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:275:0038:0040:EM:PDF>>. Acesso em: 23 janeiro 2019.

COSTA, S.G.V.D.L., SILVEIRA, A.L.B. Da., DI M.A.S.I.F., *et al.*, 2014, “Carbon nanotubes applied in neuroscience: prospects and challenges”. *Quimica Nova*, v. 38, n. 5, pp. 1289–96.

CORCIONE, C.E., GERVASO, F., SCALERA, F., *et al.*, 2019, “Highly loaded hydroxyapatite microsphere/ PLA porous scaffolds obtained by fused deposition modelling”. *Ceramics International*, v. 45, n. 2, pp. 2803–2810.

CUERVO-LOZANO, C.E., SOTO-DOMÍNGUEZ, A., SAUCEDO-CÁRDENAS, O., *et al.*, 2018, “Osteogenesis induced by a three-dimensional bioimplant composed of demineralised bone matrix, collagen, hydroxyapatite, and bone marrow-derived cells in massive bone defects: An experimental study”, *Tissue and Cell*, v. 50, pp. 69-78.

CUIFFO, M.A., SNYDER, J., ELLIOTT, A.M., *et al.*, 2017, “Impact of the Fused Deposition (FDM) Printing Process on Polylactic Acid (PLA) Chemistry and Structure”, *Applied Sciences*, v. 7, pp. 579.

DA SILVA, M.A.N., SARTORETTO, S.C., BARRETO-VIEIRA, D.F., *et al.*, 2020, “Caracterização Físico-Química De Três Xenoenxertos Utilizados Na Implantodontia. *Revista Fluminense De Odontologia*, Ano XXVI, n. 54.

DANTAS, T. S., LELIS, E. R., NAVES, L. Z., *et al.*, 2011, “Materiais de Enxerto Ósseo e suas Aplicações na Odontologia”, *UNOPAR Científica. Ciências Biológicas e da Saúde*, v. 13, n. 2, pp. 131-135.

DASGUPTA, S., MAJI, K., NANDI, S.K, 2019, “Investigating the mechanical, physiochemical and osteogenic properties in gelatin-chitosan-bioactive nanoceramic composite scaffolds for bone tissue regeneration: In vitro and in vivo”, *Materials Science and Engineering C*, v. 94, pp. 713-728.

DATASUS. 2020, “Mortalidade no brasil – Ano 2019”. **Ministério da saúde**. Acesso em: 31 jan 2022. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sim/cnv/obt10uf>>. 08:16:25

DEGRAUW, X., ANNEST, J.L., STEVENS, J.A., *et al.* 2016, “Unintentional injuries treated in hospital emergency departments among persons aged 65 years and older, United States, 2006-2011”, *Journal Safety Research*, v. 56, pp: 105-109.

DIEZ-ESCUADERO, A., BRITTMARIE A., PERSSON, C., *et al.*, 2021, “Hexagonal pore geometry and the presence of hydroxyapatite enhance deposition of mineralized bone matrix on additively manufactured polylactic acid scaffolds”, *Materials Science and Engineering: C*, v. 125, pp: 112091.

DOMÍNGUEZ-RODRÍGUEZ, G., KU-HERRERA, J. J., HERNÁNDEZ-PÉREZ, A., 2018, “An Assessment of the Effect of Printing Orientation, Density, and Filler Pattern on the Compressive Performance of 3D Printed ABS Structures by Fuse Deposition,” *The International Journal of Advanced Manufacturing Technology*, v. 95, n. 5, pp. 1685–1695.

DOROZHKIN, S.V., 2011, “Medical application of calcium orthophosphate bioceramics”, *Biomaterials*, v. 1, n. 1, pp. 1-51.

DOS SANTOS M. V. B., FEITOSA, G. T. OSAJIMA J. A., *et al.*, 2019, “Desenvolvimento de biomaterial composto por hidroxiapatita e clorexidina para aplicação na cavidade oral”, *Cerâmica*, v. 65, pp. 130-138.

DUHAN, S; KISHORE, N.; AGHAMKAR, P. *et al.*, 2010 “Preparation and characterization of sol-gel derived silver-silica nanocomposite. *Journal of Alloys and Compounds*, v. 507, pp. 101-104.

EL-GHANNAM, A., DUCHEYNE, P., 2017, “Bioactive Ceramics”, *Comprehensive Biomaterials II*, v. 1, pp. 204-234.

EL-GHANNAM, A., NING, C.Q., MEHTA,J., 2004, “Cyclosilicate nanocomposite: a novel resorbable bioactive tissue engineering scaffold for BMP and bone-marrow cell delivery”, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, v. 71, pp. 377-90.

EV, L., UJ, R. A. 2015, “Alveolar socket healing : what can we learn ?”, *Periodontology*, v. 68, pp. 122–134.

EIVAZZADEH-KEIHAN, R., MALEKI, A., GUARDIA, M., 2019, “Carbon based nanomaterials for tissue engineering of bone: Building new bone on small black scaffolds: A review”, *Journal of Advanced Research*, v. 18, pp: 185-201.

FARAH, S., ANDERSON, D. G., LANGER, R., 2016, “Physical and mechanical properties of PLA, and their functions in widespread applications — A comprehensive review”, *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 107, pp. 367-392.

FAURE, J., DREVET, R., LEMELLE, A., *et al.*, 2015, “A new sol–gel synthesis of 45S5 bioactive glass using an organic acid as catalyst”, *Materials Science and Engineering: C*, v. 47, pp. 407-412.

FENG, P., JIA, J., LIU, M., *et al.*, 2021, “Degradation mechanisms and acceleration strategies of poly (lactic acid) scaffold for bone regeneration”, *Materials & Design*, v. 210, pp: 110066.

FERNANDEZ-YAGUE, M.A., *et al.*, 2014, “Biomimetic approaches in bone tissue engineering: Integrating biological and physicommechanical strategies”, *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 84, pp. 1-29.

FISHER, C., RIDER, A.E., JUN H.A.N., *et al.*, 2012, “Applications and Nanotoxicity of Carbon Nanotubes and Graphene in Biomedicine”, **Journal of Nanomaterials**, ID 315185, pp. 19.

FLORENCIO-SILVA, R., SASSO, G.R., SASSO-CERRI, E., *et al.*, 2015, “Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells”, **Biomed Research International**, pp. 421746.

FU, T., ALAJMI, Z., SHEN, Y., *et al.*, 2017, “Sol-gel preparation and properties of Ag-containing bioactive glass films on titanium”, **International Journal of Applied Ceramic Technology**, v. 14, pp.1117-24.

FURLAN, R. G., CORRER, W. R., RUSSI, A. F. C. *et al.*, 2018, “Preparation and characterization of boron-based bioglass by sol –gel process”, **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v. 88, pp. 181–191.

GHILAN, A., CHIRIAC, A.P., NITA, L.E. *et al.*, 2020, “Trends in 3D Printing Processes for Biomedical Field: Opportunities and Challenges”, **Journal of Polymers and the Environment**, v. 28, pp. 1345–1367.

GONTIJO, D. O., 2019, *Análise da biocompatibilidade de suporte celular produzido a partir de colágeno tipo I e nanotubos de carbono de paredes múltiplas hibridizados ou não com nanobastões de ouro*. Dissertação de mestrado em biotecnologia, Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto, RO, Brasil.

GONZÁLEZ, P., SERRA, J., LISTE, S., *et al.*, 2003, “Raman spectroscopic study of bioactive silica based glasses”, **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 320, pp. 92-99.

GRABOWSKI, P., 2015, “Physiology of Bone”, **Endocrine Development**, v. 28, pp. 33–55.

GU, Q. *et al.*, 2017, “Macrophages and bone inflammation” **Journal of Orthopaedic Translation**, v. 10, p. 86-93.

GUASTALDI, A. C., APARECIDA, A. H., 2010, “Fosfatos de cálcio de interesse biológico: importância como biomateriais, propriedades e métodos de obtenção de recobrimientos”, **Química Nova**, v. 33, n. 6, pp. 1352-1358.

GUIMARÃES F. B. A. P., BARRIONI, B., OLIVEIRA, A. C. X., *et al.* 2016, “Síntese sol-gel de *scaffolds* porosos de vidro bioativo com adição de agente porogênico”, **Cerâmica**, v. 62, n. 364, pp. 328-337.

HAMAD, K., KASEEN, H.W., YANG, F. *et al.*, 2015, “Properties and medical applications of polylactic acid: A review”, **EXPRESS Polymer Letters**, v. 9, n. 5, pp. 435-455.

HAMILTON, RF, W.U.Z., MITRA, S., HOLIAN, A., 2018, “The effects of varying degree of MWCNT carboxylation on bioactivity in various in vivo and in vitro exposure models”, **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 2, pp. 354.

- HANKENSON, K.D., *et al.*, 2015, “Extracellular signaling molecules to promote fracture healing and bone regeneration”, *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 94, pp. 3-12.
- HARRIS, P. J. F., 2009, *Carbon Nanotube Science, Synthesis, Properties and Application*. Cambridge, Cambridge University Press.
- HAYASHI, K., MUNAR, M.L., ISHIKAWA, K., 2020, “Effects of macropore size in carbonate apatite honeycomb scaffolds on bone regeneration”, *Materials Science and Engineering: C*, v. 111, pp.110848.
- HAYASHI, K., SHIMABUKURO, M., KISHIDA, R., *et al.*, 2022, “Structurally optimized honeycomb scaffolds with outstanding ability for vertical bone augmentation”, *Journal of Advanced Research*, v. 1, pp. 1-12.
- HEATH, D. E. *et al.*, 2016, “Biomaterials patterned with discontinuous microwalls for vascular smooth muscle cell culture: biodegradable small diameter vascular grafts and stable cell culture substrates”, *Journal Of Biomaterials Science. Polymer Edition*, v. 27, n. 15, pp. 1477–1494.
- HENCH, L. L., BEST, S. M., 2013, “Biomaterials Science: An introduction to Materials in Medicine”. In: Ratner, B. D., Hoffman, A. S., Schoen, F. J., *et al.* (eds.), *Ceramics, Glasses, and Glass-Ceramics: Basic Principles*, 3<sup>rd</sup> ed., chapter 1, Oxford, USA, Academic Press.
- HENCH, L. L., 2006, “The story of Bioglass®”, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, v. 17, n.11, pp. 967-978.
- HENCH, L. L., 2013, “Chronology of Bioactive Glass Development and Clinical Applications”, *New Journal of Glass and Ceramics*, v. 3, n. 2, pp. 67-73.
- HENCH, L.L. ROKI, N. FENN, M.B., 2014, “Bioactive glasses: Importance of structure and properties in bone regeneration” *Journal of Molecular Structure*, v. 1073, pp. 24-30.
- HENCH, L. L., WEST, J. K., 1990, “The sol-gel process”, *Chemical Reviews*, v. 90, n. 1, pp. 33–72.
- HIRATSUKA, R.S., SANTILLI, C.V., PULCINELLI, S.H., 1995, “O Processo Sol-Gel: Uma visão Físico-Química”, *Química Nova*, v. 18, n. 2, pp: 171-180.
- HUANG, Y., CHEN, F., PAN, Y., *et al.*, 2017, “Effect of hydrophobic fluoropolymer and crystallinity on the hydrolytic degradation of poly(lactic acid)”, *European Polymer Journal*, v. 97, pp. 308-18.
- IMANI-YENGEJEH, S., KAZEMI, S. A., ÖCHSNER, A., 2016, “Advances in mechanical analysis of structurally and atomically modified carbon nanotubes and degenerated nanostructures: A review”, *Composites Part B: Engineering*, v. 86, pp. 95–107.

ISOLA, J. G. M. P., MORAES, P. C., 2012, “Estrutura e regeneração óssea – revisão de literature”, *Revista científica eletrônica de medicina veterinária*, ano IX, n.18, pp. 1-12

IVANOV, E., KOTSILKOVA, R., XIA, H., et al., 2019, “PLA/Graphene/MWCNT Composites with Improved Electrical and Thermal Properties Suitable for FDM 3D Printing Applications”, *Applied Sciences*, v. 9, pp. 1209.

JAMMALAMADAKA, U., TAPPA, K., 2018, “Recent Advances in Biomaterials for 3D Printing and Tissue Engineering”, *Journal Functional. Biomaterials*, v. 9, n. 1, pp. 1-14.

JIA, Z. ZHANG, J., JIA, C., et al. 2011, “Preparation and characterization of mechanical properties of carbon nanotube/45S5Biovidro composites for biologic applications”, *Materials Science and Engineering A*, v. 528, n. 3, pp.1553–1557.

JONES, J. R., 2013, “Review of bioactive glass: From Hench to hybrids”, *Acta Biomaterialia*, v. 9, n. 1, pp. 4457-4486.

JONES, J. R., 2015, “Reprint of: Review of bioactive glass: From Hench to hybrids”, *Acta Biomaterialia*, v. 23, pp. S53–82.

JONES, J. R., BRAUER, D. S., HUPA, L., et al. 2016, “Bioglass and bioactive glasses and their impact on healthcare”, *Intenational journal of applied glass science*, v. 7, n. 4, pp. 423-34.

JUDAS, F., PALMA, P., FALACHO, R. I., et al. 2012, *Estrutura e dinâmica do tecido ósseo*. Dissertação de mestrado em ortopedia e traumatologia, Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal.

JUNQUEIRA, L. C., CARNEIRO, J., 2013, *Histologia básica*. 12 ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan.

KANAGAMADHURA, N., HARSHINI, D., SNEHA, J., et al., 2019, “Review on Manufacturing of Cellular Polymers and Its Applications”, *Journal of Polymer and Textile Engineering*, v. 6, Issue 5, pp. 09-22.

KATCHBURIAN, E., ARANA, V., 2012, *Histologia e Embriologia Oral*. 3ª ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, p. 381.

KAUR, G., PANDEY, O. P., SINGH, K., et al., 2014, “A review of bioactive glasses: Their structure, properties, fabrication, and aptite formation”, *Journal of biomedical materials research A*, v. 102, n. 1, pp. 254-74.

KARAGEORGIU, V., KAPLAN, D., 2005, “Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis”, *Biomaterials*, v. 26, Issue 27, pp. 5474-5491.

KAWACHI, E. Y., BERTRAN, C. A., REIS R. R., et al., 2000, “Bioceramics: Tendencies And Perspectives Of An Interdisciplinary Area”, *Química Nova*, v. 23, n. 4, pp. 518-522.

- KAWANO, T., SATO, M., YABU, H., *et al.*, 2014, “Honeycomb-shaped surface topography induces differentiation of human mesenchymal stem cells (hMSCs): uniform porous polymer scaffolds prepared by the breath figure technique”, *Biomaterials Science*, v. 2, pp. 52-56
- KRIEGER, S., 2003, *Biocerâmica - Fundamentos de Mineralogia Aplicada*. Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- KRISHNAN, V., LAKSHMI, T., 2013, “Bioglass: A novel biocompatible innovation”, *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, v. 4, n. 2, pp. 78-83.
- KOKUBO, T., TAKADAMA, H., 2006, “How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity”, *Biomaterials*, v. 27, n. 15, pp. 2907-2915.
- KORPELA, J., *et al.*, 2013, “Biodegradable and bioactive porous scaffold structures prepared using fused deposition modeling”, *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*, v. 101, n. 4, pp. 610–619.
- KHOSRAVANI, M.R., REINICKE, T., 2020, “Effects of raster layout and printing speed on strength of 3D-printed structural components”, *Procedia Structural Integrity*, v. 28, pp. 720-725.
- LA FLAMME, K. E., POPAT, K. C., 2007, "Biocompatibility of nanoporous alumina membranes for immunoisolation", *Biomaterials*, v. 28, n. 16, pp. 2638-2645.
- LAHIRI, D., GHOSH, S., AGARWAL, A., 2012, “Carbon nanotube reinforced hydroxyapatite composite for orthopedic application: A review”, *Materials Science and Engineering: C*, v. 32, n. 7, pp. 1727-1758.
- LAZZARETTI, L. L., HUPFFER, H. M., 2019, “Nanotecnologia e sua regulamentação no Brasil”, *Gestão e desenvolvimento*, v. 16, n. 3, pp. 153-177.
- LEITE, W. B., SILVEIRA, E. M. V., KINOSHITA, A. M. O., 2018, “Biomateriais utilizados em artroplastia de quadril”, *SALUSVITA*, v. 37, n. 4, pp. 953-962.
- LI, P. *et al.*, 2018, “Mechanical Characteristics, In Vitro Degradation, Cytotoxicity, and Antibacterial Evaluation of Zn-4.0Ag Alloy as a Biodegradable Material”, *International Journal of Molecular Sciences*, v. 19, n. 3, pp. 1- N.PAG.
- LI, X. *et al.*, 2013, “Nanostructured scaffolds for bone tissue engineering”, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, v. 101A, n. 8, pp. 2424–2435.
- LIN, J. N., YEH, C. Y., PAN, Y. N., *et al.*, 2019, “Effect of carbon nanotubes on in vitro cellular responses for bioglass application”, *Materials Letters*, v. 235, pp. 141-143.
- LIU, Y., ZHENG, Y., CHEN, X.-H., *et al.*, 2019, “Fundamental Theory of Biodegradable Metals-Definition, Criteria, and Design”, *Advanced Functional Materials*, v. 29, issue 18, 1805402.

LOURO, H., BORGES, T., SILVA, M. J., 2013, “Nanomateriais manufacturados: novos desafios para a saúde pública”, *Revista Portuguesa de Saude Publica*, v. 31, n. 2, pp. 145–157.

LU, H., LIU, Y., GUO, J., *et al.*, 2016, “Biomaterials with Antibacterial and Osteoinductive Properties to Repair Infected Bone Defects”, *International Journal Molecular Sciences*, v. 17, pp. 334.

LUCAS-GIROT, A., MEZAH, F.Z., MAMI, M., *et al.*, 2011, “Sol–gel synthesis of a new composition of bioactive glass in the quaternary system SiO<sub>2</sub>–CaO–Na<sub>2</sub>O–P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: Comparison with melting method”, *Journal of Non-Crystalline Solids*, v. 357, n. 18, pp. 3322-3327.

MACHADO, I. R. L., MENDES, H. M. F., ALVES, G. E.S., *et al.*, 2014, “Nanotubos de carbono: potencial de uso em medicina veterinária”, *Ciência Rural*, v. 44, n. 10, pp.1823-1829.

MADANI, S.Y., MANDEL, A., SEIFALIAN, A. M., 2013 “A concise review of carbon nanotube’s toxicology”, *Nano Reviews*, v. 4, n. 1, pp. 1-14.

MARI, F. R., ALVES, G. G., AERTS, D. R. G. C., *et al.* 2016, “O processo de envelhecimento e a saúde: o que pensam as pessoas de meia-idade sobre o tema”, *Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia*, v. 19, n. 1, pp. 35-44.

MARTIN, R.A., YUE, S., HANNA, J.V. *et al.*, 2012, “Characterizing the hierarchical structures of bioactive sol-gel silicate glass and hybrid scaffolds for bone regeneration”, *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, v. 370, n. 1963, pp. 1422–1443.

MASCARENHAS, M.D.M., BARROS, M.B.A. 2015, “Evolução das internações hospitalares por causas externas no sistema público de saúde - Brasil, 2002 a 2011”, *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 24 v. 1, pp: 19-29.

MATSUNAKA, L. E. Z., FRANTZ, J. C. 2021, “Analysis of the compressive strength of scaffolds manufactured by additive manufacturing applied in bone regeneration”, *Brazilian Journal of Development*, v. 7, n. 9, pp. 93043–93069.

MEDEIROS, E. L. G., SANTOS, A. M. C., MEDEIROS, E. S., *et al.* 2017, “Scaffolds de Vidros Bioativos: Desenvolvimento de Estruturas Bioativas Nanoestruturadas”, *Revista Eletrônica de Materiais e Processos*, v. 12, n. 3, pp. 152–167.

MENG, D., RATH, S.N., MORDAN, N., *et al.*, 2011, “In vitro evaluation of 45S5 Bioglass®-derived glass-ceramic scaffolds coated with carbon nanotubes”, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, dec 1; v. 99, n. 3, pp. 435-44.

MISHRA, R., MILITKY, J. 2018, **Nanotechnology in Textiles: Theory and Application**. 1 ed. Imprint Woodhead Publishing, pp. 1-410.

- MOHAMMADI, H., SEPANTAFAR, M., MUHAMAD, N. *et al.*, 2021, “How Does Scaffold Porosity Conduct Bone Tissue Regeneration?”, *Advance Engineering Materials*, v. 23, pp. 2100463.
- MOHAMED, S., SHAMAZ, B. H., 2015, “Bone tissue engineering and bony scaffolds”, *Int. J. Dent. Oral Health*, v. 1, p. 15-20.
- MORIMOTO, Y., HORIE, M., KOBAYASHI, N., *et al.*, 2013, “Inhalation toxicity assessment of carbon-based nanoparticles”, *Accounts of chemical research*, v. 46, n. 3, pp. 770-81.
- MOURA, N. K., MARTINS, E. F., OLIVEIRA, R. L. M. S., *et al.* 2020, “Synergistic effect of adding bioglass and carbon nanotubes on poly (lactic acid) porous membranes for guided bone regeneration”, *Materials Science and Engineering: C*, v. 117, pp. 111327.
- MUNHOZ JR, A.H., SILVA, H.S., YAMAMOTO, M.V., *et al.*, 2018, “Alpha-Alumina Synthesis”, *Materials Science Forum (Online)* , v. 912, pp. 27-32.
- MURARIU, M., DUBOIS, P., 2016, “PLA composites: From production to properties”, *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 107, pp. 17-46.
- NASCIMENTO, M.H.M., LOMBELLO, C.B., 2016, “Hidrogéis a base de ácido hialurônico e quitosana para engenharia de tecido cartilaginoso”, *Polímeros*, v. 26, n. 4, pp. 360-370.
- NASERI, S., LEPRY, W. C., NAZHAT S. N., 2017, “Bioactive glasses in wound healing: hope or hype?”, *Journal of Materials Chemistry B*, v. 5, pp. 6167-6174.
- NASEEM, R., TZIVELEKIS, C., GERMAN, M.J., *et al.*, 2021, “Strategies for Enhancing Polyester-Based Materials for Bone Fixation Applications”, *Molecules*, v. 26, pp. 1-19.
- NEACȘU, I.A.; NICOARĂ, A.I.; VASILE, O.R.; VASILE, B.Ș. Inorganic micro-and nanostructured implants for tissue engineering. In: *Nanobiomaterials in Hard Tissue Engineering*. Elsevier, 2016. p. 271–295.
- OGUERI, K.S., JAFARI, T., ESCOBAR IVIRICO, J.L., *et al.*, 2019, “Polymeric Biomaterials for Scaffold-Based Bone Regenerative Engineering”, *Regenerative Engineering and Translational Medicine*, v. 5, n. 2, pp. 128–154.
- OLIVEIRA, I. H., VILLALON, F. R., CAMPOS, K. J. P., *et al.*, 2015, “Riscos ocupacionais e toxicidade pulmonar associada a nanotubos de carbono: uma revisão de literatura”, *Revista ABHO*, v. 39, pp. 18-29.
- ORÉFICE, R. L., PEREIRA M. M., MANSSUR, H. S., 2012, *Biomateriais: Fundamentos e aplicações*. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan.

- ORYAN, A., MONAZZAH, S., BIGHAM-SADEGH, A., 2015, “Bone Injury and Fracture Healing Biology”, *Biomedical and Environmental Sciences*, v. 28, n. 1, pp. 57–71.
- PARASHAR, M., SHUKLA, V. K., SINGH, R. 2020, “Metal oxides nanoparticles via sol–gel method: a review on synthesis, characterization and applications”, *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, v 31, pp. 3729-3749.
- PAUN, I.A., POPESCU, R.C., MUSTACIOSU, C.C., *et al.*, 2018, “Laser-direct writing by two-photon polymerization of 3D honeycomblike structures for bone regeneration”, *Biofabrication*, v. 10, n. 2, pp. 025009.
- PEI, B., WANG, W., DUNNE, N., *et al.*, 2019, “Applications of Carbon Nanotubes in Bone Tissue Regeneration and Engineering: Superiority, Concerns, Current Advancements, and Prospects”, *Nanomaterials (Basel)*, v. 9, n. 10, pp: 1501.
- PIELICHOWSKA, K., BLAZEWICZ, S., 2010, “Bioactive polymer/hydroxyapatite (nano) composites for bone tissue regeneration”, *Advances in Polymer Science*, v. 232, pp. 97–207.
- PILGER, A.D.A., SCHNEIDER, L.E., SILVA, G.M., *et al.*, 2018, “Biomateriais de substituição óssea para procedimentos de reconstrução alveolar em implantodontia”, *Revista de Ciências Médicas e Biológicas*, v. 17, n. 1, pp. 102-107.
- PIRES, A. L. R., BIERHALZ, A. C. K., MORAES, A. M, 2015, “Biomaterials: tipy, applications and market”, *Química Nova*, v. 38, n. 7, pp. 957–71.
- POLETO, M., 2017, “Compósitos termoplásticos com madeira - uma breve revisão”, *Revista Interdisciplinar De Ciência Aplicada*, v. 2, n. 4, pp. 1-7.
- PORWAL, H., ESTILI, M., GRÜNEWALD, A., *et al.*, 2015, “45S5 Bioglass®–MWCNT composite: processing and bioactivity”, *Journal of Materials Science Materials in Medicine*, v. 26, n. 6, pp. 1-12.
- RABELO, G. D. *et al.*, 2015, “Changes in cortical bone channels network and osteocyte organization after the use of zoledronic acid”, *Archives of Endocrinology and Metabolism*, pp. 507–514.
- RASHIDY, A.A., ROETHER, J.A., HARHAUS, L., *et al.*, 2017, “Regenerating bone with bioactive glass scaffolds: A review of in vivo studies in bone defect models”, *Acta Biomaterials*, v. 62, pp: 1–28.
- REAKASAME, S. *et al.*, 2020, “Biofabrication and Characterization of Alginate Dialdehyde-Gelatin Micro-capsules Incorporating Bioactive Glass for Cell Delivery Application”, *Macromolecular Bioscience*, v. 20, p. 1-14, 2020.
- REZABEIGI, E., WOOD-ADAMS, P.M., DREW, R.A.L., 2014, “Synthesis of 45S5 Bioglass® via a straightforward organic, nitrate-free sol–gel process”, *Materials Science and Engineering: C*, v. 40, pp: 248-252.

- RODOLFO, L. M., MACHADO, L. G., FAEDA, R. S., *et al.*, 2017, “Substitutos ósseos alógenos e xenógenos comparados ao enxerto autógeno: reações biológicas”, *Revista Brasileira Multidisciplinar*, v. 20, n.1, pp. 95-104.
- RODRIGUES, F., PINHEIRO, P., SOUSA, M., *et al.*, 2022, “Electrical Properties of Iodine-Doped Cu/f-CNT Coated Aluminum Wires by Electrophoresis with Copper Sulfate Solution”, *Metals*, v. 12, pp. 787.
- PEREZ, R.A., MESTRES, G. 2016, “Role of pore size and morphology in musculo-skeletal tissue regeneration”, *Materials Science and Engineering: C*, v. 61, pp. 922-939.
- ROOHANI-ESFAHANI, S.I, NEWMAN, P., ZREIQAT H. 2016, “Design and Fabrication of 3D printed Scaffolds with a Mechanical Strength Comparable to Cortical Bone to Repair Large Bone Defects”, *Scientific Reports*, v. 6, pp. 19468.
- ROSADO-GALINDO, H., DOMENECH, M. 2020, “Polystyrene Topography Sticker Array for Cell-Based Assays”, *Recent Progress in Materials*, v.2, n.2.
- SANTORO, M. *et al.*, 2016, “Poly(lactic acid) nanofibrous scaffolds for tissue engineering”, *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 107, pp. 206–212.
- SAKEMI, Y., HAYASHI, K., TSUCHIYA, A., *et al.*, 2021, “Reconstruction of critical-size segmental defects in rat femurs using carbonate apatite honeycomb scaffolds”, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, v. 109, pp. 1613-1622.
- SAKKA, S., 2013, “Sol–Gel Process and Applications. In: Handbook of Advanced Ceramics”, 2° ed. Elsevier, pp. 883–910.
- SARI, M., HENING, P., CHOTIMAH, *et al.*, 2021, “Bioceramic hydroxyapatite-based scaffold with a porous structure using honeycomb as a natural polymeric Porogen for bone tissue engineering”, *Biomaterials Research*, v. 25, n. 2, pp. 1-13.
- SARKAR, N., PARKA, J. G., MAZUMDERA, S., *et al.* 2015, “Al<sub>2</sub>tio<sub>5</sub>-mullite porous ceramics from particle stabilized wet foam”, *Ceramics International*, v. 41, n. 5, pp. 6306–6311.
- SCHÄTZLEIN, E., KICKER, C., SÖHLING, N., *et al.*, 2022, “3D-Printed PLA-Bioglass Scaffolds with Controllable Calcium Release and MSC Adhesion for Bone Tissue Engineering”, *Polymers*, v. 14, pp. 2389.
- SEPULVEDA, P., JONES, J.R., HENCH, L.L., 2001, “Characterization of melt-derived 45S5 and sol-gel-derived 58S bioactive glasses”, *Journal of Biomedical Materials Research*, v. 58, n. 6, pp. 734–40.
- SERRA, I.R., FRADIQUE, R., VALLEJO, M.C.S., *et al.*, 2015, “Production and characterization of chitosan/gelatin/ $\beta$ -TCP scaffolds for improved bone tissue regeneration”, *Materials Science and Engineering C*, v. 55, pp. 592–604.

- SEYEDNEJAD, H. *et al.*, 2012, “In vivo biocompatibility and biodegradation of 3D-printed porous scaffolds based on a hydroxyl-functionalized poly( $\epsilon$ -caprolactone)”, *Biomaterials*, v. 33, n. 17, pp. 4309–4318.
- SHAO, S., ZHOU, S., LI, L., *et al.*, 2011, “Osteoblast function on electrically conductive electrospun PLA/MWCNTs nano fibers”, *Biomaterials*, v. 32, pp. 2821–2833.
- SHIMIZU, M., KOBAYASHI, Y., MIZOGUCHI, T., *et al.*, 2012, “Carbon nanotubes induce bone calcification by bidirectional interaction with osteoblasts”, *Advanced Materials*, v. 24, n. 16, pp.2176-2185.
- SHIH, S.J., CHOU, Y.J., CHEN, C.Y., *et al.*, 2014, “One-step synthesis and characterization of nanosized bioactive glass”, *Journal of Medical and Biological Engineering*, v. 34, n. 1, pp. 18–23.
- SILVA, C. L. A., PINTO, L. E. S. C., LOURO, L. H. L., *et al.* 2011, “Caracterização microestrutural do compósito hidroxiapatita bovina-biovidro”, *Revista Militar de Ciência e Tecnologia*, v. 28, n.1, pp. 8-23.
- SILVA, L.S.V., TEIXEIRA, R.R.G., SANTANA, A.I.C., *et al.*, 2021, “Revisão sucinta sobre revestimento sol-gel anticorrosivo para aços. *Brazilian Journal of Development*, v.7, n.4, pp. 36283-36300.
- SILVA, V. V., 2017, “Aplicação de biomateriais em ortopedia e engenharia de tecido ósseo”, *Revista Saúde e Meio Ambiente – RESMA*, v, 5, n.2, pp. 14-27.
- SILVA, E., VASCONCELLOS, L.M.R., RODRIGUES, B.V.M., *et al.*, 2017, “PDLLA honeycomb-like scaffolds with a high loading of superhydrophilic graphene/multi-walled carbon nanotubes promote osteoblast in vitro functions and guided in vivo bone regeneration”, *Materials Science and Engineering: C*, v. 73, pp: 31-39.
- SILVEIRA, F.J., OLIVEIRA, V.S.L., FRIEDRICH, F.O., *et al.*, 2020, “Internações e custos hospitalares por quedas em idosos brasileiros”, *Scientia Medica*, v. 30, pp. 1-10.
- SIQUEIRA, R. L., ZANOTTO, E. D., 2011, “Biosilicato®: histórico de uma vitrocerâmica brasileira de elevada bioatividade”, *Química Nova*, v.34, n.7, pp. 1231-1241.
- SOUZA, C. A. S., COLOMBO, A. P. V., SOUTO, R. M., *et al.*, 2011, “Adsorption of chlorhexidine on synthetic hydroxyapatite and in vitro biological activity”, *Colloids Surf B Biointerfaces*, v. 87, pp. 310–8.
- SOWJANYA, J. A. *et al.*, 2013, “Biocomposite scaffolds containing chitosan/alginate/nano silica for bone tissue engineering. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 109, pp. 294-300.
- SPIRANDELI, B.R., CAMPOS, T.M.B., RIBAS, R.G., *et al.*, 2020, “Evaluation of colloidal and polymeric routes in sol-gel synthesis of a bioactive glass-ceramic derived from 45S5 bioglass”, *Ceramics International*, v. 46, Issue 12, 2020, pp: 20264-20271.

STOLT, L.R.O.G., KOLISCH, D.V., TANAKA, C, *et al.*, 2020, “Increase in fall-related hospitalization, mortality, and lethality among older adults in Brazil”, *Revista de Saúde Pública*, v. 54, n. 76, pp: 1-12.

SU, Y., LUO, C., ZHANG, Z., *et al.*, 2017, “Bioinspired surface functionalization of metallic biomaterials”, *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, v. 77, pp. 90-105.

SULTAN, S., THOMAS, N., VARGHESE, M., *et al.*, 2022, “The Design of 3D-Printed Polylactic Acid–Bioglass Composite Scaffold: A Potential Implant Material for Bone Tissue Engineering”, *Molecules*, v. 27, n. 21, pp. 7214.

SUVANEETH, P., NAIR, N. D., 2018, “Biomaterials And Biocompatibility”, *World Journal of Pharmaceutical Research*, v. 7, issue: 10, pp.161-171.

SZCZEŚ, A., HOŁYSZ, L., CHIBOWSKI, E., 2017, “Synthesis of hydroxyapatite for biomedical applications”, *Advances in Colloid and Interface Science*, v. 249, pp. 321-330.

THOMAS, T., TIWARI, G. 2019, “Crushing behaviour of honeycomb structure : a review”, *International Journal of Crashworthiness*, v. 24, pp. 555-579.

TORTORA, G. J., DERRICKSON, B., 2016, *Princípios de anatomia e fisiologia*. 14<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan.

TOURI, R., MOZTARZADEH, F., SADEGHIAN, Z., *et al.*, 2013, “The Use of Carbon Nanotubes to Reinforce 45S5 Bioglass-Based Scaffolds for Tissue Engineering Applications”, *BioMed Research International*, v. 1, n. 1, pp. 1-8.

TRINDADE, J.S., SILVA, H.J.B., SILVA FILHO, D.R., *et al.*, 2021, “Estudo sobre a utilização de polianidrido como abordagem terapêutica para o tratamento de lesões no tecido ósseo. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 4, pp. e42610414204.

TÜRE, H. 2019, “Characterization of hydroxyapatite-containing alginate–gelatin composite films as a potential wound dressing”, *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 123, pp. 878–888.

TURNBULL, G., CLARKE, J., PICARD, F., *et al.*, 2017, “3D bioactive composite scaffolds for bone tissue engineering”. *Bioactive Materials*, v. 3, PP. 278-314.

TURRER, C. L., FERREIRA, F. P. M., 2008, “Biomateriais em Cirurgia Craniomaxilofacial: princípios básicos e aplicações - revisão de literatura”, *Revista Brasileira de Cirurgia Plástica*, v. 23, pp. 234–245.

USUI, Y., AOKI, K., NARITA, N., *et al.* 2008, “Carbon nanotubes with high bone tissue compatibility and bone-formation acceleration effects”, *Small*, v. 4, n. 2, pp. 240-246.

UZAIR, M., ARSHAD, M., ABBASI, S.S., *et al.* 2021, “Biomedical Applications of Carbon Nanotubes”, *Nano Biomedicine and Engineering*, v. 13, n. 1, pp: 82-93.

VAFÁ, E., BAZARGAN-LARI, R., BAHROLOLOOM, M.E., 2021, “Synthesis of 45S5 Bioactive Glass-Ceramic using the Sol-Gel Method, Catalyzed by Low Concentration Acetic Acid Extracted from Homemade Vinegar”, *Journal of Materials Research and Technology*, v. 10, pp. 1427-1436.

VALVERDE, T. M., CASTRO, E. G., CARDOSO, M. H., *et al.*, 2016, “A novel 3D bone-mimetic scaffold composed of collagen/MTA/MWCNT modulates cell migration and osteogenesis”, *Life sciences*, v. 162, pp. 115-124.

VAN DEN EYNDE, M.; VAN PUYVELDE, P., 2018, “3D Printing of Poly (lactic acid)”, *Advances in Polymymer Science*, v. 282, pp. 139–158.

VANO-HERRERA, K., VOGT, C. 2017, “Degradation of poly(L-lactic acid) coating on permanent coronary metal stent investigated ex vivo by micro Raman spectroscopy”, *Journal of Raman Spectroscopy*, v. 48, pp. 711-719.

VIANA, J.R., MACÊDO, A.A.M., SANTOS, A.O., *et al.*, 2020, “Análise comparativa da síntese de hidroxiapatita via estado sólido”, *Matéria*, v. 25, n. 1, pp. e12588. 2020.

VIDAKIS, N., PETOUSIS, M., KOURINOU, M., *et al.*, 2021, “Additive manufacturing of multifunctional polylactic acid (PLA)—multiwalled carbon nanotubes (MWCNTs) nanocomposites”, *Nanocomposites*, v. 7, n. 1, pp. 184-199.

XU, J.L., KHOR, K.A., SUI, J.J., *et al.*, 2009, “Preparation and characterization of a novel hydroxyapatite/carbon nanotubes composite and its interaction with osteoblast-like cells”, *Materials Science and Engineering: C*, v. 29, Issue 1, pp. 44-49.

WANG, D., CHEN, C., MA, Q., *et al.*, 2013, “A study on in bitro and vivo bioactivity of HAQ45S5 composite films by pulsed laser deposition”, *Applied Surface Science*, v. 270, pp. 667-674.

WANG, S., SHI, Z., LIU, L., *et al.*, 2021, “Honeycomb structure is promising for the repair of human bone defects”, *Materials & Design*, v. 207, pp. 109832.

WANG, W., YEUNG, K. W. K., 2017, “Bone grafts and biomaterials substitutes for bone defect repair : A review”, *Bioactive Materials*, v7, n.2, pp. 224-247.

WESEŁUCHA-BIRCZYŃSKA, A., FRĄCZEK-SZCZYPTA, A., DŁUGOŃ, E., *et al.*, 2014, “Application of Raman spectroscopy to study of the polymer foams modified in the volume and on the surface by carbon nanotubes”, *Vibrational Spectroscopy*, v. 72, pp. 50-6.

WHO, World Health Organization (CH). Geneva: WHO; 2021. *Falls*. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/falls>>. Acesso em: 27 jan. 2022. 16:48:20.

WRIGHT, J.D., SOMMERDIJK, N.A.J.M. 2000, “Sol-gel materials: chemistry and applications”, *Amsterdam: Gordon and Breach Science Publishers*, pp. 61–62.

- WU, D. SPANOU, A., DIEZ-ESCUADERO, A., *et al.*, 2020, “3D-printed PLA/HA composite structures as synthetic trabecular bone: A feasibility study using fused deposition modeling”, *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, v. 103, pp. 103608.
- WURM, M., MÖST, T., BERGAUER, B., *et al.*, 2017, “Avaliação in vitro do ácido polilático (PLA) fabricado por modelagem fundida de deposição”, *Journal of Biological Engineering*, v. 11, n. 1, pp: 1-9.
- YANG, L., ZHANG, L., WEBSTER, T.J., 2011, “Carbon nanostructures for orthopedic medical applications”, *Nanomedicine*, v. 6, n. 7, pp. 1231–1244.
- YE, M., WENJIANG, Q., JINGQIN, P., 2017, “Preparation and characterization of mechanical properties of carbon nanotube reinforced hydroxyapatite composites consolidated by spark plasma sintering”, *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, v. 231.
- YEO, H.Y., ZHONGYUN, D., VESSELIN, S., *et al.*, 2007, “Nanotube electrodes and biosensors” *Nanotoday*, v. 2, issue 6, pp.30–37.
- ZHOU, L., FORMAN, H.J., GE, Y., *et al.*, 2017, “Multi-walled carbon nanotubes: A cytotoxicity study in relation to functionalization, dose and dispersion”, *Toxicology in Vitro*, v. 42, pp. 292-298.
- ZHOU, X., DENG, J., FANG, C., *et al.*, 2021, “Additive manufacturing of CNTs/PLA composites and the correlation between microstructure and functional properties”, *Journal of Materials Science & Technology*, v. 60, pp. 27-34.
- ZANELLO, L.P., ZHAO, B., HU, H., *et al.*, C. 2006, “Bone cell proliferation on carbon nanotubes”, *Nano Letters*, v. 6, n. 3, pp. 562-567.
- ZHANG, B., WANG, L., SONG, P., *et al.*, 2021, “3D printed bone tissue regenerative PLA/HA scaffolds with comprehensive performance optimizations”, *Materials & Design*, v. 201, pp: 109490.
- ZHANG, H., MAO, X., ZHAO, D., *et al.*, 2017, “Three dimensional printed polylactic acid-hydroxyapatite composite scaffolds for prefabricating vascularized tissue engineered bone: An in vivo bioreactor model”, *Scientific Reports*, v. 7, n. 1, pp. 1–13.
- ZHANG, J., JIA, C., JIA, Z., *et al.* 2012, “Strengthening mechanisms in carbon nanotube reinforced bioglass composites” *Frontiers of Chemical Science and Engineering*, v. 6, n. 2, pp. 126–131.
- ZHANG, Q., YANG, X., LI, P., *et al.*, 2015, “Bioinspired engineering of honeycomb structure – Using nature to inspire human innovation”, *Progress in Materials Science*, v. 74, pp. 332-400.
- ZHANG, X., WILLIAMS, D., 2019, “Definitions of Biomaterials for the Twenty-First Century”, *Elsevier*, pp. 290.

ZHAO, Y., NING, C., CHANG, J. 2009, “Sol–gel synthesis of Na<sub>2</sub>CaSiO<sub>4</sub> and its in vitro biological behaviors”, *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, v. 52, n. 170, pp. 69–74.

ZHOUA, X., DENGA, J., FANGA, C. *et al.*, 2021, “Additive manufacturing of CNTs/PLA composites and the correlation between microstructure and functional properties”, *Journal of Materials Science & Technology*, v. 60, pp. 27-34.

ZARBIN, A. J.G., 2007, “Química de (nano)materiais”, *Química Nova*, v. 30, n. 6, pp. 1469-1479.

ZARBIN, A. J.G., 2019, “*Carbono*” Coleção Química no Cotidiano, v. 11, São Paulo, Sociedade Brasileira de Química, pp.39.

ZARBIN, A. J. G., OLIVEIRA, M. M., 2013, “Nanoestruturas de carbono (nanotubos, grafeno): Quo Vadis?”, *Química Nova*, v. 36, n. 10, pp. 1533-1539.

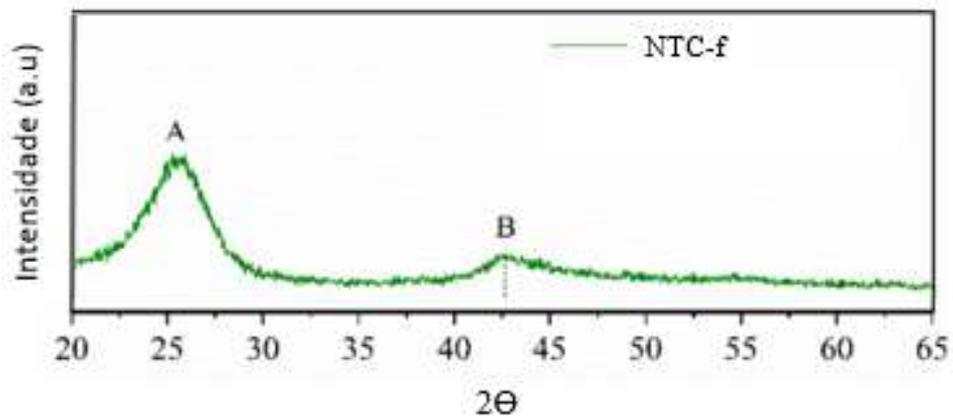
ZHIPO, D., XINXING, F., GUANGXIU, C. *et al.*, 2021, “The effect of carbon nanotubes on osteogenic functions of adipose-derived mesenchymal stem cells in vitro and bone formation in vivo compared with that of nano-hydroxyapatite and the possible mechanism”, *Bioactive Materials*, v. 6, n.2, pp. 333-345.

ZIZZARI, V. L., ZARA S., TETÈ, T. *et al.*, 2016, “Biologic and clinical aspects of integration of different bone substitutes in oral surgery: a literature review “, *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. v.122, n. 4, pp. 392-402.

ZOU, L. ZHANG, Y. LIU, X., *et al.*, 2019, “Mineralização biomimética em polímeros naturais e sintéticos para preparar andaimes híbridos para a engenharia de tecidos ósseos. Colóide”, *Superfície. B*, v. 178, pp: 222-229.

## ANEXOS

Anexo 1: Difratoograma de raios X dos nanotubos de carbono funcionalizado. Adaptado de Rodrigues *et al.*, (2022).



Anexo 2: Espectro Raman dos nanotubos de carbono funcionalizado. Adaptado de Rodrigues *et al.*, (2022).

