

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 14/01/2021.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**COMPÓSITO PROTOTIPADO 3D NA RECONSTRUÇÃO DE
FALHA CRÍTICA EM RÁDIO DE COELHOS (*Oryctolagus
cuniculus*)**

**Arícia Gomes Sprada
Médica Veterinária, Mestre**

2018

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**COMPÓSITO PROTOTIPADO 3D NA RECONSTRUÇÃO DE
FALHA CRÍTICA EM RÁDIO DE COELHOS (*Oryctolagus
cuniculus*)**

Arícia Gomes Sprada

Orientador: Prof. Ass. Bruno Watanabe Minto

**Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus
Jaboticabal, como parte das exigências
para a obtenção do título de Doutora em
Cirurgia Veterinária.**

2018

S766c Sprada, Arícia Gomes
Compósito prototipado 3D na reconstrução de falha crítica em rádio de coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) / Arícia Gomes Sprada. -- Jaboticabal, 2019
94 p. : tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Bruno Watanabe Minto

1. Regeneração óssea. 2. Impressão tridimensional. 3. Transplante autólogo. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

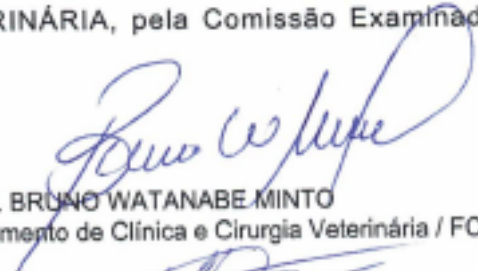
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO


TÍTULO DA TESE: COMPÓSITO PROTOTIPADO 3D NA RECONSTRUÇÃO DE FALHA CRÍTICA EM RÁDIO DE COELHOS (*Oryctolagus cuniculus*)

AUTORA: ARÍCIA GOMES SPRADA

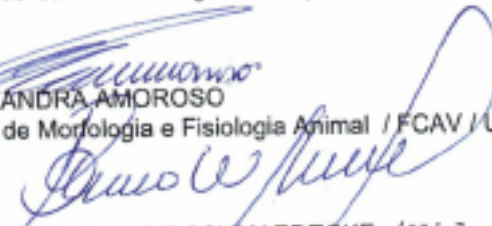
ORIENTADOR: BRUNO WATANABE MINTO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em CIRURGIA VETERINÁRIA, pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. BRUNO WATANABE MINTO
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Prof. Dr. SILVIO HENRIQUE DE FREITAS
Departamento de Clínica e Cirurgia de Pequenos Animais-FZEA/USP / Pirassununga/SP


Profa. Dra. LIZÂNDRA AMOROSO
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Pesquisador Dr. ALEXANDRE SCHMAEDECKE (Videoconferência)
Medico Veterinário / Centro Integrado de Especialidades Veterinárias / Curitiba/PR


Pós-doutorando LUIS GUILHERME DE FARIA
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV / Unesp - Jaboticabal

Jaboticabal, 14 de janeiro de 2019

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Arícia Gomes Sprada – Nascida em 08 de abril de 1988, no município de João Pessoa, estado da Paraíba. Ingressou no curso de Medicina Veterinária na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Rio Grande do Sul em agosto de 2005. Durante o curso de Medicina Veterinária, atuou como estagiária no laboratório de cirurgia experimental do hospital veterinário da instituição de 2006 a 2009. Em setembro de 2010 obteve o título de Médica Veterinária. De fevereiro de 2011 a fevereiro de 2012 fez aprimoramento profissional em Clínica Cirúrgica de Pequenos Animais pela Universidade Federal do Paraná, Câmpus Curitiba. Em março de 2012 ingressou no Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Santa Maria, recebendo o título de mestra em outubro de 2014 com a dissertação intitulada “Toxicidade e estresse oxidativo das células mesenquimais estromais de tecido adiposo de cão em diferentes passagens de cultura”. Após obter o título de mestre, em 2015, iniciou as atividades no curso de Doutorado em Cirurgia Veterinária na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Câmpus de Jaboticabal, sob orientação do Professor Dr. Bruno Watanabe Minto. Concomitantemente, finalizou curso de pós-graduação em Neurologia Veterinária pelo instituto Bioéticus, Botucatu, São Paulo. Ao total, publicou 20 artigos em diversas revistas, foi autora de dois capítulos de livros e escreveu 30 resumos em anais de congressos.

Na vida, nada é em vão: ou é benção, ou é lição!

(Autor desconhecido)

Dedico este trabalho aos meus pais Eliane Maria Gomes Sprada e Jackson Roberto Pereira Sprada, que não mediram esforços para que eu chegasse até aqui.

AGRADECIMENTOS

Nenhum trabalho é realizado apenas por uma pessoa. Esta pesquisa não foi diferente. Este é o resultado do esforço de muitas pessoas, as quais serei eternamente grata. Primeiramente, à minha família, meus pais Eliane Maria Gomes Sprada e Jackson Roberto Pereira Sprada, que desde muito cedo me incentivaram e torceram por mim, acreditaram nos meus sonhos e muitas vezes sacrificaram os seus próprios para que eu pudesse chegar aqui. À minha irmã, Alana Gomes Sprada, por tornar essa jornada um pouco mais divertida e prazerosa, tornando os sacrifícios mais leves.

Aos meus colegas e amigos de pós-graduação, que mesmo distantes estavam sempre dispostos a ajudar, em especial à equipe de ortopedia, da qual tenho muito orgulho de ter feito parte. Aos professores da pós-graduação da Unesp, meu eterno agradecimento pela paciência, conhecimento dividido e carinho. Saibam que me espelho em vocês todos os dias. Um agradecimento especial aos professores Luis Gustavo Gosuen, Paola Moraes e Andriago de Nardi pelo convívio e ensinamentos. Ao professor Alexandre Hataka, obrigada pelo desafio aceito e pela dedicação dispensada, mesmo com todos os percalços e dificuldades.

Aos meus colegas de trabalho da Unicesumar que por muitas vezes entenderam a dificuldade da dupla jornada de trabalho e estudos. Àqueles envolvidos diretamente no projeto: Carolina Quarteroni, Rafael Ricardo Hupples, Guilherme Barizão. E aos meus estagiários, essenciais no trabalho pesado e por todo o carinho e dedicação com os animais: Maressa Sartori, Rafael Conceição e Ivna Ruiz. Sem vocês, nada disso seria possível. Me sinto em eterna dívida também com meu colega e amigo Thiago Sá Rocha e sua maravilhosa impressora 3D. Obrigada pela disponibilidade, pela paciência. Fostes a esperança em momento de crise.

E, finalmente, gostaria de agradecer ao meu orientador, Bruno Watanabe Minto, pela oportunidade e confiança. Obrigada pelos conselhos, pelas palavras de tranquilidade e pelas cobranças. Obrigada pelo incentivo e pela compreensão ao longo desses 4 anos. Tu és um modelo a ser seguido. O presente trabalho foi realizado com apoio do Cnpq e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 e Fapesp (Número do processo: 2015/10139-1).

SUMÁRIO

	Página
CERTIFICADO DE COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS.....	ii
RESUMO.....	iii
ABSTRACT.....	iv
LISTA DE FIGURAS.....	v
LISTA DE TABELAS.....	vii
CAPÍTULO 1 – Considerações gerais.....	1
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	2
2.1 Perdas ósseas.....	2
2.2 Tratamento de perdas ósseas.....	3
2.2.1 Enxertos.....	4
2.2.2 Biomateriais.....	6
2.2.3 Prototipagem.....	8
3. REFERÊNCIAS.....	9
CAPÍTULO 2 – Three-dimensional printing in veterinary medicine: a reality in our routine?.....	15
CAPÍTULO 3 – Critical bone defect model in rabbits.....	22
CAPÍTULO 4 – Use of a three-dimensional printer to create a bone substitute scaffold for fracture repair: pilot study in a rabbit.....	31
CAPÍTULO 5 – Prototyped composite in the reconstruction of critical bone defects in rabbits radius.....	43
CAPÍTULO 6 – Considerações finais.....	65
ANEXOS.....	69



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal




CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 9417/15 do trabalho de pesquisa intitulado "Impressão tridimensional de substituto ósseo na reconstrução na falha segmental em rádio de coelhos", sob a responsabilidade do Prof. Dr. Bruno Watanabe Minto está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 07 de agosto de 2015.

Jaboticabal, 07 de agosto de 2015.


Prof.^a Dr.^a Paola Castro Moraes
Coordenadora – CEUA

COMPÓSITO PROTOTIPADO 3D NA RECONSTRUÇÃO DE FALHA CRÍTICA EM RÁDIO DE COELHOS (*Oryctolagus cuniculus*)

RESUMO - A proposta deste estudo foi utilizar a tecnologia de impressoras 3D para obtenção de substitutos ósseos para reconstrução de falhas segmentares críticas em rádio de coelhos. Foram utilizados 60 coelhos da raça Nova Zelândia nos quais realizou-se ostectomia segmental de 1,5 cm no rádio direito. Os animais foram divididos em três grupos, onde o grupo controle (GI n = 20) foi submetido à ostectomia e não recebeu nenhum tratamento. O grupo enxerto (GII n = 20) foi submetido à ostectomia e reconstrução da falha óssea por meio de enxerto autólogo proveniente da asa do ílio. O grupo implante (GIII n = 20) foi submetido à reconstrução óssea pela implantação de próteses impressas por impressora 3D constituídas de ácido polilático (PLLA) e hidroxiapatita (HA). Os implantes foram preparados com base na imagem de tomografia computadorizada obtidas do membro do próprio animal. Os animais foram avaliados clinicamente nos momentos pós-operatório 7, 15, 30, 60 e 90 dias. Radiografias em duas projeções foram efetuadas nos dias 15, 30, 60 e 90 após a cirurgia, de acordo com os subgrupos T1, T2, T3 e T4, respectivamente. Ao final das avaliações radiográficas, os animais foram submetidos à eutanásia e o segmento ósseo de interesse encaminhado para análise histopatológica. Clinicamente, o grupo enxerto (grupo II) apresentou menor claudicação, edema, dor e complicações nas feridas cirúrgicas quando comparado aos grupos controle e grupo implante. Nas avaliações radiográficas a reação periosteal, formação de calo ósseo e ponte óssea também foram superiores no grupo II quando comparado aos outros grupos. No estudo histopatológico fibrose, osteogênese e condrogênese foi similar em todos os grupos. No entanto, a presença de congestão, hemorragia e inflamação foram maiores no grupo implante. Esses resultados sugerem que os implantes impressos apresentam boas propriedades biomecânicas que em estudos futuros podem ser associados às propriedades biológicas do enxerto ósseo criando-se um novo implante que apresente características osteocondutivas e osteogênicas, como por exemplo, a associação de PLLA, HA e células vivas.

Palavras-chave: Ácido Polilático, Defeito ósseo segmental, Enxerto ósseo, Hidroxiapatita, Impressão 3D

3D PROTOTYPED COMPOSITE IN THE RECONSTRUCTION OF CRITICAL DEFECTS IN RADIUS OF RABBITS (*Oryctolagus cuniculus*)

ABSTRACT – The purpose of this study was to use the 3D printing technology to obtain a bone substitute for reconstruction of critical segmental bone failures of 1.5cm in rabbits' radio. The animals were divided into 3 groups: Group I (n=20) or control group, Group II (n=20) or graft group and Group III (n=20) or implant group. On group I, the rabbits were submitted to ostectomy receiving no treatment. On group II, the bone defect was treated with autologous graft from the ilium crest. On group III, reconstruction occurred using a three-dimensional printed hydroxyapatite and Poly-L-lactic acid (PLLA) implant. The implants were prepared using 3D imaging based on the computed tomography obtained from each animal. Clinical evaluation were conducted postoperatively on day 7, 15, 30, 60 e 90. Radiographs in two projections were taken on days 15, 30, 60 and 90 postoperative, according to the subgroups T1, T2, T3 and T4, respectively. After radiographic evaluation, the animals were submitted to euthanasia and the bone segment was referred for histopathological analysis. Clinically, group II presented less lameness, edema, pain and complications on the surgical wound when compared to the control and implant groups. On radiographic evaluation, periosteal reaction, bone callus formation and bone bridge were also superior in group II when compared to the others groups. Histopathological study showed that fibrosis, osteogenesis and chondrogenesis were similar in all groups. However, the presence of congestion, hemorrhage and inflammation were higher in the implant group. These results indicate that biomechanical capacity of the implant and biological properties of the graft bone should be associated by creating a new implant that presents osteoconductive and osteogenic characteristics, such as a bone substitute printed using PLLA and hydroxyapatite enriched with living cells.

Keywords: Polylactic acid, Segmental bone defect, Bone graft, Hydroxyapatite, 3D printing.

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Capítulo 3	
Figura 1. Forearm of a 7 months old, female, New Zealand Rabbit used for radius diameter measuring. A) Distal ostectomy cut determined at 2.0cm from the radiocarpal joint (needle). B) Proximal ostectomy cut 1.5cm from the first cut. C) Measurment of the radius diameter between the proximal and distal ostectomy cuts.....	22
Figura 2. Mediolateral and craniocaudal radiographs of the right thoracic limb of two New Zealand rabbits. A and B) 90-day postoperative radiographic examination of a rabbit submitted to a 1.5cm ostectomy in the radius diaphysis resulting in a non-union. C and D) 90-day postoperative radiographic examination of a rabbit submitted to a 1.5cm bone defect treated with iliac crest autologous bone graft. Note the exuberante bone callus formation resulting in consolidation.....	24
Capítulo 4	
Figura 1. 3D implant creation process. A) Three-dimensional modeling of the right radius from computed tomography. B) Virtual Model of the segment of interest to be printed. C) Image from the bone substitute printing. D) Final printed model.....	34
Figura 2. Photographic image of Pruse I3 printer specially modified for medical implant printing. The machine was placed in a closed acrylic chamber. Note the ultraviolet lamp used to reduce contamination during the process.....	35
Figura 3. Surgical procedure for 3d printed bone substitute implantation. A) Exposure of the right radius showing the proximal and distal ostectomy cuts measuring 1.5cm. B) Right radius after complete ostectomy. C) 3D bone scaffold implanted for defect repair.....	36
Figura 4. Follow-up radiographs in lateral views of the right thoracic limb of a rabbit following ostectomy and implatation of scaffold printed on 3D printer. A) Immediate postoperative radiograph. B) 15 days after surgery. C) 30 days after surgery. D) 60 days after surgery. E) 90 days after surgery.....	38
Capítulo 5	
Figura 1. Critical segmental bone defect surgical procedure in the right radius of a New Zealand rabbit from the control group study. A) Radius	

exposure after skin incision and muscle reflecting. B) Osteotomies performed with oscillatory saw. The distal cut was made 2 cm above the radiocarpal joint. C) Removal of the radius segment of 1.5cm, creating a critical bone defect. 48

Figura 2. Surgical procedure of the graft group using autologous bone graft for treatment of a critical defect in the radius diaphysis of a new Zealand rabbit. A) After radius exposure, two osteotomies were performed with oscillatory saw. The distal cut was made 2 cm above the radiocarpal joint. B) Removal of the radius segment of 1.5cm, creating the critical bone defect. C) After the bone defect creation, a segment of the iliac crest from the same animal were harvest using an oscillatory saw. D) Implantation of the graft into the bone defect in the radius..... 48

Figura 3. A) Female, New Zealand rabbit under sedation, submitted to computed tomography to obtain a three-dimensional image of the right thoracic limb. B) Scout image of the rabbit obtained by the computed tomography. C) Three-dimensional images of the forearm in the Invesalius software for image manipulation and file conversion from DICOM format to stl.D) 3D image of the forearm in the modeling software for further manipulation..... 50

Figura 4. Surgical procedure of the implant group using a 3D printed bone substitute for treatment of a critical defect in the radius diaphysis of a new Zealand rabbit. A) After radius exposure, two osteotomies were performed with oscillatory saw. The distal cut was made 2 cm above the radiocarpal joint. B) Removal of the radius segment of 1.5cm, creating the critical bone defect. C) 3D bone substitute was implanted into the critical bone defect..... 51

Figura 5. Cranio-caudal and midlateral postoperative radiographs of the right thoracic limb of three new zealand rabbits from the study. A and B) Rabbit number 27 belonging to the control group at 90 days postoperative. C and D) Rabbit number 9 belonging to the graft group at 90 days postoperative. E and F) Rabbit number 59 belonging to the implant group at 90 days postoperative..... 53

Figura 6. Graphic showing limb support and lameness after segmental ostectomy of the radio in rabbits according to the treatment during the postoperative evaluation periods of 7 days, 15 days, 30 days, 60 days, and 90 days..... 56

Figura 7. Graphic showing presence of edema, pain and wound complication after segmental ostectomy of the radio in rabbits according to the treatment during the postoperative evaluation periods of 7 days, 15 days, 30 days, 60 days, and 90 days..... 57

LISTA DE TABELAS

	Pág.
 Capítulo 4	
Tabela 1. Pain scale used in the physical evaluation of the rabbit during the postoperative period. N/A Not applicable. Adapted from STASIAK, K.L. MAUL, D.; FRENCH, E. Species-specific assessment of pain in laboratory animals. Contemporary topics, v.42, p. 13-20, 2003.....	37
Tabela 2. Results from radiograph evaluation of the rabbits submitted to a 1.5cm ostectomy of the right radius with autologous graft from ilium crest as treatment (Graft group) at day 15, 30, 60 and 90 postoperatively.....	39
 Capítulo 5	
Tabela 1. Pain scale used in the physical evaluation of the rabbit during the postoperative period. N/A Not applicable. Adapted from STASIAK, K.L. MAUL, D.; FRENCH, E. Species-specific assessment of pain in laboratory animals. Contemporary topics, v.42, p. 13-20, 2003.....	52
Tabela 2. Table of scores classifying the volume of bone callus used in the postoperative radiographic evaluation of rabbits submitted to ostectomy of the right radius.....	53
Tabela 3. Table os scores classifying the periosteal reaction used in the postoperative radiographic evaluation of rabbits submitted to ostectomy of the right radius.....	54
Tabela 4. Table os scores classifying the bone bridge formation used in the postoperative radiographic evaluation of rabbits submitted to ostectomy of the right radius.....	55

CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais

1. INTRODUÇÃO

As afecções ortopédicas representam grande parcela da rotina hospitalar na medicina veterinária. Cirurgiões ortopedistas são frequentemente desafiados com fraturas cominutivas de ossos longos, neoplasias ósseas, não uniões, união retardada ou ainda má uniões. Uma das principais opções para o tratamento dessas afecções é a substituição de um segmento ou o preenchimento da falha óssea utilizando-se enxerto ou implante (Morello et al., 2001). Os enxertos autógenos têm sido descritos como a melhor opção de material biológico, pois excluem os riscos de rejeição imunológica e dispensam a necessidade de um banco de ossos. Porém, seu uso está associado ao aumento da morbidade, dor, tempos cirúrgico e anestésico e, principalmente, volume insuficiente para reconstrução de grande falha óssea (Millis e Martinez, 2003).

Neste contexto, outras fontes de material ósseo têm sido estudadas. A engenharia de tecidos, ramo das ciências biomédicas que mais tem recebido atenção na atualidade, apresenta, entre outros objetivos, a possibilidade de restaurar a função de um órgão ou reparar tecidos danificados por meio do sinergismo de biomateriais e células (Amini, et al., 2012). Desse modo, diversos métodos têm sido propostos com este objetivo, dentre eles, a utilização de impressoras tridimensionais.

A impressão em três dimensões (3D), também chamada de produção aditiva, está disponível desde 1980, porém apenas recentemente tem seu uso mais amplificado devido à diminuição de seu custo e ao crescimento da ciência de engenharia de computação (Klein et al., 2013). Uma ampla possibilidade de materiais pode ser utilizada nessas impressões como o alumínio, superligas de cromo à base de níquel e cobalto, aço inoxidável, titânio, polímeros e cerâmica (Berman, 2012). A facilidade de criar peças simples ou complexas em uma variedade de materiais permitiu a utilização dessas impressoras no âmbito da medicina. As aplicações vão desde a fabricação de modelos para planejamento cirúrgico, produção de próteses e implantes até a engenharia de tecidos biológicos (Klein et al., 2013).

As impressoras 3D têm sido empregadas em diversos campos da medicina como planejamento de excisão tumoral, transplante de órgãos e cirurgias reconstrutivas. Porém, estudos adicionais devem ser conduzidos a fim de assegurar a eficácia e segurança desta tecnologia visando sua aplicabilidade clínica. Tendo este cenário em vista, o objetivo deste trabalho foi desenvolver um substituto ósseo utilizando impressora 3D e implantar em falhas segmentares críticas em coelhos avaliando clínica, radiográfica e histologicamente em um estudo comparativo com o autoenxerto utilizando a asa do ílio.

Na busca por métodos modernos para solucionar afecções ortopédicas complexas, esta pesquisa desenvolveu um compósito impresso com auxílio de uma impressora tridimensional para aplicação em lesões ósseas críticas. Esta nova alternativa de substituição óssea poderá futuramente ser aplicada no tratamento de perdas ósseas, seja ela por trauma ou por remoção cirúrgica decorrentes de neoplasias ósseas.

Os objetivos gerais deste projeto foram desenvolver e avaliar um substituto ósseo obtido por meio de impressão tridimensional constituído por ácido polilático e hidroxiapatita e aplicado em falhas ósseas segmentares de 1,5 cm no rádio de coelhos.

3. REFERÊNCIAS

Agrawal CM, Athanasiou KA (1997) Techniques to control pH in vicinity of biodegrading PLA-PGA implants. **J Biomed Mater Res Appl Biomater** 38:105-114.

Alexandre JW (1983) Use of combination of cortical bone allografts and cancellous bone autografts to replace massive bone loss in fresh fractures and selected nonunions. **J. Am. Anim. Hosp. Assoc.** 19:671-678.

Amini AR, Laurencin CT, Nukavarapu SP (2012) Bone tissue engineering: recent advances and challenges. **Crit Rev Biomed Eng.** 40:363-408.

Bauer TW, Muschler GF (2000) Bone Graft Materials. **Clinical Orthopaedics and related research** 371:10-27.

Berman B (2012) 3-D printing: The new industrial revolution. **Business Horizons** 55:155-162.

Bloomberg MS. et al. (1984) Frozen diaphyseal bone allografts combined with external pin splintage in small animal orthopedic surgery. **J. Am. Anim. Hosp. Assoc.** 20:393-402.

Canceda R, Giannoni P, Mastrogiacomo M (2007) A tissue engineering approach to bone repair in large animal models and in clinical practice. **Biomaterials** 28:4240-4250.

Fleming JR JP, Cornell CN, Muschler GF (2000) Bone cells and matrices in orthopaedics tissue engineering. **Orthop Clin North Am.** 19:357-374.

Goldberg V, Stevenson S (1987) Natural history of autografts and allografts. **Clin. Orthop.** 225:90-91.

Green AS (1994) Skeletal defects. A comparison of bone grafting and bone transport for segmental skeletal defects. **Clin. Orthop.** 301:111–117.

Green AS, Jackson JM et al. (1992) Management of segmental defects by the Ilizarov intercalary bone transport method. **Clin.Orthop.** 280:136-141.

Gugala Z, Lindsey RW, Gogolewski S (2007) New Approaches in the treatment of critical-size segmental defects in long bones. **Macromol Symp** 253:147–61.

Hutmacher D, Kirsch A et al. (1998) Matrix and carrier materials for bone growth factors state of the art and future perspectives. In: Stark GB, Horch R, Tancos E (Eds.)

Biological matrices and tissue reconstruction. Heidelberg, Germany: Springer, p. 197-206.

Hutmacher D. (2000) Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage. **Biomaterial** 21:2529-2543.

Jackson LC, Pacchiana PD (2004) Common complications of fracture repair **Clinical Techniques in Small Animal Practice** 19:168-179.

Khan SN, Cammisa FP, Sandhu HS, Diwan AD, Girardi FP, Lane JM (2005) The biology of bone grafting. **J Am Acad Orthop Surg.** 13:77–86.

Klein GT, Lu Y, Wang MY (2013) 3D Printing and Neurosurgery-Ready for prime time? **World Neurosurgery** 80:228-235.

Lakshmi S, Nair CTL (2007) Biodegradable polymers as biomaterials. **Progress in Polymer Science** 32:762-798.

Lasanianos NG, Kanakaris NK, Giannoudis PV (2009) Current management of long bone large segmental defects. **Orthopaedics and Trauma** 24:149-163.

Lindsey RW, Gugala Z, Milne E, Sun M, Gannon FH, Latta LL (2006) The efficacy of cylindrical titanium mesh cage for the reconstruction of a critical-size canine segmental femoral diaphyseal defect. **J Orthop Res** 24:1438–53.

Marcacci, M, Kon, E et al. (1999) Reconstruction of extensive long-bone defects in sheep using porous hydroxyapatite sponges. **Calcif Tissue Int.** 1:83–90.

Marro A, Bandukwala T, Mak W (2016) Three-dimensional printing and medical

imaging: a review of the methods and applications. **Current Problems in Diagnostic Radiology** 45:2-9.

Millis DL, Martinez AS (2003) Bone grafts. In: Slatter D (3 ed) **Textbook of small animal surgery**. Philadelphia: Saunders, p.1875-1891.

Morello E et al. (2001) Bone allografts and adjuvant cisplatin for the treatment of canine appendicular osteosarcoma in 18 dogs. **J Small Anim Pract.** 42:61-66.

Mudali UK, Sridhar TM, Raj B (2003) Corrosion of bio implants. **Sādhanā** 28:3-4.

Muramatsu K, Doi K, Ihara K, Shigetomi M, Kawai S (2003) Recalcitrant posttraumatic nonunion of the humerus: 23 patients reconstructed with vascularized bone graft. **Acta Orthop Scand.** 1:95–97.

Muschler GF, Lane JM (1992) Orthopedic Surgery. In Habal MB, Reddi AH (Eds) **Bone Grafts and Bone Substitutes**. Philadelphia: Saunders.

Niemelä T, Niiranen H, Kellomäki M, Törmälä P (2005) Self-reinforced composites of bioabsorbable polymer and bioactive glass with different bioactive glass contents. Part I: Initial mechanical properties and bioactivity. **Acta Biomaterialia** 1:235-242.

Oréfice RL. Biomateriais e Biocompatibilidade. In: Oréfice (2Ed.) **Uveíte: Clínica e Cirúrgica: Texto & Atlas**. Rio de Janeiro, p.1317-1351.

Perry C (1999) Bone repair techniques, bone graft, and bone grafts substitutes. **Clin. Orthop.** 360:71–86.

Reichert JC, Saifzadeh S, et al (2009) The challenge of establishing preclinical models for segmental bone defect. Research. **Biomaterials** 30:2149-2163.

Rimondini L, Nicoli-Aldini N, Fini M, Guzzardella G, Tschon M, Giardino R (2005) In vivo experimental study on bone regeneration in critical bone defects using an injectable biodegradable PLA/PGA copolymer. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod** 99:148–54.

Rodrigues LB (2013) Aplicações de biomateriais em ortopedia. **Estudos Tecnológicos em Engenharia** 9:63-76.

Silva Jr PE, Oréface RL (2001) Compósitos Bioativos Obtidos a Partir da Inserção de Vidro Bioativo em Matriz de Poli (Metacrilato de Metila). **Polímeros: Ciência e Tecnologia** 11:109-115.

Silvestre Filho GD (2001) **Comportamento mecânico do poliuretano derivado de óleo de mamona reforçado por fibra de carbono: contribuição para o projeto de hastes de implantes de quadril**. 192 f. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo.

Slocum B, Slocum TD (1998) Bone graft harvest: distal femoral condyles. In: Bojrab MJ, Ellison GW, Slocum B. **Current techniques in small animal surgery**. (4 Ed.) Baltimore: Williams & Wilkins, p.909-910.

Soucacos PN, Dailiana Z, Beris AE, Johnson EO (2006) Vascularised bone grafts for the management of non-union. **Injury** 41–50.

Stevens MM (2008) Biomaterials for bone tissue engineering. **Materials today** 5.

Waran V, Narayanan V, Karuppiyah R, Owen S, Aziz T (2014) Utility of multimaterial 3D printers in creating models with pathological entities to enhance the training experience of neurosurgeons. **J. Neurosurg.** 120:489-492.

Weigel PJ (1993) Bone grafting. In: Bojrab JM (2Eds.) **Disease mechanisms in small animal surgery**. Philadelphia: Lea & Febiger, p.678-685.

Yang F, Both SK et al. (2009) Development of an electrospun nano-apatite/PCL composite membrane for GTR/GBR application. **Acta Biomater.** 5:3295–3304.

Zhou G, Liu S et al. (2017) Innovative biodegradable poly (L-lactide)/collagen/hydroxyapatite composite fibrous scaffolds promote osteoblastic proliferation and differentiation. **International Journal of Nanomedicine** 12:7577-7588.