

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

"JULIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

CÂMPUS DE ARARAQUARA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE BIOMATERIAIS E BIOPROCESSOS

MESTRADO PROFISSIONAL

**AVALIAÇÃO DA HEMOCOMPATIBILIDADE DE ARCABOUÇOS DE
PLA RECOBERTOS COM PCL, FABRICADOS POR IMPRESSÃO
3D PARA APLICAÇÃO EM REGENERAÇÃO ÓSSEA**

GABRIEL COSTABEBER

ORIENTADOR: Prof. Dr. Gustavo Franco Barbosa

COORIENTADOR: Prof. Dr. Rondinelli Donizetti Herculano

ARARAQUARA - SP

2021

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

"JULIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

CÂMPUS DE ARARAQUARA

**AVALIAÇÃO DA HEMOCOMPATIBILIDADE DE ARCABOUÇOS DE
PLA RECOBERTOS COM PCL, FABRICADOS POR IMPRESSÃO
3D PARA APLICAÇÃO EM REGENERAÇÃO ÓSSEA**

GABRIEL COSTABEBER

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos (Mestrado Profissional), Área de Biomateriais, Bioprocessos, Bioprodutos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Gustavo Franco Barbosa

COORIENTADOR: Prof. Dr. Rondinelli Donizetti Herculano

ARARAQUARA - SP

2021

-
- C837a** Costabeber, Gabriel.
Avaliação da hemocompatibilidade de arcabouços de PLA recobertos com PCL, fabricados por impressão 3D para aplicação em regeneração óssea / Gabriel Costabeber. – Araraquara: [S.n.], 2021.
118 f. : il.
- Dissertação (Mestrado Profissional) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos. Área de Biomateriais, Bioprocessos, Bioprodutos.
- Orientador: Gustavo Franco Barbosa.
Coorientador: Rondinelli Donizetti Herculano.
1. FDM. 2. Scaffold. 3. PLA. 4. PCL. 5. Regeneração óssea. I. Barbosa, Gustavo Franco, orient. II. Herculano, Rondinelli Donizetti, coorient. III. Título.

Diretoria do Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP - Campus de Araraquara

CAPES: 33004030170P0

Esta ficha não pode ser modificada

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Avaliação da Hemocompatibilidade de Arcabouços de PLA Recobertos com PCL, Fabricados por Impressão 3D para Aplicação em Regeneração Óssea

AUTOR: GABRIEL COSTABEBER

ORIENTADOR: GUSTAVO FRANCO BARBOSA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em ENGENHARIA DE BIOMATERIAIS E BIOPROCESSOS, área: Biomateriais, Bioprocessos, Bioprodutos pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. GUSTAVO FRANCO BARBOSA (Participação Virtual)
Departamento de Engenharia Mecânica – DEMec / Universidade Federal de São Carlos

Profa. Dra. MÁRCIA REGINA OSAKI (Participação Virtual)
Universidade de Araraquara - UNIARA

Prof. Dr. ANTONIO CARLOS GUASTALDI (Participação Virtual)
Departamento de Química Analítica, Físico-Química e Inorgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara

Araraquara, 19 de janeiro de 2021

Dedico este trabalho aos meus pais Edson e Lourdes e minha irmã Bruna, são vocês que me fazem seguir em frente, e à minha namorada Karina, pelo carinho e parceria nos momentos mais difíceis, você está em tudo o que eu faço.

AGRADECIMENTOS

Meus sinceros agradecimentos ao meu orientador Prof. Dr. Gustavo Franco Barbosa, pela oportunidade concedida, incentivo e conhecimento compartilhado.

Um agradecimento especial ao meu coorientador, e coordenador do programa, Prof. Dr. Rondinelli Donizetti Herculano, pelos conselhos, conhecimentos e tempo disponibilizados para a execução deste projeto.

Agradeço à instituição UNESP e ao time da Seção Técnica do Programa de Pós-Graduação (STPG) da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara pela estrutura, apoio e oportunidade de realização do projeto.

Por fim, um agradecimento à banca examinadora, pela disponibilidade e contribuição com este trabalho.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	OBJETIVOS	20
3	REVISÃO DA LITERATURA	21
3.1	Problemas Relacionados a Estrutura Óssea	21
3.2	Engenharia Tecidual	22
3.3	Manufatura aditiva	23
3.3.1	Tecnologias utilizadas na manufatura aditiva	26
3.4	Biomateriais	31
3.4.1	Metais	31
3.4.2	Cerâmicos	32
3.4.3	Polímeros	33
3.4.4	Compósitos	35
3.4.5	Características Inerentes aos Biomateriais	35
3.4.6	PLA (Póli Ácido Lático)	36
3.4.7	PCL (Policaprolactona)	39
3.5	Hemocompatibilidade	40
3.6	Análise do Potencial de Inovação	42
4	MATERIAIS E MÉTODOS	45
4.1	Materiais	45
4.2	Métodos	47
4.2.1	Projeto e Processo	48
4.2.2	Recobrimento	53
4.2.3	Imagens Fotográficas	54
4.2.4	Ensaio Mecânico de Compressão	55
4.2.5	FTIR (<i>Fourier-transform Infrared Spectroscopy</i>)	56
4.2.6	MEV (Microscopia Eletrônica de Varredura)	57
4.2.7	Ensaio de Hemocompatibilidade	57
5	RESULTADOS	59
5.1	Imagens Fotográficas	59
5.2	Ensaio Mecânico de Compressão	63
5.3	Resultados FTIR	69
5.4	Resultados MEV	78

5.5	Avaliação da Hemocompatibilidade dos <i>Scaffolds</i>	89
6	DISCUSSÃO	90
6.1	Geometria e Recobrimento dos <i>Scaffolds</i>	90
6.2	Ensaio Mecânico de Compressão	94
6.3	FTIR (<i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i>)	96
6.4	MEV (Microscopia Eletrônica de Varredura)	104
6.5	Ensaio Hemolítico.....	106
6.6	Aplicabilidade dos <i>Scaffolds</i> Desenvolvidos	107
7	CONCLUSÕES.....	110
8	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	111
9	REFERÊNCIAS	112

RESUMO

O desempenho de órgãos e tecidos do organismo humano fica naturalmente comprometido com o passar dos anos, sendo o tecido ósseo um dos principais atingidos, se fazendo necessárias intervenções médicas para reconstruções, substituições ou reparos. Neste contexto entram os *scaffolds*, estruturas complexas utilizadas para a regeneração de tecidos, que podem ser fabricados por tecnologias de manufatura aditiva, como a FDM (*Fused Deposition Modeling*). O polímero PLA (Poli Ácido Lático) é biodegradável e biocompatível apresentando inúmeras aplicações biomédicas. Além disso, é comumente empregado como filamento na tecnologia de manufatura aditiva por FDM, possuindo baixo custo e fácil acesso, porém materiais impressos por este filamento não são utilizados em aplicações biológicas, devido ao ser baixo grau de pureza. Deste modo, foi utilizado o polímero PCL (Policaprolactona) para recobrir os *scaffolds* fabricados, a fim de aumentar sua biocompatibilidade. A fabricação dos *scaffolds* e a influência do recobrimento no material foram observados por imagens fotográficas, microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia no infravermelho (FTIR) e ensaios mecânicos. Além do mais, a hemocompatibilidade dos *scaffolds* foi analisada por ensaio hemolítico. Os ensaios de compressão mostraram que os *scaffolds* com geometrias *RoundBar+Cube* e *RoundBar+Sphere* foram mais resistentes, enquanto as análises de FTIR auxiliaram na comprovação do recobrimento dos *scaffolds*. A análise de MEV mostrou a eficácia do recobrimento pela diminuição dos tamanhos de poros dos *scaffolds* a partir do número de camadas de PCL recoberto. Por fim, a análise hemolítica mostrou que o *scaffolds* (recobertos ou não) foram hemocompatíveis, mostrando que o bioproduto desenvolvido apresentaram resultados promissores para a aplicação junto ao osso trabecular aliado ao um custo baixo de fabricação.

Palavras-chave: FDM; Scaffold, PLA; PCL; Regeneração óssea.

ABSTRACT

The performance of organs and tissues of the human organism is naturally compromised over the years, with bone tissue being one of the main affected, making medical interventions necessary for reconstructions, replacements or repairs. In this context come scaffolds, complex structures used for tissue regeneration, which can be manufactured by additive manufacturing technologies, such as FDM (Fused Deposition Modeling). The PLA (Poly Lactic Acid) polymer is biodegradable and biocompatible with numerous biomedical applications. In addition, it is commonly used as a filament in FDM additive manufacturing technology, having low cost and easy access, however materials printed by this filament are not used in biological applications, due to its low degree of purity. Thus, the polymer PCL (Polycaprolactone) was used to cover the manufactured scaffolds, in order to increase their biocompatibility. The manufacture of scaffolds and the influence of the coating on the material were observed by photographic images, scanning electron microscopy (SEM), infrared spectroscopy (FTIR) and mechanical tests. Furthermore, the hemocompatibility of the scaffolds was analyzed by hemolytic assay. The compression tests showed that the scaffolds with RoundBar + Cube and RoundBar + Sphere geometries were more resistant, while the FTIR analyzes helped to prove the scaffold cover. The SEM analysis showed the effectiveness of the coating by reducing the pore sizes of the scaffolds from the number of layers of coated PCL. Finally, the hemolytic analysis showed that the scaffolds (covered or not) were hemocompatible, showing that the bioproduct developed showed promising results for application with the trabecular bone combined with a low manufacturing cost.

Keywords: FDM; Scaffold, PLA; PCL; Bone Regeneration.

LISTA DE ABREVIATURAS

ABS – Acrilonitrila Butadieno Estireno
CAD – Computer Aided Design
FDA – Food and Drug Administration
FDM – Fused Deposition Modeling
FTIR – *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*
INPI – Instituto Nacional de Propriedade Industrial
MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura
PIB – Produto Interno Bruto
PCL – Policaprolactona
PCL-T – Policaprolactona Triol
PLA – Poli Ácido Lático
PLDLA – Póli L-co-D, L Ácido Lático
SLS – Selective Laser Sintering
STL – Standard Triangle Language
SLS – Selective Laser Sintering
USPTO - *United States Patent and Trademark Office*
WIPO – *World Intellectual Property Organization*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Princípio do processo FDM.....	27
Figura 2 - Princípio do processo PolyJet.....	28
Figura 3 - Princípio do processo SLS.....	30
Figura 4 - Estrutura química do PLA	37
Figura 5 - Estrutura química do PCL	39
Figura 6 - Ensaio hemolítico: tubo 1 controle negativo, tubo 7 controle positivo	42
Figura 7 - Impressora Graber I3.....	45
Figura 8 - Software Geomagic Freeform	46
Figura 9 - Etapas para alcançar os objetivos	47
Figura 10 - Ferramenta StructureFX	48
Figura 11 - Tipos de células StrucutreFX	49
Figura 12 - Modelos 3D dos scaffolds	49
Figura 13 - Interface Slic3r	51
Figura 14 - Parâmetros de velocidade Slic3r.....	51
Figura 15 - Impressões que não deram certo.....	52
Figura 16 - Software Repetier Host Scaffold Fatiado	52
Figura 17 - Preparação dos scaffolds para recobrimento.....	54
Figura 18 - Processo de recobrimento dos scaffolds	54
Figura 19 - MBIO I - 5kN	55
Figura 20 - Preparação para o ensaio de compressão	55
<i>Figura 21 – Equipamento utilizado no FTIR</i>	<i>56</i>
<i>Figura 22 – MEV JEOL – modelo JSM-7500F</i>	<i>57</i>
<i>Figura 23 – Atividade hemolítica das amostras controles positivo e negativo, respectivamente</i>	<i>58</i>
Figura 24 - Scaffolds impressos, prontos para o recobrimento	59
Figura 25 - Geometria RoundBar	60
Figura 26 - Geometria CrossBar	61
Figura 27 - Geometria RoundBar+Sphere.....	62
Figura 28 - Geometria RoundBar+Cube.....	62
Figura 29 - Geometria SquareBar	63

Figura 30 - Curva tensão x deformação geometria RoundBar	64
Figura 31 - Curva tensão x deformação geometria CrossBar	65
Figura 32 - Curva tensão x deformação geometria RoundBar+Sphere	66
Figura 33 - Curva tensão x deformação geometria RoundBar+Cube	67
Figura 34 - Curva tensão x deformação geometria SquareBar	68
Figura 35 – Espectros PLA Puro PCL Puro.....	69
Figura 36 – Espectros Scaffold Geometria RoundBar Cube 0,5% PCL	71
Figura 37 – Espectros Scaffold Geometria RoundBar Cube 1% PCL.....	73
Figura 38 – Espectros Scaffold Geometria RoundBar Sphere 0,5% PCL	75
Figura 39 – Espectros Scaffold Geometria RoundBar Sphere 1% PCL	77
Figura 40 – Imagens MEV Scaffold RoundBar Cube – PLA Puro.....	79
Figura 41 – Imagens MEV Scaffold RoundBar Cube – 0,5% PCL 1 Camada	79
Figura 42 – Imagens MEV Scaffold RoundBar Cube – 0,5% PCL 2 Camadas..	80
Figura 43 – Imagens MEV Scaffold RoundBar Cube – 0,5% PCL 3 Camadas..	81
Figura 44 – Imagens MEV Scaffold RoundBar Cube – 1% PCL 1 Camada.....	81
Figura 45 – Imagens MEV Scaffold RoundBar Cube – 1% PCL 2 Camadas... 82	
Figura 46 – Imagens MEV Scaffold RoundBar Cube – 1% PCL 3 Camadas... 82	
Figura 47 – Imagens MEV Scaffold RoundBar Sphere – PLA Puro	83
Figura 48 – Imagens MEV Scaffold RoundBar Sphere – 0,5% PCL 1 Camada..	84
Figura 49 – Imagens MEV Scaffold RoundBar Sphere – 0,5% PCL 2 Camadas	84
Figura 50 – Imagens MEV Scaffold RoundBar Sphere – 0,5% PCL 3 Camadas	85
Figura 51 – Imagens MEV Scaffold RoundBar Sphere – 1% PCL 1 Camada.. 86	
Figura 52 – Imagens MEV Scaffold RoundBar Sphere – 1% PCL 2 Camadas..	86
Figura 53 – Imagens MEV Scaffold RoundBar Sphere – 1% PCL 3 Camadas..	87

Figura 54 – Ensaio hemolítico dos scaffolds com as geometrias RoundBar Cube	89
Figura 55 - Geometrias dos scaffolds retangulares.....	91
Figura 56 - Geometrias dos scaffolds de magnésio	91
Figura 57 - Scaffolds de hidroxiapatita	92
Figura 58 – Espectros PLA Puro 1	96
<i>Figura 59 – Espectros PLA Puro 2</i>	<i>97</i>
<i>Figura 60 – Espectros PCL Puro 1</i>	<i>99</i>
<i>Figura 61 – Espectros PCL Puro 2.....</i>	<i>99</i>
<i>Figura 62 – Comparativo de geometrias RoundBar+Sphere.....</i>	<i>106</i>

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais biomateriais metálicos e suas aplicações	32
Tabela 2 - Principais biomateriais cerâmicos e suas aplicações.....	33
Tabela 3 – Principais biomateriais poliméricos e suas aplicações	35
Tabela 4 – Propriedades mecânicas do PLA em forma de filamento	38
Tabela 5 – Propriedades mecânicas do PCL	40
Tabela 6 – Termos buscados e resultados INPI.....	43
Tabela 7 – Parâmetros de impressão	50
Tabela 8 – Propriedades mecânicas obtidas durante os ensaios de compressão	68
Tabela 9 – Principais bandas do PLA e PCL Puros	70
Tabela 10 – Principais bandas do Scaffold RoundBar Cube 0,5% PCL.....	72
Tabela 11 – Principais bandas do Scaffold RoundBar Cube 1% PCL.....	74
Tabela 12 – Principais bandas do Scaffold RoundBar Sphere 0,5% PCL.....	76
Tabela 13 – Principais bandas do Scaffold RoundBar Sphere 1% PCL.....	78
Tabela 14 – Resultados MEV	88
Tabela 15 – Resultados obtidos pelo scaffolds desenvolvidos	108

1 INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial da Saúde (2018) desde 2015, pela primeira vez na história, a população mundial pode esperar viver além de seus 60 anos de idade, tais dados variam conforme cada região analisada, sendo que se destacam a região europeia, onde a população possui expectativa de vida de 77,5 anos, e a região africana, que possui 61,2 anos de expectativa de vida. Sendo assim, a média da expectativa de vida mundial é de 72 anos, sendo 74,2 anos para as mulheres e 69,8 para os homens. Naturalmente, o desempenho dos órgãos e tecidos do corpo ficam comprometidos com o passar do tempo. Esse comprometimento e o avanço das técnicas cirúrgicas, levam ao aumento da demanda por próteses, implantes, equipamentos e estruturas utilizadas na medicina. Tendo em vista essa questão, a utilização de tecnologias modernas de fabricação pode ser aplicada na medicina, e a técnica de manufatura aditiva entra neste contexto possibilitando a fabricação de próteses personalizadas com alta velocidade e precisão.

A manufatura aditiva, também conhecida como impressão 3D, têm sido alvo de interesse em diversos estudos, por ser considerada uma tecnologia do futuro, com grande potencial para aplicações em diversos setores industriais. Segundo Lino e Neto (2003) as técnicas de manufatura aditiva são indispensáveis para o desenvolvimento de novos produtos em setores distintos, como a indústria automobilística, de brinquedos, cerâmicas ou plásticos.

Dentre algumas vantagens da manufatura aditiva pode-se citar a independência da geometria da peça e a rapidez na obtenção de protótipos funcionais (VOLPATO et al., 2017). Estas características possibilitam que diversos setores industriais possam criar protótipos com geometrias mais complexas, com boa precisão e alta velocidade, se comparado aos processos de fabricação convencionais.

Dentre os processos de manufatura aditiva existente destaca-se o FDM (*Fused Deposition Modeling*) que utiliza filamentos de polímeros termoplásticos, como por exemplo o ABS (Acrilonitrila Butadieno Estireno) e o PLA (Poli Ácido Láctico). No processo de FDM o filamento é aquecido, extrudado através de um

bico e depositado, camada por camada, na geometria desejada (WONG; HERNADEZ, 2012; TEODORO et al., 2014; MAGALHÃES, 2010).

Essas vantagens não passaram despercebidas às áreas de bioengenharia, e engenharia tecidual, que integram o processo de manufatura aditiva às tecnologias de obtenção de imagens médicas, como as obtidas em tomografias computadorizadas e ressonâncias magnéticas, com a fabricação de próteses personalizadas (BERTOL, 2008).

Segundo Williams (1999) engenharia tecidual pode ser definida como a aplicação de princípios científicos voltados ao projeto, construção, modificação, crescimento e manutenção de tecidos vivos. A principal ferramenta, utilizada na engenharia tecidual, é o *scaffold* que tem o objetivo de simular todos os aspectos e propriedades do tecido e da sua estrutura base, para que a adesão e o crescimento celular sejam acelerados (SILVA, 2012). Segundo Kundu et al. (2013) a aplicação de tecnologias de manufatura aditiva para fabricação de arcabouços, deve-se ao fato de serem rápidas, econômicas e pela possibilidade de obter-se geometrias complexas.

Diversos materiais são utilizados para a fabricação de arcabouços por manufatura aditiva, dentre eles destaca-se o PLA, aprovado na década de 70 pela FDA (*Food and Drug Administration*), o termoplástico sintético, biodegradável e biocompatível, é utilizado em diversas aplicações médicas, com o material geralmente em forma de *pellet* (grano), dentre elas suturas, fabricação de peças ortopédicas, microesferas para liberação controlada de medicamentos e arcabouços para regeneração de tecidos (PINTO et al., 2016).

O PCL (Policaprolactona) é um polímero sintético biocompatível e biodegradável, em aplicações médicas pode-se apontar a liberação controlada de medicamentos e para fabricação de arcabouços de engenharia tecidual (RAMOS, 2011; AMASS et al. 1998; SASMAZEL et al., 2008).

Neste projeto foram utilizados modelos CAD (*Computer Aided Design*) 3D de *scaffolds*, os mesmos foram fabricados pela tecnologia de manufatura aditiva FDM, apresentando bons resultados para cinco das seis geometrias projetadas.

Após a fabricação dos *scaffolds*, os mesmos foram recobertos, por submersão, em uma solução de PCL e acetona, a fim de aumentar sua biocompatibilidade. Foram realizadas imagens fotográficas e micrografias para

averiguar a adesão do PCL aos *scaffolds*, sendo que os resultados se demonstraram satisfatórios.

Com base nos ensaios mecânicos de compressão realizados, foram selecionados os *scaffolds* com melhores resultados, para o prosseguimento das análises. As geometrias que apresentaram os melhores resultados foram a *RoundBar+Cube* e a *RoundBar+Sphere*, e foram utilizadas para a análise via FTIR e MEV, que auxiliaram para o direcionamento dos *scaffolds* para aplicação em regeneração óssea, sendo o osso trabecular a aplicação mais viável para os *scaffolds* desenvolvidos. A validação biológica dos *scaffolds* foi obtida a partir dos ensaios hemolíticos que não apontaram danos as hemácias pelos *scaffolds* fabricados.

2 OBJETIVOS

Dentro deste contexto, o objetivo deste projeto de pesquisa foi fabricar *scaffolds* de PLA, por impressão 3D, e recobri-los com PCL para avaliar sua aplicação em regeneração óssea.

Como objetivos específicos, podem-se destacar:

- Definir e variar as geometrias, via CAD, dos *scaffolds*;
- Definir os parâmetros de impressão dos *scaffolds*, tais como a velocidade de deposição, temperatura de trabalho e espessura da camada;
- Avaliar a influência dos parâmetros do processo de recobrimento, como tempo de imersão, quantidade de camadas e concentração;
- Analisar as propriedades morfológicas por imagem fotográfica;
- Avaliar suas propriedades mecânicas através dos ensaios mecânicos de compressão;
- Avaliar a eficácia do recobrimento a partir da análise dos espectros obtidos no FTIR;
- Analisar a qualidade da impressão, as dimensões dos poros dos *scaffolds*, bem como a superfície recoberta, a partir das imagens obtidas via MEV;
- Analisar a toxicidade em sangue de carneiro dos *scaffolds*, através do teste de hemólise.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Problemas Relacionados a Estrutura Óssea

Segundo a Organização Mundial da Saúde (2019), questões relacionadas as condições osteomusculares são responsáveis por grande parte dos diagnósticos de diferentes problemas que afetam o sistema locomotor, tais questões estão ligadas aos músculos, ossos, juntas e tecidos como tendões e ligamentos. Podem surgir repentinamente, como no caso de fraturas, entorses e distensões, ou podem permanecer ao longo da vida, como no caso de artrites e artroses.

Geralmente as condições osteomusculares são caracterizadas por dor, que pode ser constante, e limitações de mobilidade, destreza e capacidade funcional, como no caso de fraturas que podem durar meses, reduzindo, ou impedindo, a atuação dos pacientes no trabalho e participação em papéis sociais, impactando o bem estar mental e a prosperidade das comunidades (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2019).

Os problemas mais comuns relacionados à estrutura óssea são a osteoporose, osteopenia, fraturas frágeis e fraturas relacionadas à traumas, caracterizados principalmente pela ocorrência de acidentes (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2019). Segundo Ashman e Phillips (2013), a perda óssea é uma das grandes questões que afetam a saúde dos pacientes, tais perdas ocorrem principalmente devida à traumas causados por altos impactos, tumores, cirurgias e pelo agravamento de deformidades.

Segundo a Organização Mundial da Saúde (2019) existe uma dificuldade em mensurar com precisão o impacto social e econômico relacionados as condições osteomusculares, isto se deve à grande variedade de questões envolvidas. Entretanto, pode-se apontar as limitações na locomoção, que trazem impactos diretos ao bem-estar físico e mental do paciente, e impactos financeiros, como no caso dos hospitais onde procedimentos cirúrgicos ortopédicos representam uma das maiores despesas. Traduzindo em valores, as condições osteomusculares são as maiores causadoras da perda de produtividade no local de trabalho, custando cerca de US\$ 213 bilhões em 2011,

aproximadamente 1,4% do PIB (Produto Interno Bruto) mundial (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2019).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (2019) a prevenção é o melhor caminho para a solução dos problemas relacionados às questões osteomusculares. Métodos não cirúrgicos e não farmacológicos como exercícios, controle de obesidade e controle da má nutrição, bem como o investimento em prevenção de acidentes são muito eficazes no controle de questões osteomusculares (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2019). Entretanto, é importante ressaltar que muitos dos problemas envolvendo o tecido ósseo necessitam de procedimentos cirúrgicos para recuperação, e nesse contexto entra a engenharia tecidual que será discutida à frente.

3.2 Engenharia Tecidual

Segundo Lanza et. al (2007) a engenharia tecidual surge como resposta para auxiliar no crescimento celular, visando aumentar a qualidade de vida, reduzindo o tempo de cirurgias e de recuperação dos pacientes que sofrem com diversas enfermidades.

Na engenharia tecidual o novo tecido é gerado a partir da utilização de células vivas, suportadas por uma matriz ou *scaffold*, que têm função de guiar seu crescimento (LANZA et. al, 2007). Silva (2012) e Turnbull et. al (2018) apontam que os *scaffolds* são utilizados para simular os aspectos e propriedades dos tecidos e da estrutura base, visando fornecer um ambiente biomecânico e biologicamente compatível com tal estrutura, a fim de que as células possam se organizar e desenvolver o tecido de reposição necessário.

Williams (1976) e Turnbull et. al (2018) apontam que os *scaffolds* devem cumprir alguns requisitos para que sua utilização não seja prejudicial ao tecido, e por consequência, ao paciente no qual o *scaffold* será implantado.

- Devem ter uma estrutura microscópica e macroscópica reprodutível com uma alta proporção da superfície / volume adequada para adesão celular, ou seja, os poros devem ser interconectados, para que a difusão e migração celulares ocorram de maneira correta;

- O material que compõem o *scaffold* deve ser biocompatível e bioativo. Em geral, todo o *scaffold* deve ser biocompatível, uma vez que é fabricado por biomateriais. A bioatividade está ligada à capacidade do *scaffold* interagir com o tecido onde será implantado;
- Devem ter porosidade adequada, para que as células possam crescer corretamente pela estrutura;
- Suas propriedades mecânicas devem ser compatíveis com sua aplicação. Este aspecto é de extrema importância, principalmente para aplicações em regeneração óssea;
- O material deve ser biodegradável e os produtos de sua degradação devem ser atóxicos, uma vez que o tecido tenha sido regenerado, o *scaffold* deve degradar-se sem causar danos ao tecido e ao paciente;
- A taxa de degradação deve corresponder ao tipo de regeneração de modo que o *scaffold* desapareça completamente após o tecido ser reparado.

Por conta de sua geometria complexa, de poros interconectados, a manufatura aditiva tem mostrado potencial para fabricação de *scaffolds*, as características do processo de impressão serão discutidas na sequência do projeto.

3.3 Manufatura aditiva

Nos últimos anos uma nova tecnologia tem sido empregada na área médica, é a chamada manufatura aditiva. Existem diversas aplicações no que diz respeito a manufatura aditiva na medicina, por exemplo no auxílio da elaboração de procedimentos cirúrgicos complexos, moldes para guias cirúrgicos, planejamento de tratamentos de tumores, planejamento de radioterapias, diagnósticos, design de instrumentos médicos, design de implantes e fabricação de próteses personalizadas e *scaffolds* de engenharia tecidual (GRANDO, 2005; GREENDA, 2006).

Segundo Volpato et al. (2017) a manufatura aditiva é um processo de fabricação através da adição de material em forma de camadas planas e sucessivas, isto é, baseada no princípio de manufatura por camada. Esta tecnologia permite a fabricação de componentes físicos em 3D, com informações obtidas a partir do modelo geométrico gerado no sistema CAD.

Volpato et al. (2017) aponta que todo o processo de manufatura aditiva, independente da tecnologia empregada, segue os seguintes passos básicos para obtenção de peças acabadas:

- Criação do modelo CAD 3D. Este processo por ser obtido com dados de tomografias computadorizadas e/ou ressonâncias magnéticas;
- Conversão do arquivo CAD 3D para o formato STL (*Standard Triangle Language*) apropriado para impressão 3D;
- Fatiamento do arquivo STL no *software* controlador da impressão, a fim de gerar o *Gcode*, arquivo que pode ser lido para impressão;
- Impressão 3D do modelo, por meio da tecnologia de manufatura aditiva selecionada, através da deposição de camadas planas e sucessivas;
- Acabamentos.

Quando comparado com outros processos de fabricação, a manufatura aditiva possui algumas vantagens, Volpato et al. (2017) aponta tais benefícios:

- Independência da complexidade geométrica do protótipo, as tecnologias de manufatura aditiva podem fabricar peças que seriam impossíveis de serem fabricadas por técnicas de fabricação convencionais;
- O próprio processo de fabricação por manufatura aditiva cria os suportes para fixação do protótipo, ou seja, não são necessários quaisquer dispositivos externos (ferramentais) para auxiliar na fixação da peça a ser fabricada;
- Geralmente uma única ferramenta de trabalho é utilizada do início ao fim do processo. Sendo assim, não são necessárias trocas de ferramentas durante a fabricação por manufatura aditiva;

- O protótipo é fabricado em uma única etapa, ou seja, não são necessários outros equipamentos para construir a peça;
- Não são necessários cálculos complexos de trajetórias de ferramentas, o planejamento do processo é bastante simples, uma vez que sistemas dedicados realizam estes cálculos de forma automatizada;
- Possui menor tempo de fabricação e um custo reduzido na obtenção de protótipos;
- Pode ser utilizada para obtenção de componentes para a própria máquina de manufatura aditiva, possibilitando assim a produção de um número maior de protótipos.

Segundo Volpato et al. (2017) a manufatura aditiva possui desvantagens que devem ser levadas em consideração, tais como:

- Existe uma quantidade limitada de materiais que podem ser utilizados na manufatura aditiva. Limitando-se a gama de aplicações das peças fabricadas por tal tecnologia, outro fator que leva a essa limitação é o fato de a fabricação ser realizada pela adição de camadas, fazendo com que o material tenha certa anisotropia;
- O acabamento superficial é inferior aos das peças obtidas por técnicas da fabricação convencionais, como torneamento por exemplo. Isto ocorre pelo fato de o processo ser realizado através da deposição de camadas, em regiões inclinadas e curvas ocorrem desvios na geometria do protótipo;
- Por conta da natureza térmica de alguns processos, problemas como distorções, empenamentos e expansões podem ser observados.

A manufatura aditiva é aplicada amplamente em diversos setores industriais como o automotivo, aeroespacial, energético e para bens de consumo, bem como é utilizado para fabricação de protótipos utilizados em testes (HUANG et al., 2015; VOLPATO et al., 2017). Huang et al. (2015) apontam as utilizações da manufatura aditiva na medicina para fabricação de próteses e implantes personalizados, *scaffolds* para engenharia tecidual e dispositivos

médicos. Também aponta como destaque a impressão celular, que visa o desenvolvimento de tecnologias para fabricação com tecidos vivos.

Turnbull et al. (2018) apontam a utilização de tecnologias de impressão 3D para a fabricação de *scaffolds* de engenharia tecidual, principalmente no que tange sua utilização em regeneração óssea, já que o osso é o segundo tecido mais transplantado em todo o mundo.

3.3.1 Tecnologias utilizadas na manufatura aditiva

A manufatura aditiva possui diversas tecnologias que podem ser empregadas de acordo com cada tipo de material, sendo elas baseadas em materiais sólidos, líquidos e em forma de pó (VOLPATO et al., 2017). Dentre essas tecnologias, pode-se citar:

3.3.1.1 FDM (*Fused Deposition Modeling*)

É o maior exemplo de tecnologia que utiliza materiais sólidos como matéria prima. O processo FDM trabalha com polímeros termoplásticos, como o ABS e o PLA, em forma de filamentos. É o processo mais utilizado de manufatura aditiva por conta do baixo custo para a obtenção do maquinário (TEODORO et al., 2014; MAGALHÃES, 2010; VOLPATO et al., 2017).

Nesse processo um filamento de polímero termoplástico é aquecido, até o ponto semilíquido ou pastoso, e extrudado através de um bico fixado no cabeçote que se move nos eixos X e Y. Quando o material é depositado na mesa aquecida, ele resfria e solidifica-se no formato desejado. A união dos fios de material depositados forma uma camada do protótipo. Assim que uma camada é finalizada, o cabeçote, se movimenta no eixo Z, para que uma nova camada seja fabricada, dando origem a peça desejada (MAGALHÃES, 2010; VOLPATO et al., 2017). A Figura 1 aponta o processo de fabricação via FDM, em que pode ser observada a utilização de filamentos para geração de suportes para fabricação, que são utilizados para possibilitar a construção de regiões que não estejam conectadas ao corpo da peça. Estes suportes são formados de materiais mais frágeis, a fim de serem removidos após a finalização do protótipo (VOLPATO et al., 2017).

Segundo Magalhães (2010), as propriedades mecânicas de peças fabricadas por FDM são orientadas, principalmente, pela largura do filamento, orientação de deposição e tamanho dos espaços entre os filamentos.

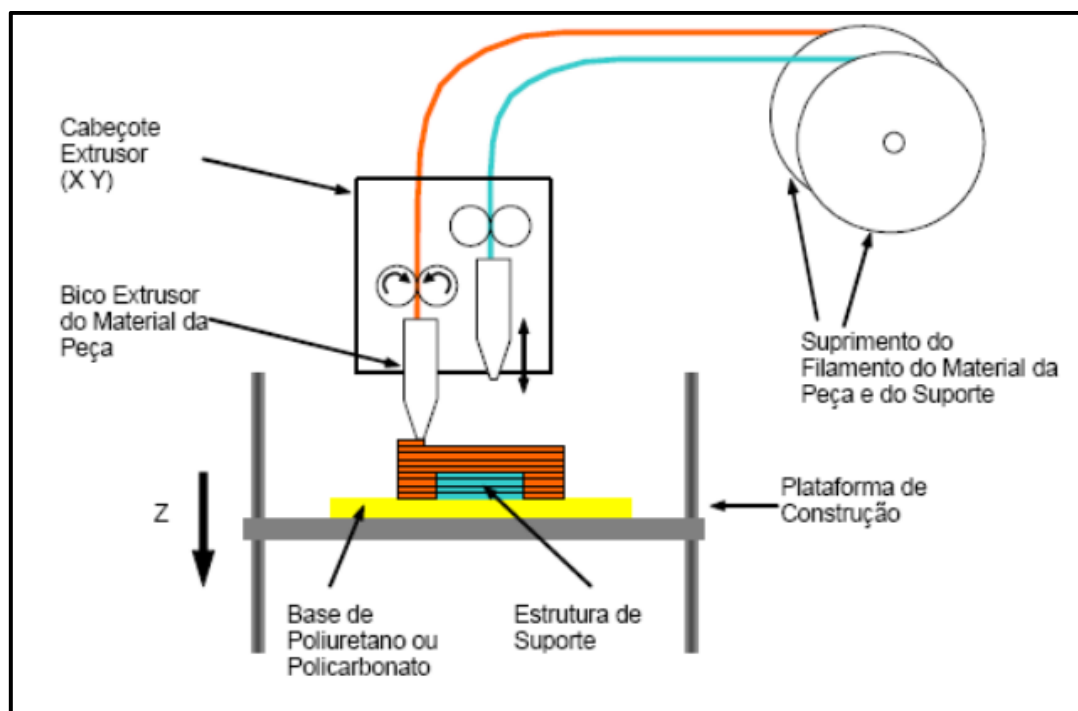


Figura 1 - Princípio do processo FDM. Fonte: Volpato et al. (2017).

Dentre as vantagens do processo FDM, Volpato et al. (2017) aponta que as peças produzidas nesse método possuem 85% da resistência destas mesmas peças fabricadas com o mesmo material pelo processo de injeção, além disso, as peças não necessitam de pós-cura do material, pois o processo não utiliza laser e a máquina envolvida no processo pode ser utilizada em ambientes fechados, como escritórios, laboratórios e até mesmo residências.

Algumas desvantagens, apontadas por Volpato et al. (2017), são a baixa precisão do processo, que é principalmente governada pela espessura do bico extrusor, a necessidade de gerar suportes para fabricação, bem como o pós-processamento para remoção desses suportes, além da baixa velocidade de fabricação, quando comparado com outros processos de manufatura aditiva.

3.3.1.2 PolyJet

A tecnologia *PolyJet* baseia-se no processo de impressão por jato de tinta, em que pequenas gotas de fotopolímeros líquidos são depositados sobre a plataforma de construção. Então uma luz UV (Ultra Violeta) é irradiada sobre a plataforma, para que seja realizada a cura do material no formato desejado, este processo é repetido para cada uma das camadas que compõem o produto final (STRATASYS, 2015; VOLPATO et al., 2017).

A Figura 2 exemplifica o princípio de fabricação pela tecnologia *PolyJet*. A cabeça de impressão é responsável por armazenar o material fotocurável e toda estrutura que emite a luz UV. Esse cabeçote se movimenta nos eixos X e Y, depositando o material e realizando a sua cura. A plataforma de construção movimenta-se no eixo Z, toda vez que uma camada é finalizada a plataforma desce para que uma nova camada se inicie. Esse processo é repetido até a finalização da impressão.

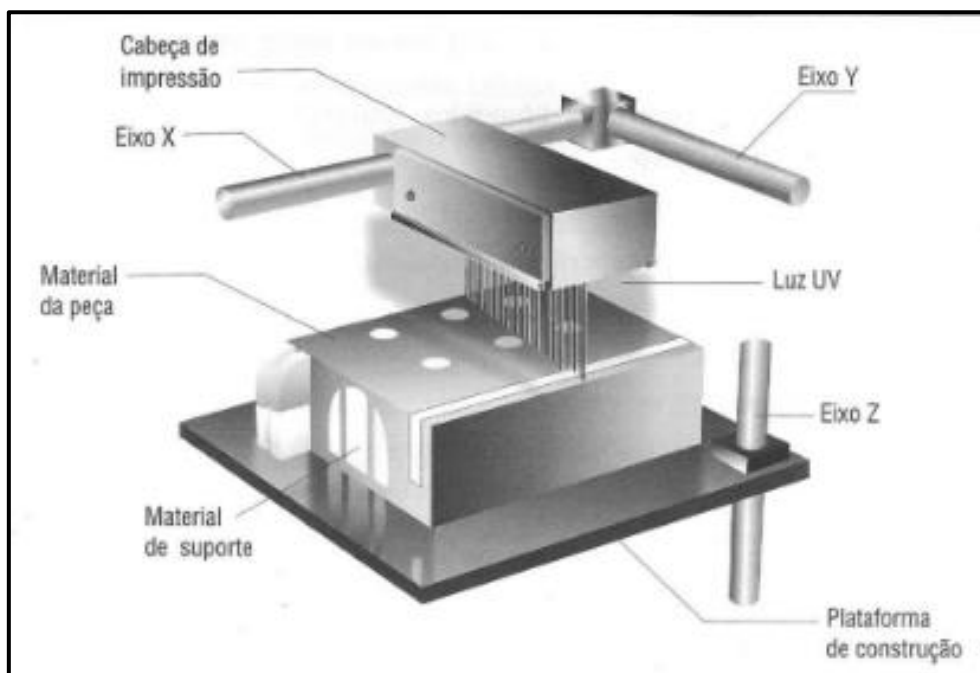


Figura 2 - Princípio do processo *PolyJet*. Fonte: Volpato et al. (2017).

Os suportes dessa tecnologia são gerados por um material em forma de gel, também fotocurável, e podem ser removidos com facilidade, utilizando água, no pós-processamento (VOLPATO et al., 2017).

Conforme Volpato et al. (2017) e Artis (2018), as principais vantagens da tecnologia são a alta precisão do processo e a excelente qualidade superficial, proveniente da espessura das camadas, que podem chegar a 16µm. Os componentes fabricados por *PolyJet* não necessitam de pós-cura do material que o compõem, uma vez que toda cura é realizada durante o processo de fabricação. Ademais, outra vantagem do processo é a utilização de luzes UV, não tendo a necessidade de lasers de alta potência, que consomem grande quantidade de energia, para cura dos materiais.

Como desvantagens, Volpato et al. (2017) aponta a necessidade de suporte em regiões não conectadas, bem como pós-processamentos para sua remoção. Além disso, a principal desvantagem é a baixa quantidade de materiais que podem ser utilizados em tal tecnologia, uma vez que a mesma utiliza polímeros fotocuráveis para fabricação.

3.3.1.3 SLS (*Selective Laser Sintering*)

Esta tecnologia utiliza como matéria prima diversos materiais em forma de pó, em que um laser de CO_2 é utilizado para realizar a sinterização. (VOLPATO et al., 2017).

Conforme pode ser observado na Figura 3, a estrutura da máquina que utiliza a tecnologia de fabricação por SLS é composta por um sistema de varredura, onde está localizado o laser, com um espelho que o direciona; um sistema de suprimento do material, onde está localizada a matéria prima em pó; uma plataforma de construção que se movimenta no eixo Z; e um rolo para espalhar e nivelar o material (VOLPATO et al., 2017).

Segundo Volpato et al. (2017), o processo de fabricação pela tecnologia SLS ocorre da seguinte maneira:

- A plataforma de construção desce, na espessura da camada desejada, para que o material seja depositado;
- A plataforma do sistema de suprimento sobe;
- O rolo espalha o material pela plataforma de construção, deixando o mesmo nivelado e retirando o excesso de material;

- Então do sistema de varredura incide o laser sobre o pó, aquecendo o material até uma temperatura pouco abaixo do ponto de fusão;
- Então a camada está pronta e o processo se repete até que a peça seja finalizada.

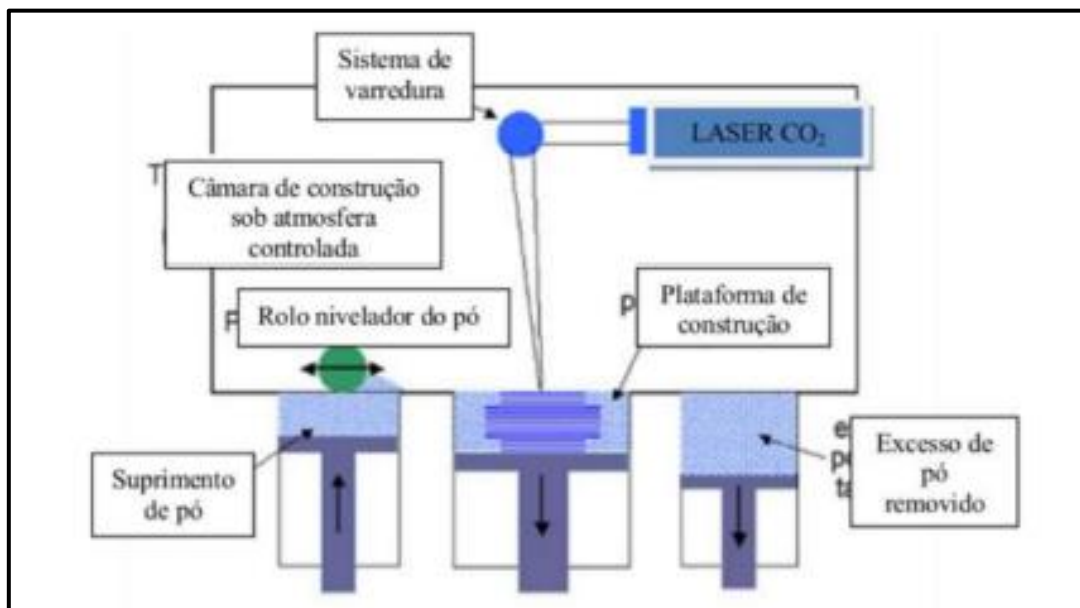


Figura 3 - Princípio do processo SLS. Fonte: Volpato et al. (2017).

Em alguns casos a máquina possui uma câmara fechada para realizar a fabricação, isso se deve a necessidade de uma atmosfera inerte, para evitar que explosões ocorram durante a sinterização do material (VOLPATO et al., 2017).

O material que não é utilizado para construção da peça pode ser reutilizado, a quantidade de reutilizações varia com cada tipo de material (VOLPATO et al., 2017).

Conforme Volpato et al. (2017), as principais vantagens do processo são a variedade de materiais que podem ser utilizados, dentre eles náilon, poliamida, poliamida com microesferas de vidro, elastômero, diversas cerâmicas e metais. As peças fabricadas por esta tecnologia têm propriedades bem próximas quando comparados com outros processos de fabricação e, na maioria dos casos, as peças saem totalmente prontas depois do processo.

O elevado custo do equipamento utilizado, o consumo elevado de energia e o acabamento superficial pobre são as principais desvantagens do processo (VOLPATO et al., 2017).

3.4 Biomateriais

Segundo Williams (1999, p. 42), uma definição muito aceita para biomateriais é “material sintético, natural ou natural modificado [...] utilizado em dispositivos médicos [...] que pretende interagir com sistema biológicos, a fim de avaliar, ampliar, tratar ou substituir qualquer tecido, organismo ou função do corpo”.

O desenvolvimento dos biomateriais provém, principalmente, do aumento na expectativa de vida da população que naturalmente afeta o desempenho dos órgãos e tecidos do corpo. Surgindo assim a demanda de próteses, implantes e técnicas cirúrgicas, expandindo a aplicação dos biomateriais (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2015; BERTOL, 2008).

Segundo Callister Jr. (2009), comumente, os materiais sólidos são agrupados em quatro grupos distintos os metais, os cerâmicos, os polímeros e os compósitos.

3.4.1 Metais

Os metais são materiais inorgânicos, sua principal característica é a presença de ligações metálicas entre os átomos. Em síntese, uma ligação metálica é formada por átomos que possuem um, dois ou três átomos em sua camada de valência e que não estão ligados a nenhum átomo em particular, ficando “livres” no que é chamado de “nuvem de elétrons” (PADILHA, 2000).

Pela natureza de suas ligações químicas, os metais têm propriedades como alto módulo de elasticidade e alto ponto de fusão, também costumam ser bons condutores de energia e calor. Além disso, os metais são dúcteis e podem ser conformados por diversos tipos de processos como usinagem, forjamento e fundição (PADILHA, 2000; CALLISTER JR., 2009).

Segundo Pires et al. (2015) os metais são os biomateriais mais utilizados atualmente, principalmente por conta das suas propriedades de resistência à fadiga e à fratura, isso faz com que o implante, ou prótese, tenha uma alta longevidade *in vivo*.

Por conta de suas propriedades, os biomateriais metálicos são comumente utilizados em aplicações estruturais, como parafusos e placas para

fixação de fraturas, implantes dentários e próteses articulares, como próteses de quadril e joelho (PIRES et al., 2015). A Tabela 1 aponta alguns dos biomateriais metálicos mais utilizados, bem como algumas de suas aplicações.

Biomaterial	Aplicação
Titânio e suas ligas	Próteses de carga, como substituição total do joelho e quadril, bem como algumas aplicações odontológicas
Ligas de Cromo-Cobalto	Próteses de carga, como substituição total do joelho e quadril.
Aço Inoxidável	Pinos e placas para fixação de fraturas e aplicações odontológicas

Tabela 1 - Principais biomateriais metálicos e suas aplicações. Fonte: Pires et al., 2015 e Gregolin, 2013.

3.4.2 Cerâmicos

Os materiais cerâmicos são sólidos compostos por elementos metálicos e não-metálicos, caracterizados por ligações iônicas, ou combinações de ligações iônicas e covalentes. Frequentemente são nitretos, carbonetos ou óxidos (CALLISTER JR., 2009).

Em síntese, as ligações iônicas caracterizam-se pela transferência de um ou mais elétrons de um átomo eletropositivo para um átomo eletronegativo. Esse tipo de ligação pode ser compreendido como resultado da atração entre dois íons, um negativo (ânion) e um positivo (cátion) (PADILHA, 2000). Já nas ligações covalentes ocorre o compartilhamento de um ou mais elétrons, gerando uma força de atração entre dois átomos, essas ligações são fortes e altamente direcionais (CALLISTER JR., 2009; PADILHA, 2000).

Pela natureza de suas ligações, os materiais cerâmicos possuem baixa ductilidade e não são facilmente deformados, ou seja, em geral são frágeis e duros. Tais materiais não suportam altas cargas externas, em geral as cerâmicas possuem alto módulo de elasticidade, alta resistência à compressão, porém baixa resistência mecânica e baixa resistência à tração, são bons isolantes

elétricos e térmicos, podendo suportar altas temperaturas em ambientes químicos extremos (CALLISTER JR., 2009; PADILHA, 2000).

Como biomateriais são utilizadas como próteses para articulações, *scaffolds* para engenharia tecidual, coroas de implantes dentários e em válvulas cardíacas. Os maiores exemplos de biomateriais cerâmicos são a zircônia, a alumina, os biovidros e a hidroxiapatita, sendo esta última muito utilizada para fabricação de *scaffolds* (PIRES et al., 2015; DIEGO et al, 2007). A Tabela 2 aponta alguns dos biomateriais cerâmicos mais utilizados, bem como algumas de suas aplicações.

Biomaterial	Aplicação
Hidroxiapatita	Próteses odontológicas (coroa dentária) e fabricação de <i>scaffolds</i> para engenharia tecidual
Zircônia	Próteses odontológicas (coroa dentária)
Alumina	Cimento ósseo para fixação de fraturas

Tabela 2 - Principais biomateriais cerâmicos e suas aplicações. Fonte: Pires et al., 2015 e Diego et al, 2017.

3.4.3 Polímeros

São materiais orgânicos, naturais ou sintéticos, a maior parte destes materiais é composta por carbono, hidrogênio e outros compostos não metálicos. Os polímeros são compostos por macromoléculas caracterizada por seu alto peso molecular, os átomos que formam suas cadeias possuem ligações covalentes entre si, porém as ligações entre as cadeias são ligações secundárias (CALLISTER JR., 2009; PADILHA, 2000).

As ligações secundárias, também conhecidas como ligações de *Van der Waals*, são mais fracas que as ligações primárias e ocorrem baseadas na atração entre dipolos, que são formados quando há uma distribuição irregular de carga no átomo, causando separação entre negativo e positivo em porções na

molécula, esses dipolos resultam em atrações eletrostáticas entre átomos, ou moléculas, adjacentes. (CALLISTER JR., 2009; PADILHA, 2000).

Os materiais poliméricos geralmente são leves, isolantes elétricos e térmicos, flexíveis e apresentam boa resistência à corrosão, porém possuem baixa resistência à altas temperaturas (CALLISTER JR., 2009; MANO E MENDES, 2004).

Segundo Callister Jr. (2009), os polímeros podem ser classificados em três grupos distintos:

- **Termoplásticos:** podem ser repetidamente conformados mecanicamente desde que reaquecidos. Exemplos de termoplásticos são: Polietileno, Policloreto de Vinila, Poli Ácido Lático (PLA) e o Polipropileno;
- **Termorrígidos:** são conformáveis plasticamente apenas em um estágio intermediário de sua fabricação. Exemplos de termorrígidos são: Baquelite, os Poliuteranos e os Poliésteres, como a Policaprolactona (PCL);
- **Elastômeros (Borrachas):** são materiais conformáveis plasticamente, que se alongam elasticamente de maneira acentuada até a temperatura de decomposição e mantém essas características em baixas temperaturas. Exemplos de elastômeros são: a borracha natural, neopreno, borracha de estireno, borracha de butila e borracha de nitrila.

Como biomateriais poliméricos podem ser citados: o polietileno de ultra alto peso molecular utilizado em implantes de joelho e quadril, o látex natural utilizado para fabricação de filmes para regeneração de tecidos, o PLA utilizado para sistemas de liberação controlada de fármacos e embalagens de alimentos, e o PCL utilizado para sistemas de liberação controlada de fármacos e para fabricação de *scaffolds* para engenharia tecidual (RAMOS, 2011; AMASS et al., 1998; SASMAZEL et al., 2008; PINTO et al., 2016). A Tabela 3 aponta alguns dos biomateriais poliméricos mais utilizados, bem como algumas de suas aplicações.

Biomaterial	Aplicação
Polietileno de Ultra Alto Peso Molecular	Prótese de joelho e quadril, principalmente para reduzir o atrito entre duas peças metálicas
Poli-Ácido-Lático (PLA)	Liberação controlada de fármacos e embalagem de alimentos
Policaprolactona (PCL)	Liberação controlada de fármacos e fabricação de <i>scaffolds</i> para engenharia tecidual

Tabela 3 – Principais biomateriais poliméricos e suas aplicações. Fonte: Ramos, 2011; Amass et al., 1998; Sasmazel et al., 2008; Pinto et al., 2016.

3.4.4 Compósitos

Os compósitos podem ser compreendidos como combinações entre dois ou mais materiais de tipos diferentes, e são caracterizados pela presença de um material matriz, ou material principal, e outro material denominado *filler*, ou material secundário (CALLISTER JR., 2009).

Por se tratarem de combinações entre diferentes materiais, os compósitos podem ter quaisquer tipos de ligação química entre seus átomos, sendo assim, suas propriedades variam conforme os materiais que são utilizados (CALLISTER JR., 2009).

Pires et al. (2015) aponta a aplicação de compósitos para fabricação de *scaffolds* para engenharia tecidual, em que os mesmos são fabricados com uma combinação de polímeros, como o PLA e o PCL, e cerâmicas como o fosfato de cálcio.

3.4.5 Características Inerentes aos Biomateriais

Os biomateriais possuem alguns conceitos que devem ser considerados quando são estudadas suas aplicações, pois definem a possibilidade da utilização do material, bem como as aplicações nas quais ele pode ser utilizado.

- **Biocompatibilidade:** capacidade do material desempenhar sua função obtendo uma resposta apropriada do sistema (WILLIAMS, 1999);
- **Bioestabilidade:** refere-se à taxa de degradação do material quando o mesmo está em contato com tecido vivo (WILLIAMS, 1999);
- **Bioatividade:** refere-se à capacidade de alguns materiais participarem em reações biológicas específicas (WILLIAMS, 1999);
- **Bioinércia:** refere-se à capacidade do material estar em contato com tecido vivo sem participar de reações biológicas específicas (WILLIAMS, 1999);
- **Bioabsorção:** refere-se à capacidade do material que está em contato com tecido vivo ser degradado, após um período de tempo, e ser absorvido pelo metabolismo (MAIA et. al., 2010; WILLIAMS, 1999).

3.4.6 PLA (Póli Ácido Láctico)

Aprovado desde a década de 70 pela FDA (*Food and Drug Administration*) o poli ácido láctico (PLA) é um polímero sintético termoplástico, biodegradável e biocompatível, que possui plasticidade térmica e mecânica. Esse material possui diversas aplicações na área biomédica, dentre elas suturas, fabricação de peças ortopédicas, microesferas para liberação controlada de medicamentos, *scaffolds* para engenharia tecidual e embalagens de alimentos (PINTO et al., 2016).

Segundo Ratner et al. (2004), o PLA e seus copolímeros são muito investigados para aplicações no campo dos biomateriais, quando comparados a outros polímeros, e isto se deve ao sucesso já apontado em suas aplicações, bem como a questão de o PLA ser considerado seguro pelas agências reguladoras de diversos países.

A Figura 4, aponta a estrutura química do monômero PLA.

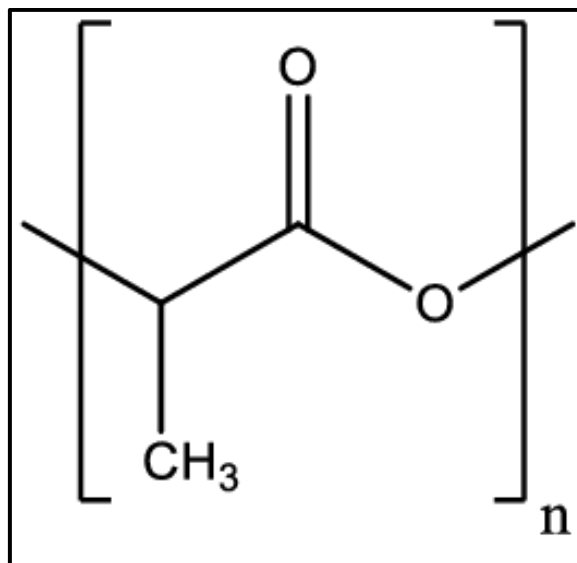


Figura 4 - Estrutura química do PLA. Fonte: adaptado de Choi et al. (2013).

A produção deste polímero pode ser realizada a partir de fontes agrícolas renováveis, tal produção consome quantidade consideráveis de dióxido de carbono, o PLA é reciclável e compostável, sendo uma alternativa do ponto vista ambiental (PEREIRA; MORALES, 2014).

As aplicações do PLA são muito variadas, principalmente por possuir características próximas a polímeros como o Policloreto de Vinila, o Polipropileno e o Poliestireno, porém sua principal aplicação está relacionada com a embalagem de alimentos (NAMPOOTHIRI et al., 2010). Pires et al. (2015), aponta que o PLA tem sido pesquisado para utilização em *scaffolds* de engenharia tecidual.

A aplicação do PLA na manufatura aditiva tem ganhado cada vez mais espaço, principalmente na tecnologia FDM, pois o material tem custo reduzido e é relativamente simples de ser utilizado, por ser muito estável (BRITO et al., 2012).

Dentre as propriedades mecânicas do PLA pode-se citar sua elevada fragilidade e rigidez (BRITO et al, 2012). A Tabela 4 aponta as propriedades mecânicas do PLA, em forma de filamento, utilizado na tecnologia de manufatura aditiva FDM.

Propriedade Mecânica	PLA – Filamento
Tensão Limite de Resistência à Tração (MPa)	62
Módulo de Elasticidade (MPa)	3200
Alongamento de Fratura (%)	3,3
Coefficiente de Poisson	0,39
Temperatura de Transição Vítrea – Tg (°C)	60 – 65
Temperatura de Fusão – Tm (°C)	173 – 178
Tempo de Degradação (meses)	>24

Tabela 4 – Propriedades mecânicas do PLA em forma de filamento. Fonte: adaptado de Brito et al. (2013) e Barbanti et al. (2005).

Li et al. (2018) e Farah et al. (2016) apontam que o PLA tem sido amplamente estudado para aplicação em engenharia tecidual, principalmente no que diz respeito a fabricação de *scaffolds*. Esse último impulsionado pela aplicação da manufatura aditiva para realizar sua fabricação, pois permite que os *scaffolds*, que possuem uma estrutura poroso complexa, sejam fabricados com velocidade e precisão. Outro ponto que deve ser destacado é a variedade de geometrias que podem ser obtidas com uma única máquina. Pires et al. (2015) aponta que o PLA é removido do organismo de forma completa por vias naturais, característica importante para os *scaffolds*.

Chavanne et al. (2013) e Li et al. (2018) destacam a utilização de polímeros biodegradáveis, como o PLA, para aplicação na manufatura aditiva e fabricação de *scaffolds*, sendo que a grande maioria destes são fabricados via compósitos, ou seja, com dois tipos de materiais. Exemplos destes compósitos são os *scaffolds* de PLA e Hidroxiapatita.

Apesar do PLA ser utilizado com sucesso em aplicações na engenharia tecidual, testes *in vitro* têm demonstrado que o crescimento celular não é tão acelerado quando tais células estão em contato com o PLA (RATNER et al., 2004). Isto leva a utilização de mais materiais para fabricação destes *scaffolds*,

como a blenda PLA / PCL apresentada por Shahrezaee et al. (2018) e os *scaffolds* de PLA recoberto com hidroxiapatita apresentado por Guo et al. (2012).

3.4.7 PCL (Policaprolactona)

A Policaprolactona (PCL) é um polímero sintético, biocompatível e biodegradável, pertencente à família dos poliésteres alifáticos, apresentando características hidrofóbicas, que o torna estável quando em contato com a água (RAMOS, 2011; AMASS et al., 1998). As principais aplicações do PCL na medicina estão relacionadas à sistemas de liberação controlada de fármacos e na engenharia tecidual para fabricação de *scaffolds* (SASMAZEL et al., 2008).

Segundo Onder et al. (2017), o PCL é obtido a partir da polimerização por abertura de anel de ϵ -caprolactona, sua estrutura química pode ser observada na Figura 5, monômero que pode ser derivado de fontes naturais. Possui propriedades interessantes para aplicações em *scaffolds*, principalmente no que diz respeito a blendas, pois possui alta miscibilidade, ou compatibilidade, com outros polímeros, características que também são interessantes quando pretende utilizar o material para recobrir outro polímero (BARBANTI et al., 2005).

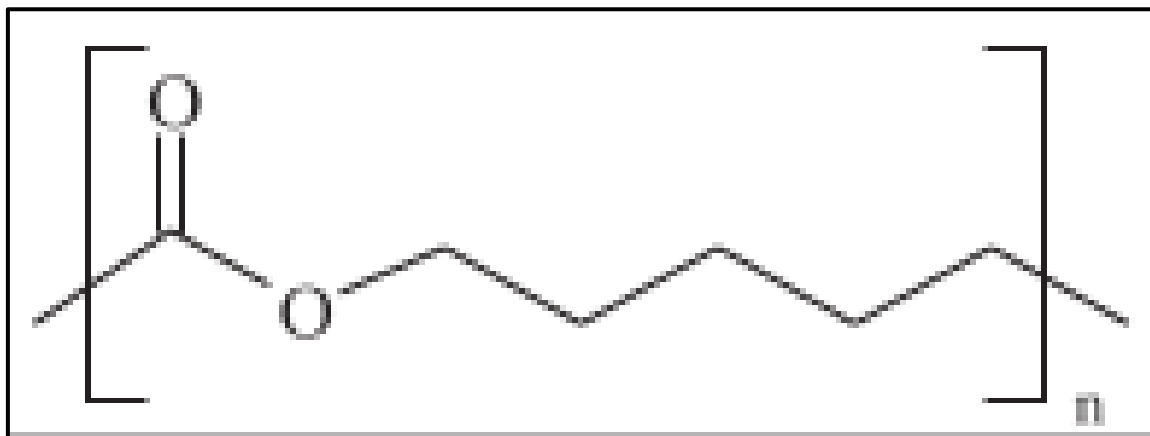


Figura 5 - Estrutura química do PCL. Fonte: adaptado de Barbanti et al. (2005).

A Tabela 5 aponta algumas das principais propriedades do material, sendo importante apontar que o PCL não pode ser utilizado em aplicações que solicitam altas cargas, como próteses de joelho e quadril (AGRAWAL e RAY, 2000).

Segundo Yoshimoto et al. (2003), o PCL é uma alternativa interessante para a fabricação de *scaffolds*, devido a sua falta de toxicidade, lenta degradação e alta biocompatibilidade, que o torna uma opção viável para sua utilização em diversos *scaffolds*, como os utilizados em regeneração óssea.

Propriedades	PCL
Tensão Limite de Resistência à Tração (MPa)	16,9
Módulo de Elasticidade (MPa)	432,9
Alongamento de Fratura (%)	393
Coefficiente de Poisson	0,47
Temperatura de Transição Vítrea – Tg (°C)	(-65) (-60)
Temperatura de Fusão – Tm (°C)	58 – 63
Tempo de Degradação (meses)	24 – 36

Tabela 5 – Propriedades mecânicas do PCL. Fonte: adaptado de Barbanti et al. (2005) e Rosa et al. (2001).

Kundu et al. (2013) utilizaram o PCL como material base de *scaffolds* para utilização em engenharia de tecidos cartilagosos. O material foi extrudado por uma seringa, como um bico de saída de 250µm, em que foi aquecido a uma temperatura de 80°C por 10 minutos e foi extrudado com uma pressão de 650 kPa, com uma velocidade de deposição de 80 mm/min. Os resultados apresentaram-se satisfatórios para a fabricação de *scaffolds* com PCL.

3.5 Hemocompatibilidade

Os métodos *in vitro* apresentam algumas vantagens quando comparados aos métodos *in vivo*, por conta do controle fino das variáveis experimentais, tais como temperatura, esforços e velocidades. Além disso, o tempo de reduzido das análises torna os métodos *in vitro* mais viáveis em diversas situações. Conforme a ISO 10993-1 (2018), os métodos de análise *in vitro* são vantajosos, em síntese, por demonstrarem a resposta celular dos materiais testados, com segurança, velocidade e custo relativamente baixo.

Sendo assim, a realização de uma análise *in vitro* demonstrou-se muito importante e viável para este estudo. A análise escolhida foi o teste de

hemocompatibilidade que consiste em analisar os danos que o material selecionado pode causar às hemácias (toxicidade) quando em contato com sangue de carneiro.

As células sanguíneas são responsáveis por processos fisiológicos essenciais para a vida. Segundo Zago et al. (2013) o sangue é formado de hemácias (glóbulos vermelhos) que são responsáveis pelo transporte de gases (O_2 e CO_2) através da hemoglobina, de leucócitos (glóbulos brancos) que são responsáveis pela defesa do organismo e as plaquetas que são relacionadas às propriedades de coagulação. Sendo assim, o teste de hemocompatibilidade torna-se importante para analisar a interação do material com o sangue, podendo identificar alterações nas células sanguíneas, que podem apontar rejeição ao material analisado.

O teste é realizado aplicando o material a ser testado em sangue preparado, que pode ser de animais, como o carneiro (ONUMA et al., 1999). São utilizados dois tubos de controle, conforme pode ser observado na Figura 6. O tubo 1 é chamado controle negativo, sendo 0% hemolítico, que seria o equivalente a uma amostra sem danos às hemácias, já o tubo 7 é chamado controle positivo, sendo 100% hemolítico, que corresponde a uma amostra com rompimento total das hemácias do sangue, e este controle pode ser obtido com a aplicação de agentes que destroem a hemácia (FISCHER et al., 2013; ONUMA et al., 1999). Para verificar a hemotoxicidade da amostra é utilizado um leitor de microplaca que utiliza como base o controle negativo (0% hemolítico) e o controle positivo (100% hemolítico), medindo os valores intermediários a partir destes pontos, ou seja, é possível quantificar a hemotoxicidade do material.

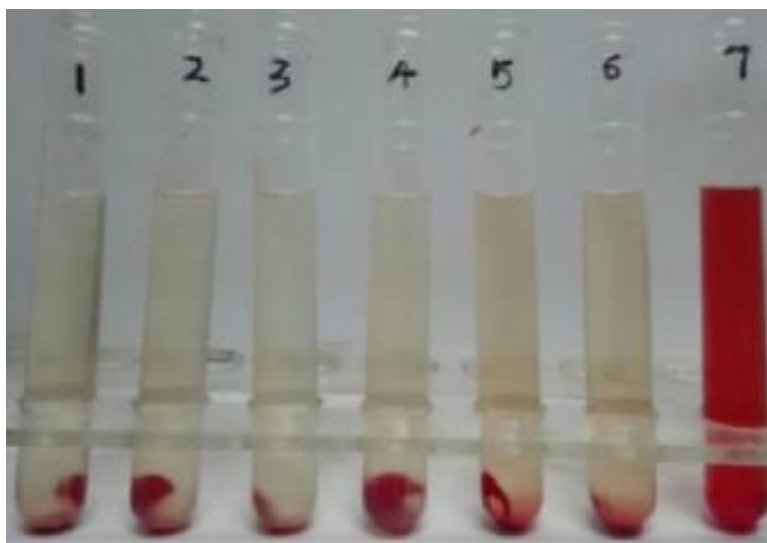


Figura 6 - Ensaio hemolítico: tubo 1 controle negativo, tubo 7 controle positivo.

Fonte: Yang et al. (2016).

3.6 Análise do Potencial de Inovação

Para avaliar o potencial de inovação do projeto, foram utilizadas algumas plataformas como base de buscas, são elas o INPI (Instituto Nacional de Propriedade Industrial), de caráter nacional, WIPO (*World Intellectual Property Organization*) e USPTO (*United States Patent and Trademark Office*), ambas de caráter internacional.

A utilização do PLA já é muito difundida em aplicações industriais. Sendo assim, quando procurado pelo termo “poli ácido láctico” na plataforma INPI, diversas patentes relacionadas a aplicações industriais são encontradas, porém é importante apontar que muitas patentes relacionadas à aplicações biológicas/biomédicas são apresentadas.

No que diz respeito a *scaffolds*, grande parte dos termos pesquisados referem-se à utilização de materiais cerâmicos, principalmente a hidroxiapatita, ou compósitos, apresentando processos de fabricação distintos.

A Tabela 6 aponta os termos buscados, em inglês, nas plataformas WIPO e USPTO, os mesmos termos foram buscados em português na plataforma INPI. É importante observar que quanto mais refinada as buscas menos resultados são encontrados. Os achados que chamaram mais a atenção serão discutidos a seguir.

Termo Buscado	INPI	WIPO	USPTO
<i>"Scaffold AND Tissue Engineering"</i>	1960 resultados	46 resultados	36649 resultados
<i>"Poly (Lactic Acid)"</i>	24550 resultados	327 resultados	56867 resultados
<i>"Polycaprolactone"</i>	57 resultados	14 resultados	23995 resultados
<i>"Scaffold AND Tissue Engineering AND Poly (Lactic Acid)"</i>	0 resultados	5 resultados	0 resultados
<i>"Scaffold AND Tissue Engineering AND Polycaprolactone"</i>	2 resultados	2 resultados	0 resultados
<i>"Scaffold AND Bone Regeneration"</i>	4 resultados	14 resultados	0 resultados
<i>"Scaffold AND Bone Regeneration AND Poly (Lactic Acid)"</i>	0 resultados	1 resultado	0 resultados
<i>"Scaffold AND Bone Regeneration AND Polycaprolactone"</i>	0 resultados	2 resultados	0 resultados

Tabela 6 – Termos buscados e resultados INPI. Fonte: dados do autor.

Dentre as patentes pesquisadas, houveram duas que chamaram a atenção. A primeira delas é a de Varanasi et al. (2017), que se refere a utilização de biopolímeros para confecção de uma blenda líquida, que é impressa através de seringas, por uma impressora 3D específica.

A patente que mais aproxima-se do apresentado neste projeto, é uma patente brasileira. A patente de Eposito e Cardoso (2013) refere-se a um *scaffold*, para aplicação na regeneração do menisco humano, fabricado por uma blenda polimérica composta pelos materiais PLDLA (Póli L-co-D, L ácido láctico) e PCL-T (Policaprolactona triol). O inventor descreve que os materiais são dissolvidos em solvente e esta solução é mantida em um agitador magnético para ser homogeneizada e logo após um agente porógeno é aplicado. Para a construção do *scaffold* é utilizado um molde de silicone, confeccionado com as mesmas dimensões do menisco humano.

Diante disso, o grande diferencial da proposta desse projeto é a utilização do PLA, em forma de filamento para utilização em manufatura aditiva, como material base para construção de *scaffolds* de baixo custo, que podem ter diferentes geometrias, e serem utilizados para aplicações em regeneração óssea. Associado a isso o PCL será utilizado como material de recobrimento do *scaffold* de PLA, a fim de melhorar suas propriedades de biocompatibilidade e bioatividade.

O baixo custo dos *scaffolds* está relacionado com o PLA utilizado em forma de filamento para impressão 3D, que possui custo muito baixo quando comparado ao PLA utilizado em procedimentos médicos. O PCL para utilização em medicina possui custo elevado, porém como o *scaffold* será fabricado com um material que não é próprio para tais procedimentos, o recobrimento é necessário para que algumas propriedades biológicas sejam alcançadas. Adicionalmente, a quantidade de PCL utilizada para o recobrimento é centena de vezes menor do que seria utilizado caso o *scaffold* fosse puramente de PCL. Além disso, a máquina que será utilizada para construção é uma impressora 3D de baixo custo, que pode ser utilizada em bancadas simples e não necessita de outros processos para finalização do *scaffold*.

Sendo assim, pode-se afirmar que o potencial de inovação do seguinte projeto não está na utilização dos materiais PLA e PCL para construção de *scaffolds* para engenharia tecidual, mas sim em como tais materiais são utilizados e processados, visando a redução dos custos do produto final.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

O material utilizado para fabricação dos *scaffolds* foi um PLA natural (translúcido), obtido da empresa *3DFila*, em forma de filamento com 1,75mm de diâmetro. Esse material possui características como temperatura de trabalho entre 200 e 220°C e temperatura da mesa de impressão 60°C. O material utilizado para recobrimento dos *scaffolds* foi um PCL adquirido junto a *Sigma-Aldrich*, com peso molecular de 80.000. Além disso, para a realização dos testes preliminares foi utilizado um ABS branco na forma de filamento com 1,75mm de diâmetro.

Para a fabricação dos *scaffolds* foi utilizada uma impressora *3D Graber I3*, do projeto *RepRap*, com bico extrusor de 0,2mm, baixo custo e código aberto. O projeto *RepRap* é comunitário e está disponível na internet, e possui o ideal de fabricar máquinas autorreplicáveis, ou seja, as impressoras *3D* da *RepRap* podem fabricar peças para outras impressoras.

A impressora *3D* utilizada possui estrutura de MDF, uma mesa aquecida e um sistema de nivelamento automático, como pode ser observado na Figura 7.

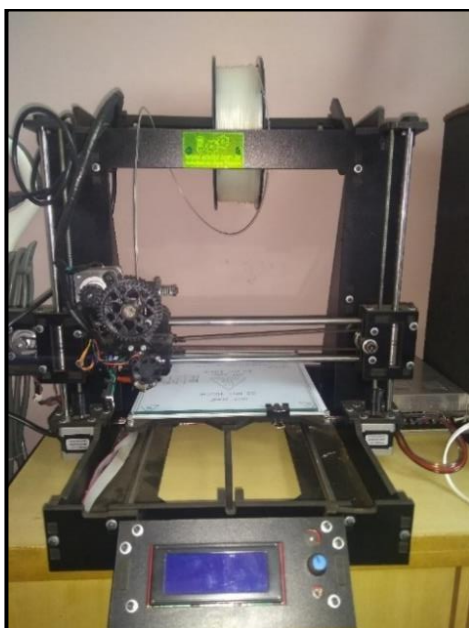


Figura 7 - Impressora Graber I3. Fonte: dados do autor.

Para a construção dos modelos 3D foi utilizado o *software Geomagic Freeform* na sua versão de avaliação. Este *software* permite a construção de diversos modelos 3D, de forma livre, utilizando formatos de arquivos comuns, com o *STL*, *IGES* e *STEP*, sendo o arquivo *STL* o mais utilizado para aplicações na manufatura aditiva. A Figura 8 apresenta a interface do *software Geomagic Freeform*, que é muito simples e de fácil compreensão, o que facilita a realização dos projetos necessários.

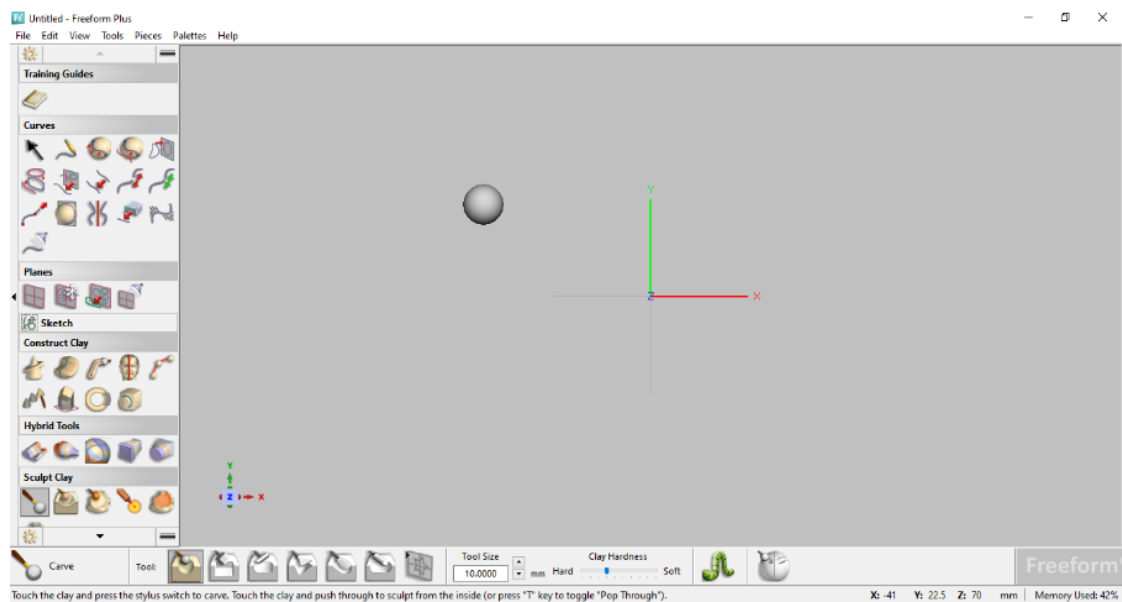


Figura 8 - Software Geomagic Freeform. Fonte: dados do autor.

4.2 Métodos

Para alcançar os objetivos propostos nesse projeto, foi elaborada uma sequência de passos para exemplificação do processo, conforme pode ser observado na Figura 9. Inicialmente foi realizada toda a modelagem, definição dos parâmetros de impressão e a própria impressão dos *scaffolds*, exemplificados pela etapa “1 PROJETO E PROCESSO”. A etapa em sequência refere-se a todo o processo de recobrimento dos *scaffolds* e esta exemplificada na etapa “2 RECOBRIMENTO”. Por fim, foram realizadas as caracterizações dos *scaffolds*, que forneceram dados para análise do processo utilizado, esta etapa é exemplificada por “3 CARACTERIZAÇÃO”.

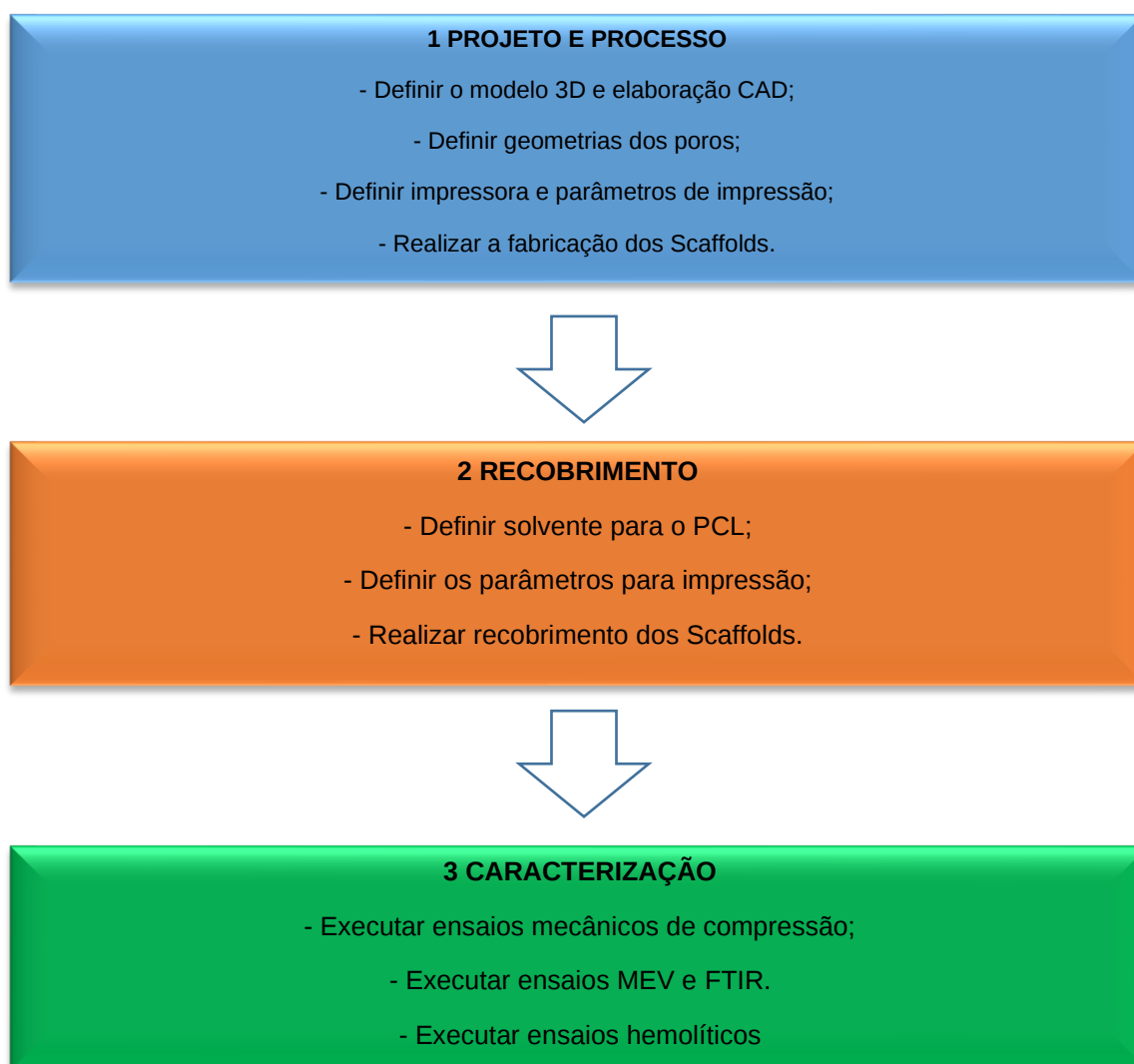


Figura 9 - Etapas para alcançar os objetivos. Fonte: dados do autor.

4.2.1 Projeto e Processo

O software *Geomagic Freeform* possui uma ferramenta chamada *StructureFX*, que permite a criação de modelos 3D a partir da repetição de estruturas básicas completas. A Figura 10 aponta a tela onde são definidos os parâmetros do modelo, em que são selecionadas a célula (*Cell Construction*) e as dimensões da estrutura a ser repetida (*Cell Size*).

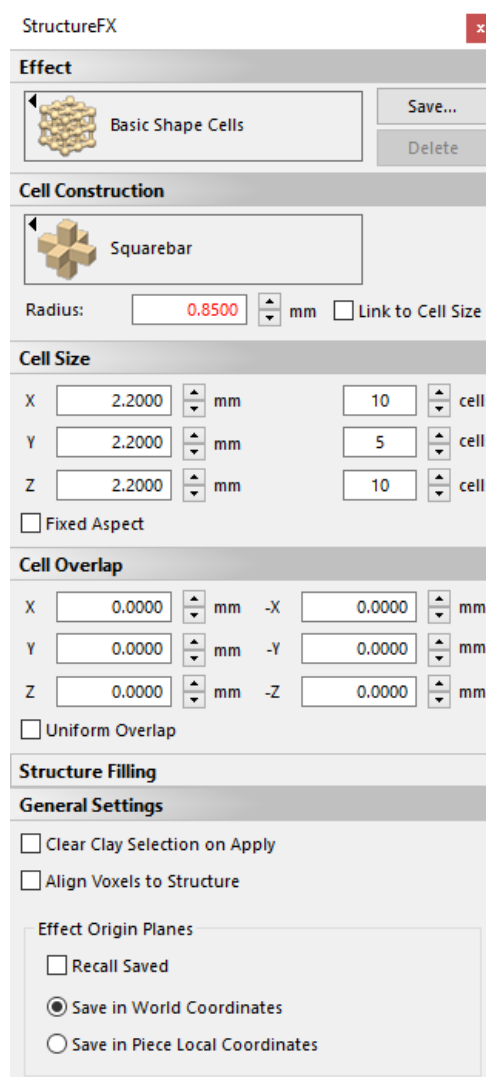


Figura 10 - Ferramenta StructureFX. Fonte: dados do autor.

A variação de cada parâmetro citado tem influência direta na forma e porosidade dos *scaffolds*, ou seja, quanto maior o raio da célula selecionada, menores são os espaços internos para o crescimento celular, sendo assim, a porosidade é menor neste caso.

Foram selecionadas 6 geometrias, ou células, para a construção dos *scaffolds*, de modo que fosse possível avaliar qual deles apresentaria melhores resultados na impressão e no recobrimento com PCL. A geometria das células estão presentes no *software Geomagic Freeform*, cada uma tem características particulares e resultam em diferentes estruturas. São elas: *Crossbar*, *Roundar*, *Roundbar Truss*, *Roundbar+Cube*, *Roundbar+Sphere* e *Squarebar*. A Figura 11, aponta a geometria de cada célula citada.



Figura 11 - Tipos de células StrucutreFX. Fonte: dados do autor.

A dimensão selecionada para a construção do modelo 3D foi de 10x30mm (diâmetro x altura). Optou-se por esta dimensão para continuidade das análises, por ser uma dimensão suficiente para análises a olho nu, e traz vantagens durante a fabricação como redução no tempo de impressão. A Figura 12, apresenta os modelos 3D construídos.

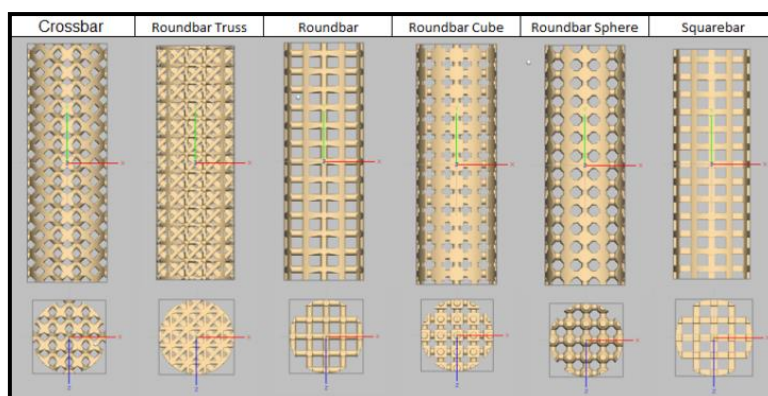


Figura 12 - Modelos 3D dos scaffolds. Fonte: dados do autor.

Previamente à fabricação dos modelos finais foram realizados testes com o material ABS, que é muito utilizado para a impressão 3D assim como o PLA. Os parâmetros de impressão foram variados e avaliados para que fossem alcançados os melhores resultados de impressão. São eles:

- Altura da camada;

- Altura da primeira camada;
- Porcentagem de preenchimento;
- Temperatura do bico extrusor;
- Temperatura da mesa de impressão;
- Velocidade de impressão;
- Taxa de retração do material;
- E suporte do material a ser fixado na mesa.

A Tabela 7 aponta os parâmetros ótimos para impressão encontrados, em que a altura das camadas foi de 0,16mm para que houvesse uma precisão maior e um melhor acabamento superficial. A altura da primeira camada é ligeiramente maior (0,2mm) para que ocorra a adesão correta do material à mesa. As temperaturas da mesa e do bico extrusor foram utilizadas conforme o estabelecido pelo fabricante do filamento. O preenchimento interno está relacionado ao preenchimento das paredes do modelo, no caso dos *scaffolds* as paredes são muito finas, sendo assim, este parâmetro não tem influência direta.

Parâmetro	ABS	PLA
Altura da Camada (mm)	0,16	0,16
Altura da Primeira Camada (mm)	0,2	0,2
Temperatura do Bico (°C)	230	210
Temperatura da Mesa (°C)	100	60
Preenchimento Interno (%)	100	100

Tabela 7 – Parâmetros de impressão. Fonte: dados do autor.

Todos os parâmetros são selecionados e editados no *software* de controle da impressora, no caso o *software RepetierHost*, juntamente com o “fatiador” dos arquivos, o *software Slic3r*. A Figura 13 apresenta da interface do *software Slic3r®*.

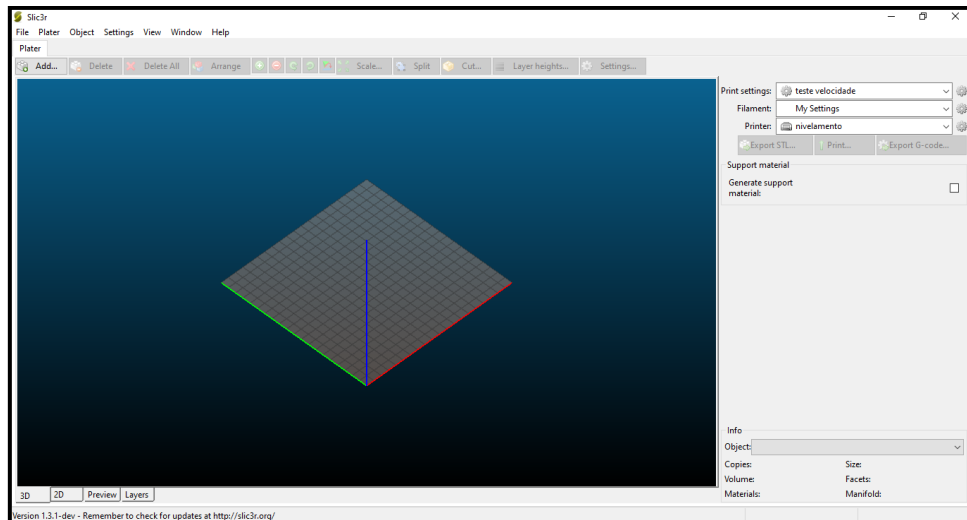


Figura 13 - Interface Slic3r. Fonte: dados do autor.

Dentre os parâmetros testados, destacam-se as velocidades de impressão, conforme pode ser observado na Figura 14. Tais velocidades foram reduzidas em cerca de 30% do padrão estabelecido pelo *software*, com o objetivo de aumentar a precisão do processo.

Speed for print moves		
Perimeters:	15	mm/s
↳ small:	15	mm/s or %
↳ external:	30%	mm/s or %
Infill:	25	mm/s
↳ solid:	20	mm/s or %
↳ top solid:	10	mm/s or %
↳ gaps:	10	mm/s or %
Bridges:	20	mm/s
Support material:	20	mm/s
↳ interface:	100%	mm/s or %
Speed for non-print moves		
Travel:	35	mm/s
Modifiers		
First layer speed:	15	mm/s or %

Figura 14 - Parâmetros de velocidade Slic3r. Fonte: dados do autor.

A Figura 15 aponta alguns dos problemas encontrados durante a impressão, sendo eles: a não adesão de peça à mesa aquecida, decorrente pela definição incorreta da altura da primeira camada; a queima de material,

decorrente da seleção incorreta da temperatura de trabalho do material; e as deformações na geometria, decorrentes das altas velocidades de impressão.



Figura 15 - Impressões que não deram certo. Fonte: dados do autor.

Antes de ser realizada a impressão o modelo 3D deve ser “fatiado”, o *software Slic3r* é utilizado para realizar este “fatiamento”, sendo ele o responsável por aplicar os parâmetros estabelecidos para a impressão. A Figura 16 aponta um exemplo de arquivo fatiado pelo *software*.

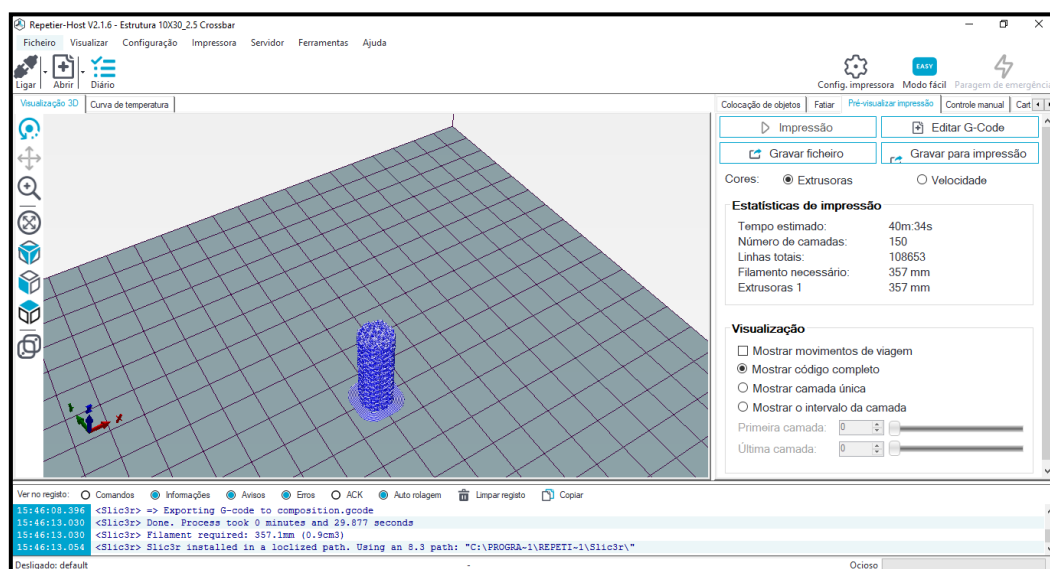


Figura 16 - Software Repetier Host Scaffold Fatiado. Fonte: dados do autor.

4.2.2 Recobrimento

Para realização dos recobrimentos foi utilizada acetona como solvente para o PCL. A acetona foi misturada com água, pois nos testes com acetona pura foram observadas deformações no *scaffold*. Foram selecionados alguns parâmetros para o recobrimento e inicialmente foram definidas as proporções, 0,5% e 1% de PCL, sendo que o mesmo foi solubilizado na mistura de água e acetona (1:1).

No recobrimento dos *scaffolds* a quantidade de camadas de PCL está relacionada à quantidade de submersões realizadas. Sendo assim, quanto mais submersões são realizadas mais PCL é depositado sobre o *scaffold*. Inicialmente foi proposta a realização de apenas duas submersões, os *scaffolds* recobertos com até duas camadas foram utilizados para análise por imagem fotográfica e nos ensaios mecânicos de compressão, para as análises mais precisas (MEV, FTIR e Hemocompatibilidade) verificou-se a necessidade de aplicação de mais uma camada, para garantir que a superfície do *scaffold* estivesse totalmente recoberta.

O tempo de submersão foi definido como 5 minutos, a temperatura média durante a cura foi de 20°C e o tempo de secagem entre os mergulhos foi de 24 horas.

Inicialmente foram preparados em dois béqueres de 25mL cada, com as soluções de PCL nas suas respectivas proporções, conforme pode ser observado na Figura 17. Para a preparação da solução água e acetona (1:1), 20mL de solução líquida foi preparada, sendo 10mL de acetona pura e 10mL de água com auxílio de pipetas e micropipetas. Para preparação do PCL, o mesmo foi pesado com uma balança de precisão, sendo 0,1g para 0,5% de proporção e 0,2g para 1% de proporção.



Figura 17 - Preparação dos scaffolds para recobrimento. Fonte: dados do autor.

Após esta preparação, o processo de recobrimento foi realizado manualmente, respeitando os parâmetros pré-definidos. A Figura 18 aponta este processo de recobrimento sendo realizado. Em síntese, cada *scaffold* foi mergulhado e mantido submerso durante 5 minutos, depois retirado e colocado para secagem durante 24 horas.



Figura 18 - Processo de recobrimento dos scaffolds. Fonte: dados do autor.

4.2.3 Imagens Fotográficas

As imagens fotográficas dos *scaffolds* foram obtidas com o aparelho celular *Samsung Galaxy S9*, que possui uma resolução de 9,1 MP (Mega Pixels) em uma imagem com proporção de 1:1, possuindo 3024 x 3024 Pixels de tamanho.

4.2.4 Ensaio Mecânico de Compressão

Para realização dos ensaios mecânicos de compressão foi utilizada uma máquina universal de ensaios modelo MBIO I – 5kN, da empresa *BioPDI*. A célula de carga utilizada é tem formato “S” com uma capacidade de carga de 500kgf, e o dispositivo de compressão utilizado possui 80mm de diâmetro. A Figura 19 aponta a máquina utilizada.



Figura 19 - MBIO I - 5kN. Fonte: dados do autor.

A velocidade do ensaio, conforme a norma, foi definida como 100mm/min, sendo um ensaio de compressão com velocidade constante. Os ensaios foram realizados em triplicata, e os resultados estão descritos com os valores médios encontrados. Foi aplicada uma pré-carga de 1N (aproximadamente 0,1 kgf) para auxiliar na fixação do corpo de prova no dispositivo de compressão. O processo de preparação do ensaio de compressão pode ser observado na Figura 20.

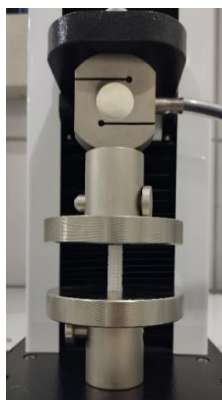


Figura 20 - Preparação para o ensaio de compressão. Fonte: dados do autor.

4.2.5 FTIR (*Fourier-transform Infrared Spectroscopy*)

A análise de FTIR (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*) possibilita verificar as interações / vibrações dos átomos quando recebem um feixe de radiação infravermelha. O equipamento utilizado foi o *Bruker Tensor 27*, a Figura 21 aponta o corpo de prova fixado no dispositivo que emite o feixe de radiação, esse por sua vez é lido e interpretado pelo equipamento que aponta os resultados obtidos. O intervalo de ondas foi de $3500\text{-}500\text{ cm}^{-1}$ (número de ondas).

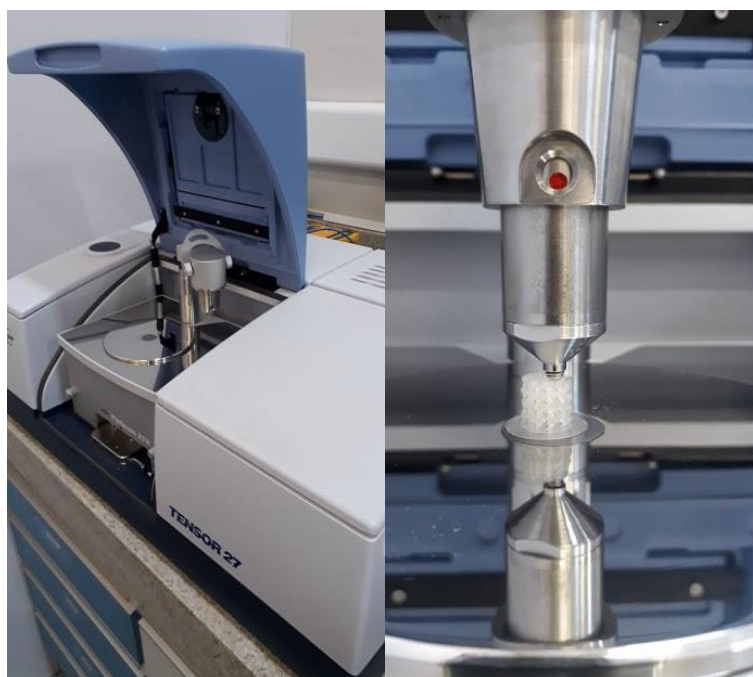


Figura 21 – Equipamento utilizado no FTIR. Fonte: dados do autor.

As amostras analisadas foram selecionadas nos ensaios de compressão, sendo elas as geometrias: *RoundBar+Cube* e *RoundBar+Sphere*. Os corpos de prova foram impressos em formato cilíndrico com 10mm de diâmetro e 10mm de altura, e o recobrimento foi levemente modificado, sendo adicionada mais uma camada aos *scaffolds*. Sendo assim, foram totalizados 15 corpos de prova.

4.2.6 MEV (Microscopia Eletrônica de Varredura)

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) possibilita a obtenção de imagens de alta ampliação, que contém informações estruturais e químicas dos materiais analisados. Nesta análise pretende-se realizar a verificação da morfologia e padrões dos poros obtidos, bem como realizar a análise qualitativa do recobrimento realizado na superfície do *scaffold*.

O equipamento utilizado foi um JEOL modelo JSM-7500F, que pode ser observado na Figura 22, equipado com detectores de elétrons secundário retro espalhados e análise química da marca *Thermo Scientific*, modelo *Ultra Dry*. As ampliações aplicadas foram de 25x (vinte e cinco vezes), 50x (cinquenta vezes) e 200x (duzentas vezes) e a análise foi realizada com um total de catorze *scaffolds*, sendo eles os com geometria *RoundBar+Cube* e *RoundBar+Sphere*, que possuem algumas variáveis alteradas como a concentração de PCL no recobrimento e a quantidade de camadas que foram aplicadas.

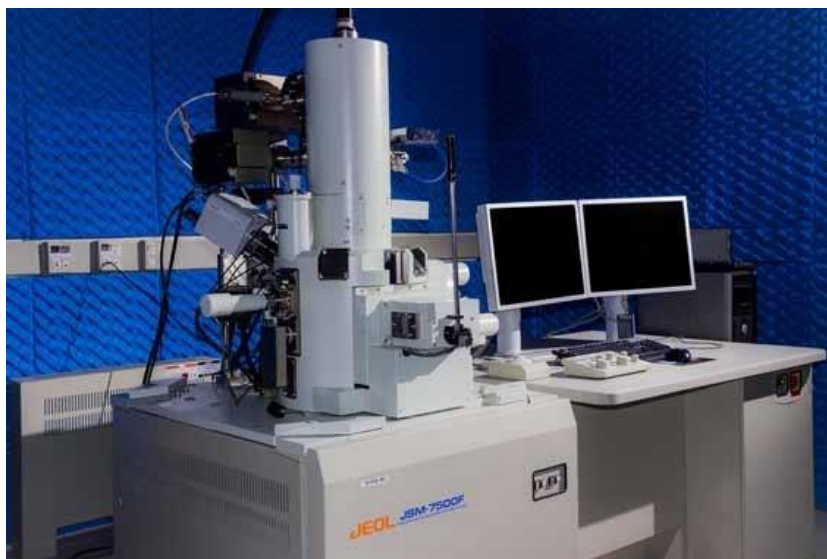


Figura 22 – MEV JEOL – modelo JSM-7500F. Fonte: IQ UNESP.

4.2.7 Ensaio de Hemocompatibilidade

O protocolo utilizado foi uma modificação de Onuma et al. (1999) e Borges et al. (2015), no qual foram utilizadas hemácias de sangue de carneiro. Neste experimento os corpos de provas (*scaffolds*) foram incubados em solução tampão fosfato (PBS) pH=7.4 por 24 horas, logo após 50µL da solução foi

incubada com 50µL de solução de eritrócito a 37°C por 1h. Os tubos com esta nova solução foram centrifugados à 3000rpm por 3 min e alíquotas de 50µL do sobrenadante foram pipetadas em microplacas de 96 poços. A absorbância à 540nm foi determinada usando leitor de microplaca (*Biotek*, Modelo: *Power wave 22*). O valor de 100% de hemólise foi determinado utilizando 50µL de tampão PBS com 100µL de Triton X-100 a 1% (v/v), enquanto que o valor de 0% de hemólise (Figura 23) foi obtido utilizando 10µL de tampão (Fischer et al., 2003).

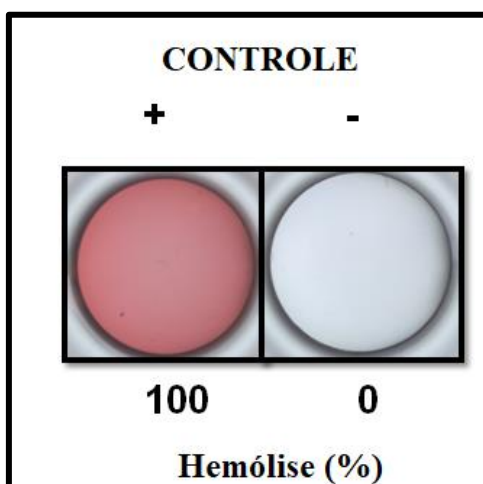


Figura 23 – Atividade hemolítica das amostras controles positivo e negativo, respectivamente. É importante notar que a cor do controle positivo é avermelhada, devido ao rompimento das hemácias. Fonte: dados do Autor.

5 RESULTADOS

5.1 Imagens Fotográficas

A impressão dos *scaffolds* de PLA apresentaram resultados satisfatórios para a continuidade das análises, exceto para a geometria *RoundBar+Thuss*, que se demonstrou muito frágil após a impressão, mesmo com a variação dos parâmetros de impressão. Com a definição dos parâmetros obteve-se uma alta qualidade de impressão, com um tempo relativamente baixo de trabalho, cerca de 30 minutos por *scaffold*. A Figura 24 aponta alguns *scaffolds* fabricados durante a pesquisa.



Figura 24 - Scaffolds impressos, prontos para o recobrimento. Fonte: dados do autor.

Quando analisados os *scaffolds* recobertos com a concentração de 0,5% e uma submersão, foram observadas algumas regiões em que não havia presença de PCL, por este motivo foi realizada uma nova submersão e foi observado o preenchimento de algumas falhas. Este padrão repete-se em todas as geometrias analisadas, como será apontado posteriormente. A concentração de 1% foi utilizada para avaliar os efeitos que esta variação poderia causar nas propriedades físicas e biológicas dos *scaffolds*.

A Figura 25 aponta os resultados obtidos para a geometria *RoundBar*, que não apresentou deformações ou erros aparentes. O *scaffold* não se tornou frágil após a impressão, seus poros são grandes, possuindo 1500 μ m, medida obtida via *software*. Quanto ao recobrimento, para todas as concentrações obtiveram-

se mudanças no aspecto do *scaffold*, que passou a ter uma coloração mais opaca com a presença de diversas regiões mais esbranquiçadas, como pode ser observado em destaque na Figura 25, que podem ser indicativos do sucesso do recobrimento com PCL.

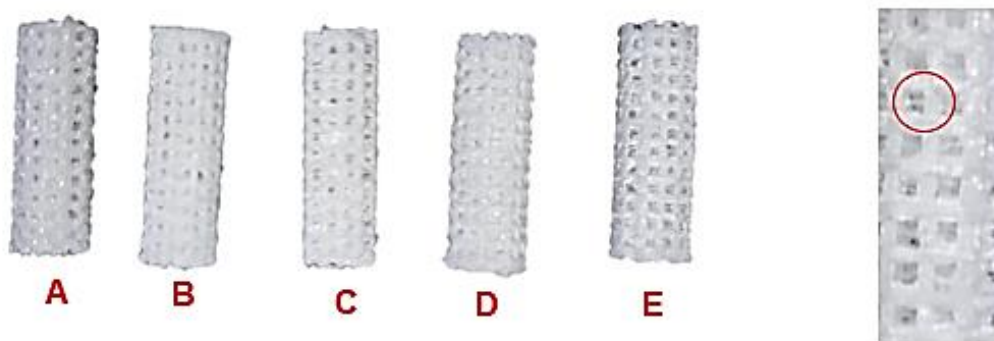


Figura 25 - Geometria RoundBar: A – Scaffold não recoberto, B – Recobrimento com 0,5% de PCL e 1 camada, C - Recobrimento com 0,5% de PCL e 2 camadas, D – Recobrimento com 1% de PCL e 1 camada, E – Recobrimento com 1% de PCL e 2 camadas, em destaque presença de PCL aderido ao scaffold. Fonte: dados do autor.

A Figura 26 aponta os resultados obtidos para a geometria *CrossBar*. Esta apresentou pequenos erros durante a impressão, como pontos deslocados na superfície e erros no preenchimento da primeira camada. Quanto às dimensões, seus poros possuem cerca de 1300µm (medida obtida via *software*), tais poros parecem estar fechados quando observados, porém, só podemos comprovar tais medidas com análises mais precisas, como o MEV (Microscopia Eletrônica de Varredura). Quanto ao recobrimento, o *scaffold* mudou de aspecto, passando de uma coloração translúcida para uma coloração opaca, mostrando grande quantidade de regiões esbranquiçadas, indicativos do material PCL, que pode ser observado em destaque na Figura 26.

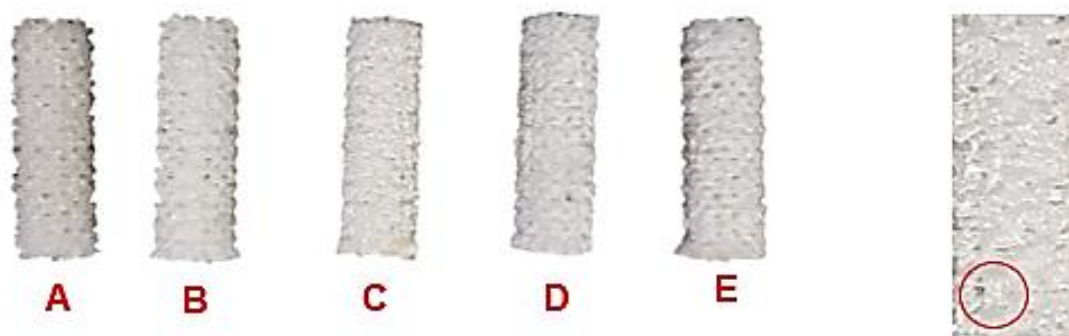


Figura 26 - Geometria CrossBar: A – Scaffold não recoberto, B – Recobrimento com 0,5% de PCL e 1 camada, C - Recobrimento com 0,5% de PCL e 2 camadas, D – Recobrimento com 1% de PCL e 1 camada, E – Recobrimento com 1% de PCL e 2 camadas, em destaque presença de PCL aderido ao scaffold. Fonte: dados do autor.

A Figura 27 aponta os resultados obtidos para a geometria RoundBar+Sphere. Esta não aparentou problemas durante e pós a impressão, não havendo deformações visíveis que possam inutilizar o modelo. Seus poros possuem cerca de 750µm, medida obtida via *software*. Quanto ao recobrimento, o scaffold apresentou mudança de aspecto, com uma coloração mais esbranquiçada indicativos da presença do material PCL, que podem ser observados em destaque na Figura 27. É importante apontar que quanto maior a concentração utilizada e mais submersões realizadas, os poros do scaffold aparentam reduzir de tamanho, que pode ser um indicativo de que a variação dos parâmetros do recobrimento, causaram o efeito desejado no modelo indicado.

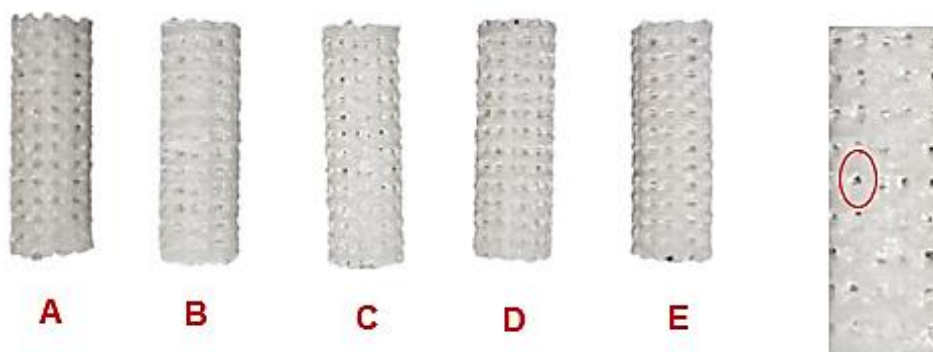


Figura 27 - Geometria RoundBar+Sphere: A – Scaffold não recoberto, B – Recobrimento com 0,5% de PCL e 1 camada, C - Recobrimento com 0,5% de PCL e 2 camadas, D – Recobrimento com 1% de PCL e 1 camada, E – Recobrimento com 1% de PCL e 2 camadas, em destaque presença de PCL aderido ao scaffold. Fonte: dados do autor.

A Figura 28 aponta os resultados obtidos para a geometria *RoundBar+Cube*. Esta não apresentou quaisquer problemas durante a impressão, resultando em um *scaffold* resistente e sem defeitos aparentes, sendo seus poros os menores, quando comparados com os outros modelos estudados, tendo 700 μ m (medido via *software*). Quanto ao recobrimento, o *scaffold* também apresentou mudanças de aspecto, tendo uma coloração mais esbranquiçada que pode ser observado em destaque na Figura 28, também podem ser observados para todas as variações nos parâmetros de recobrimento.



Figura 28 - Geometria RoundBar+Cube: A – Scaffold não recoberto, B – Recobrimento com 0,5% de PCL e 1 camada, C - Recobrimento com 0,5% de PCL e 2 camadas, D – Recobrimento com 1% de PCL e 1 camada, E – Recobrimento com 1% de PCL e 2 camadas, em destaque presença de PCL aderido ao scaffold. Fonte: dados do autor.

A Figura 29 aponta os resultados obtidos para a geometria *SquareBar*. Esta apresentou pequenos defeitos durante a impressão, principalmente relacionados a superfície, com pequenos deslocamentos de pontos, sendo seus poros os maiores dentre os modelos estudados, com cerca de $1750\mu\text{m}$, medida obtida via *software*. Quanto ao recobrimento os *scaffolds* mudaram sua coloração, para uma mais esbranquiçada, por conta da grande dimensão dos seus poros. É possível observar pontos de PCL no interior do material, como pode ser observado no destaque da Figura 29.

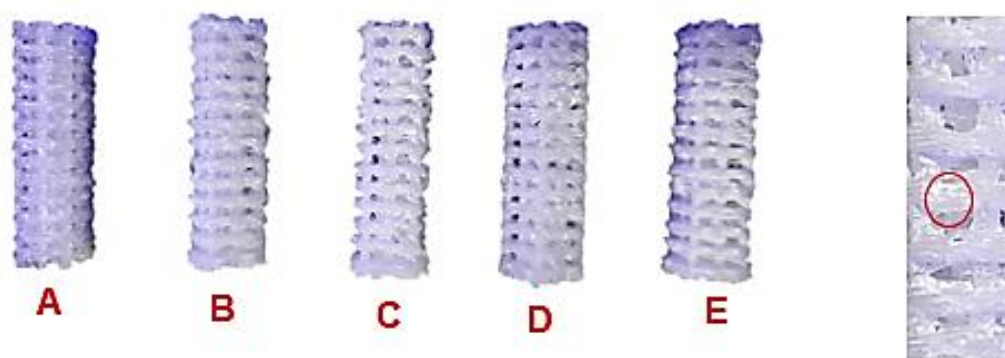


Figura 29 - Geometria SquareBar: A – Scaffold não recoberto, B – Recobrimento com 0,5% de PCL e 1 camada, C - Recobrimento com 0,5% de PCL e 2 camadas, D – Recobrimento com 1% de PCL e 1 camada, E – Recobrimento com 1% de PCL e 2 camadas, em destaque presença de PCL aderido ao scaffold. Fonte: dados do autor.

5.2 Ensaio Mecânico de Compressão

Os resultados dos ensaios mecânicos de compressão são apresentados de forma gráfica em uma curva de Tensão (MPa) por Deformação (%). Os dados foram inseridos desde o início da compressão do corpo de prova até seu rompimento, contendo assim a região elástica e plástica dos *scaffolds* avaliados. Os *scaffolds* foram avaliados com o modelo sem recobrimento, com recobrimento na solução 0,5% PCL com uma e duas submersões e com recobrimento na solução 1% PCL com uma e duas submersões.

A Figura 30 aponta as curvas obtidas para os corpos de prova com geometria *RoundBar*. No geral o alongamento de fratura variou entre 8% e 9%, a tensão limite de resistência à compressão variou entre 3,9 MPa e 4,2 MPa e o

módulo de elasticidade foi de aproximadamente 1,2 MPa, com pequenas variações entre as curvas obtidas. Os regimes elásticos foram observados durante, aproximadamente, 2% de deformação, após atingir essa deformação, o corpo de prova deformou-se plasticamente até o rompimento.

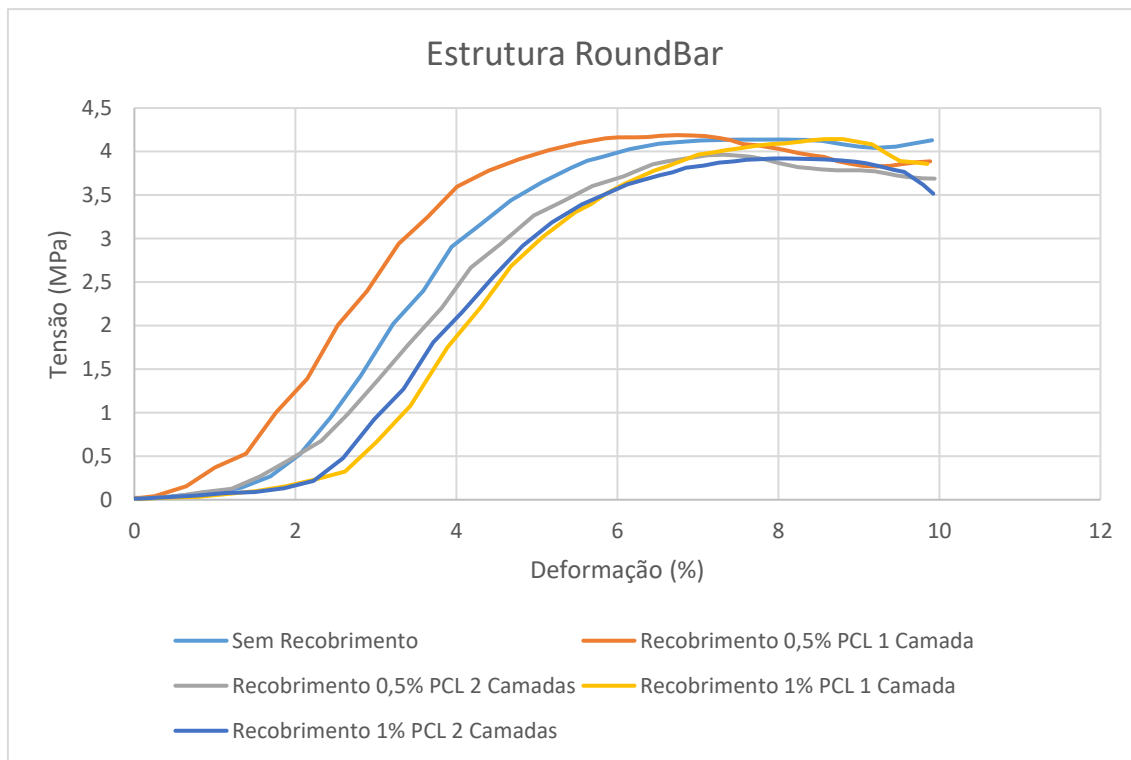


Figura 30 - Curva tensão x deformação geometria RoundBar. Fonte: dados do autor.

A Figura 31 aponta as curvas obtidas para os corpos de prova com geometria *CrossBar*. O alongamento de fratura observado foi de aproximadamente 25% para todos os corpos de prova, a tensão limite de resistência à compressão variou entre 6,2 MPa e 7,3 MPa e o módulo de elasticidade foi de aproximadamente 1,15 MPa. Os regimes elásticos podem ser observados até aproximadamente, 5% de deformação, onde pode ser observada a região de estricção, a partir deste ponto a deformação ocorreu de forma plástica até o rompimento dos corpos de prova.

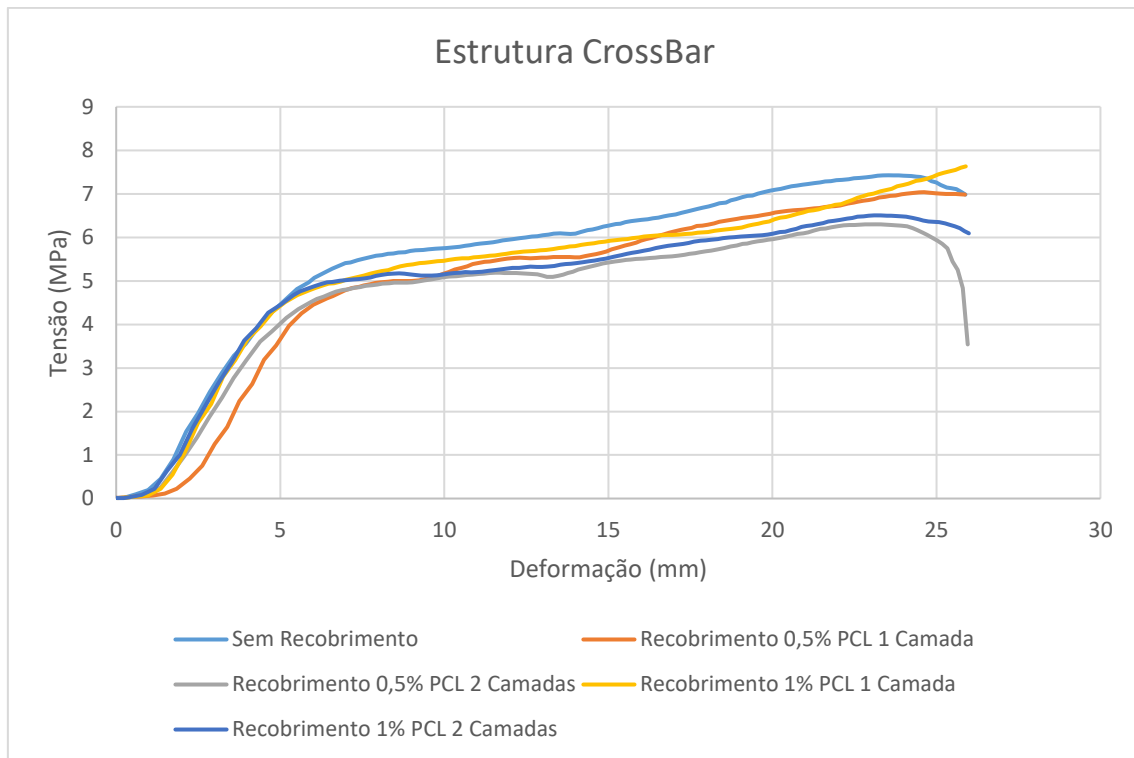


Figura 31 - Curva tensão x deformação geometria CrossBar. Fonte: dados do autor.

A Figura 32 aponta as curvas obtidas para os corpos de prova com geometria *RoundBar+Sphere*. A tensão limite de resistência à compressão variou aproximadamente, de 10 MPa a 11 MPa, apresentando um alongamento de fratura entre 17% e 19%, com um módulo de elasticidade de 2,7 MPa. Os regimes elásticos podem ser observados entre 1% e 4% de deformação, após esse ponto, ocorre apenas deformação plástica nos corpos de prova, até seu rompimento.

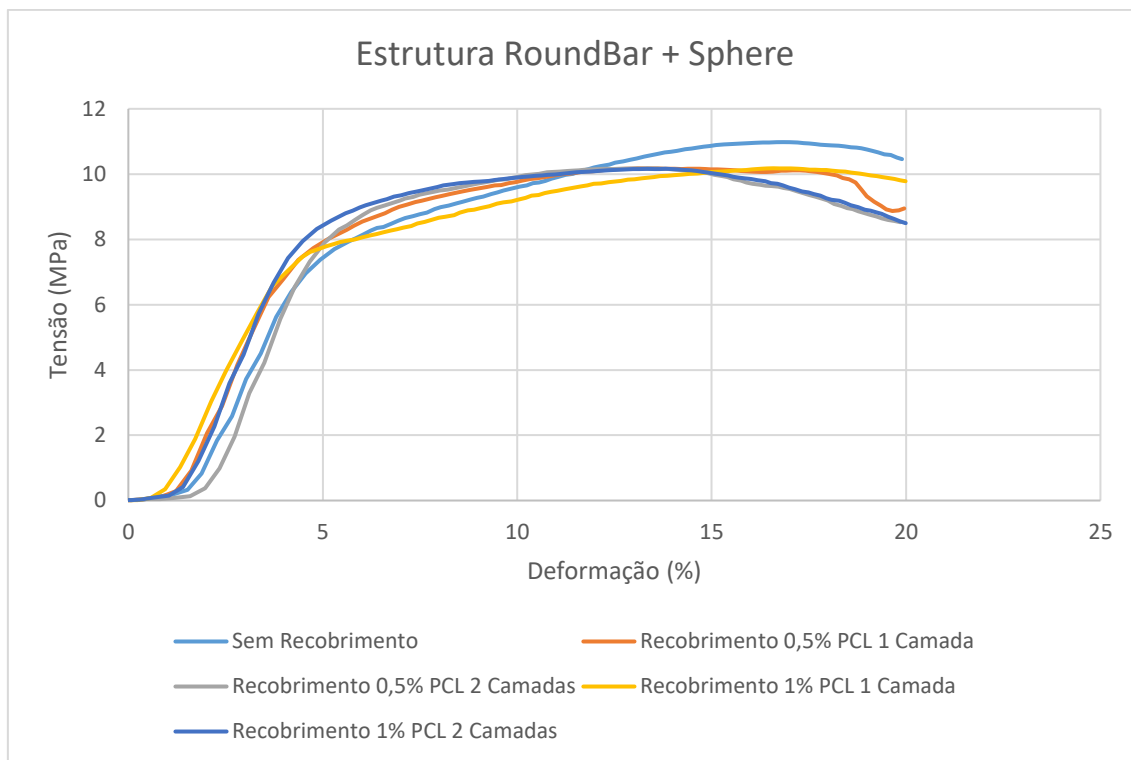


Figura 32 - Curva tensão x deformação geometria RoundBar+Sphere. Fonte: dados do autor.

A Figura 33 aponta as curvas obtidas para os corpos de prova com geometria *RoundBar+Cube*. O módulo de elasticidade obtido foi de 4,15 MPa, sendo entre 27 MPa e 28,5 MPa, as tensões limites de resistência à compressão dos corpos de prova, apresentando 18% de alongamento de fratura. O regime elástico dos corpos de prova apresenta-se entre 1% e 6% de deformação, sendo que toda a deformação ocorrida após esse ponto está no regime plástico.

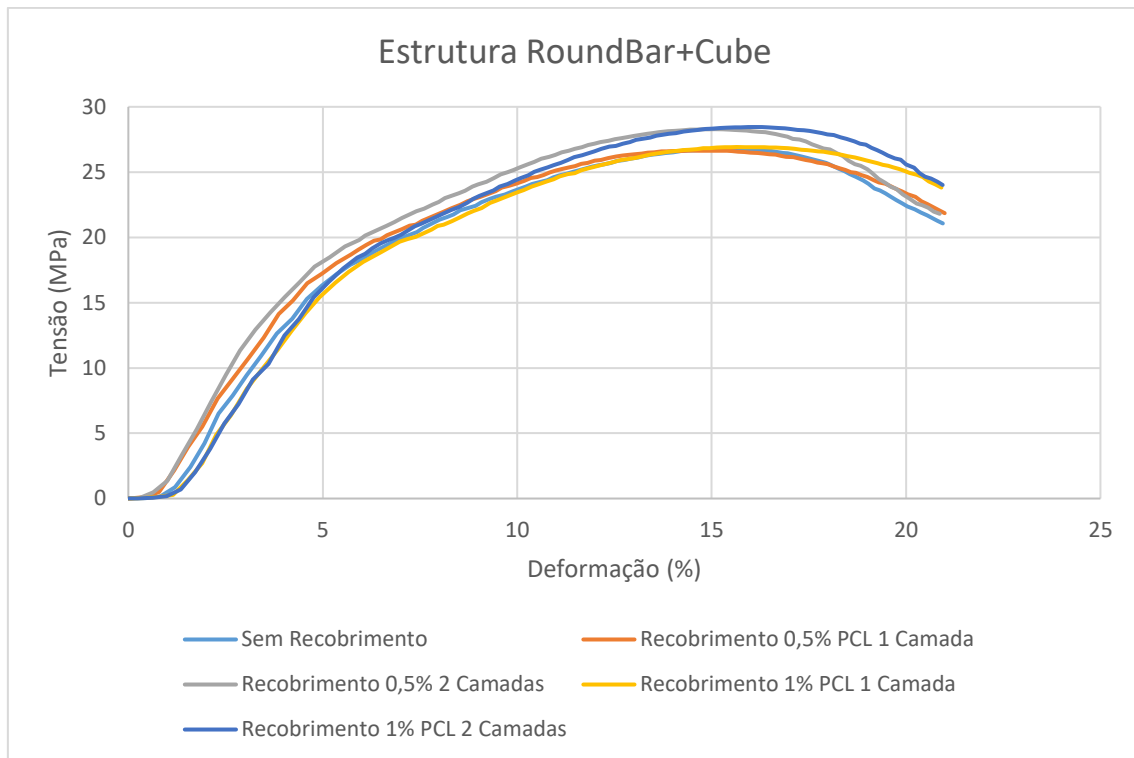


Figura 33 - Curva tensão x deformação geometria RoundBar+Cube. Fonte: dados do autor.

A Figura 34 aponta as curvas obtidas para os corpos de prova com geometria *SquareBar*. O alongamento de fratura obtido foi de aproximadamente 8,5%, a tensão limite de resistência à compressão está entre 3,5 MPa a 4,5 MPa para os variados corpos de prova, e o módulo de elasticidade foi de aproximadamente 1,15 MPa. O regime elástico apresenta-se entre 2% e 4%, sendo plásticas quaisquer deformações ocorridas após esse ponto, até o rompimento do corpo de prova.

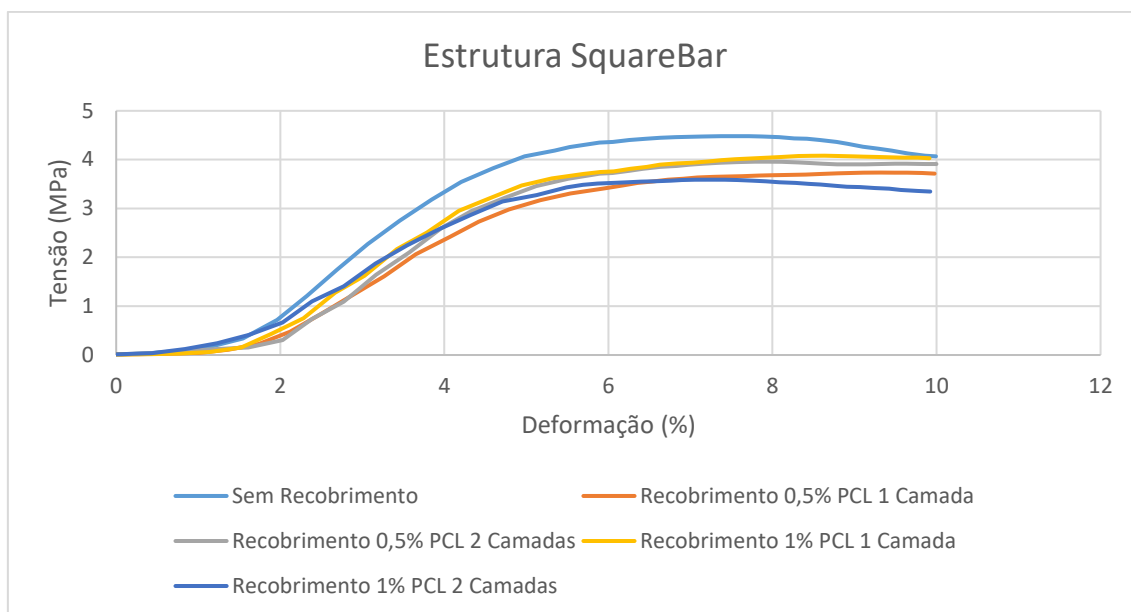


Figura 34 - Curva tensão x deformação geometria SquareBar. Fonte: dados do autor.

A Tabela 8 aponta uma síntese das propriedades mecânicas obtidas durante os ensaios de compressão.

	<i>RoundBar</i>	<i>Crossbar</i>	<i>RoundBar Sphere</i>	<i>RoundBar Cube</i>	<i>SquareBar</i>
Tensão Limite de Resistência à Compressão (MPa)	3,9 – 4,2	6,2 – 7,3	10 – 11	27 – 28,5	3,5 – 4,5
Alongamento de Fratura (%)	8 – 9	25	17 – 19	18	8,5
Módulo de Elasticidade (MPa)	1,2	1,15	2,7	4,15	1,15

Tabela 8 – Propriedades mecânicas obtidas durante os ensaios de compressão. Fonte: dados do autor.

5.3 Resultados FTIR

Os resultados serão apresentados de forma gráfica, com os espectros em forma de cascata para cada geometria e concentração.

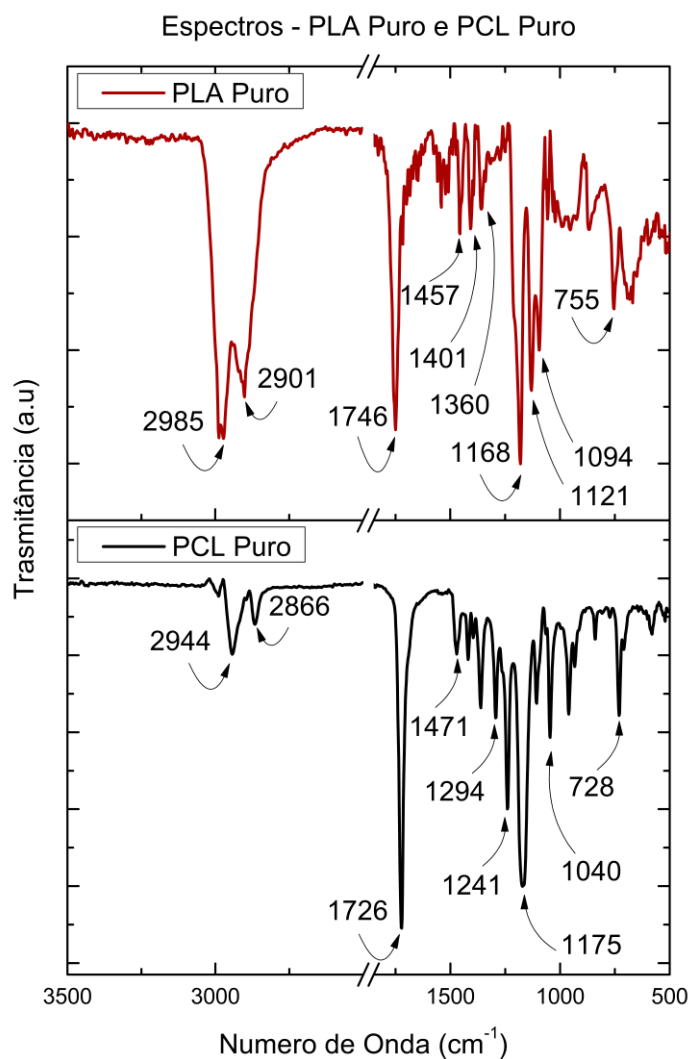


Figura 35 – Espectros PLA Puro PCL Puro. Fonte: dados do autor.

A Figura 35 aponta os resultados obtidos para o PLA e PCL puros, em que as principais bandas serão destacadas e apresentadas em forma de tabela. A Tabela 9 aponta as principais bandas apresentadas pelo PLA e PCL Puros.

PLA Puro	PCL Puro
2985 e 2901 cm^{-1} – Vibrações de estiramento assimétrico e simétrico - CH (Grupo CH_3).	2944 e 2866 cm^{-1} – Vibrações de estiramento assimétrico e simétrico - CH (Grupo CH_2).
1746 cm^{-1} – Vibração de estiramento do carbonilo C=O (Grupo -CO-O-).	1726 cm^{-1} – Vibração de estiramento do carbonilo C=O (Grupo -CO-O-).
1457, 1401 e 1360 cm^{-1} – Vibração de dobramento -CH (Grupo CH_3).	1471 cm^{-1} – Vibração de dobramento simétrico -CH (Grupo CH_2).
1168, 1121 e 1094 cm^{-1} – Vibração de estiramento C-O.	1294 cm^{-1} – Vibração de estiramento C-O e C-C.
755 cm^{-1} – Vibração da fase amorfa.	1241 cm^{-1} – Vibração de estiramento assimétrico C-O-C.
-	1175 e 1040 cm^{-1} – Vibração de estiramento simétrico C-O-C.
-	728 cm^{-1} – Vibração da fase amorfa.

Tabela 9 – Principais bandas do PLA e PCL Puros. Fonte: dados do autor.

A seguir serão apresentados os resultados para os *scaffolds* recobertos, classificados pela geometria que possuem e pela concentração de PCL utilizado na solução de recobrimento. É importante destacar que apenas as principais bandas serão destacadas nas tabelas e abertas para discussão.

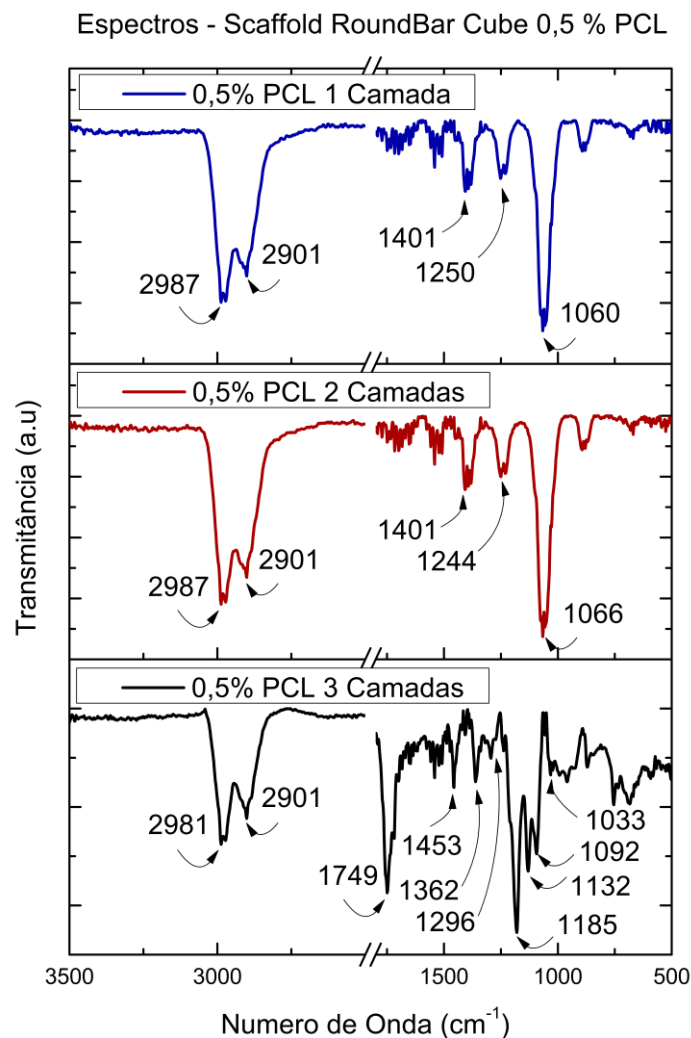


Figura 36 – Espectros Scaffold Geometria RoundBar Cube 0,5% PCL. Fonte: dados do autor.

A Figura 36 aponta os resultados obtidos para os *scaffolds* com geometria *RoundBar Cube*, sendo recobertos com PCL na concentração 0,5%, com uma, duas e três camadas do material. Na Tabela 10 são destacadas algumas das principais bandas encontradas, esses resultados serão abertos para discussão posteriormente.

1 Camada	2 Camadas	3 Camadas
2987 e 2901 cm^{-1} – Vibrações de estiramento assimétrico e simétrico -CH (Grupo CH_2).	2987 e 2901 cm^{-1} – Vibrações de estiramento assimétrico e simétrico -CH (Grupo CH_2).	2981 e 2901 cm^{-1} – Vibrações de estiramento assimétrico e simétrico -CH (Grupo CH_2).
1250 cm^{-1} – Vibração de estiramento assimétrico C-O-C.	1244 cm^{-1} – Vibração de estiramento assimétrico C-O-C.	1749 cm^{-1} – Vibração de estiramento do carbonilo C=O (Grupo -CO-O-).
-	-	1296 cm^{-1} – Vibração de estiramento C-O e C-C.
-	-	1033 cm^{-1} – Vibração de estiramento simétrico C-O-C.

Tabela 10 – Principais bandas do Scaffold RoundBar Cube 0,5% PCL. Fonte: dados do autor.

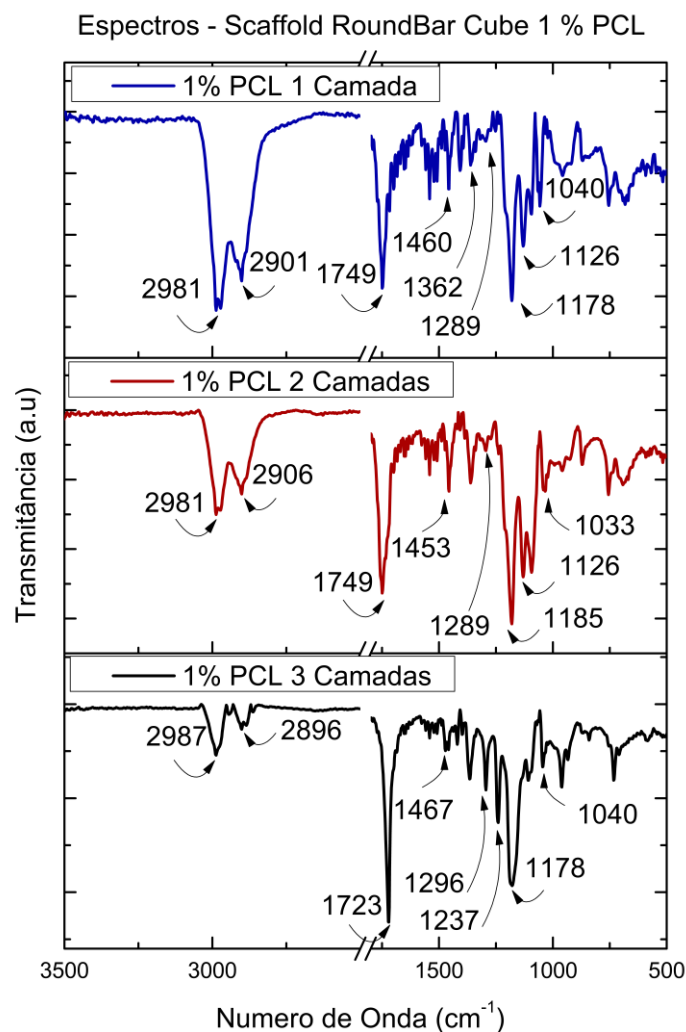


Figura 37 – Espectros Scaffold Geometria RoundBar Cube 1% PCL. Fonte: dados do autor

A Figura 37 aponta os resultados obtidos para os *scaffolds* com geometria *RoundBar Cube*, sendo recobertos com PCL na concentração 1%, com uma, duas e três camadas do material. A Tabela 11 destaca as principais bandas encontradas para os *scaffolds* citados.

1 Camada	2 Camadas	3 Camadas
2981 e 2901 cm^{-1} – Vibrações de estiramento assimétrico e simétrico -CH (Grupo CH_2).	2987 e 2906 cm^{-1} – Vibrações de estiramento assimétrico e simétrico -CH (Grupo CH_2).	2987 e 2896 cm^{-1} – Vibrações de estiramento assimétrico e simétrico -CH (Grupo CH_2).
1749 cm^{-1} – Vibração de estiramento do carbonilo C=O (Grupo -CO-O-).	1749 cm^{-1} – Vibração de estiramento do carbonilo C=O (Grupo -CO-O-).	1723 cm^{-1} – Vibração de estiramento do carbonilo C=O (Grupo -CO-O-).
1296 cm^{-1} – Vibração de estiramento C-O e C-C.	1289 cm^{-1} – Vibração de estiramento C-O e C-C.	1237 cm^{-1} – Vibração de estiramento assimétrico C-O-C.
1040 cm^{-1} – Vibração de estiramento simétrico C-O-C.	1033 cm^{-1} – Vibração de estiramento simétrico C-O-C.	1178 e 1040 cm^{-1} – Vibração de estiramento simétrico C-O-C.

Tabela 11 – Principais bandas do Scaffold RoundBar Cube 1% PCL. Fonte: dados do autor.

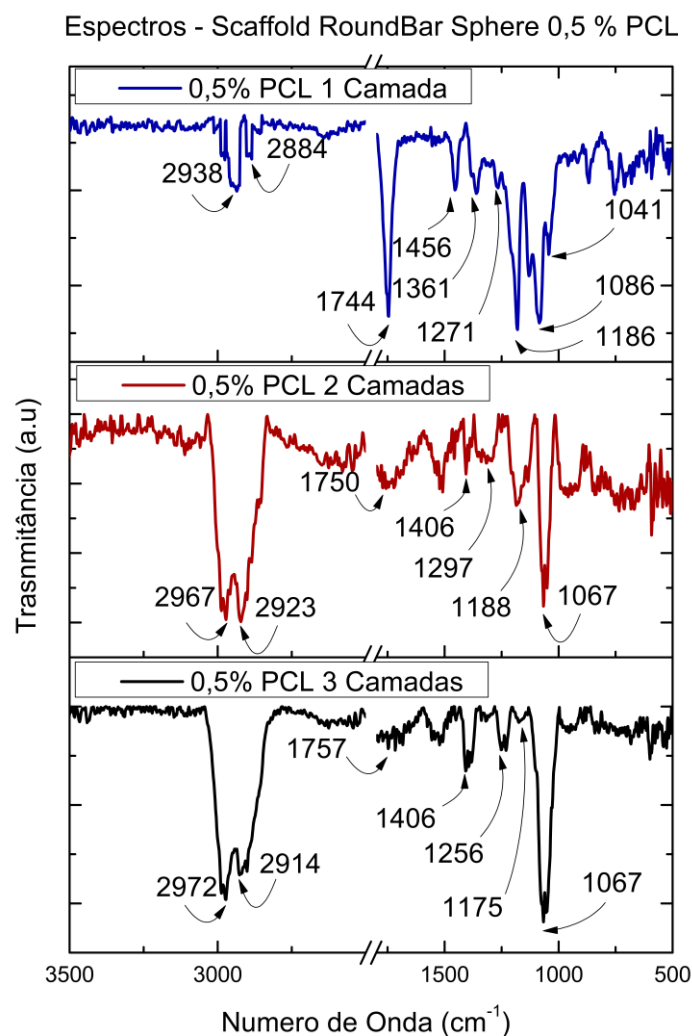


Figura 38 – Espectros Scaffold Geometria RoundBar Sphere 0,5% PCL. Fonte: dados do autor

A Figura 38 aponta os resultados obtidos para os *scaffolds* com geometria *RoundBar Sphere*, sendo recobertos com PCL na concentração 0,5%, com uma, duas e três camadas do material. Na Tabela 12 serão apresentadas a serem discutidas.

1 Camada	2 Camadas	3 Camadas
2939 e 2884 cm^{-1} – Vibrações de estiramento assimétrico e simétrico -CH (Grupo CH_2).	2967 e 2923 cm^{-1} – Vibrações de estiramento assimétrico e simétrico -CH (Grupo CH_2).	2972 e 2914 cm^{-1} – Vibrações de estiramento assimétrico e simétrico -CH (Grupo CH_2).
1744 cm^{-1} – Vibração de estiramento do carbonilo C=O (Grupo -CO-O-).	1750 cm^{-1} – Vibração de estiramento do carbonilo C=O (Grupo -CO-O-).	1757 cm^{-1} – Vibração de estiramento do carbonilo C=O (Grupo -CO-O-).
1456 cm^{-1} – Vibração de dobramento simétrico -CH (Grupo CH_2).	1297 cm^{-1} – Vibração de estiramento C-O e C-C.	1256 cm^{-1} – Vibração de estiramento assimétrico C-O-C.
1271 cm^{-1} – Vibração de estiramento C-O e C-C.	1188 e 1067 cm^{-1} – Vibração de estiramento simétrico C-O-C.	1175 e 1067 cm^{-1} – Vibração de estiramento simétrico C-O-C.
1186 e 1041 cm^{-1} – Vibração de estiramento simétrico C-O-C.	-	-

Tabela 12 – Principais bandas do Scaffold RoundBar Sphere 0,5% PCL. Fonte: dados do autor.

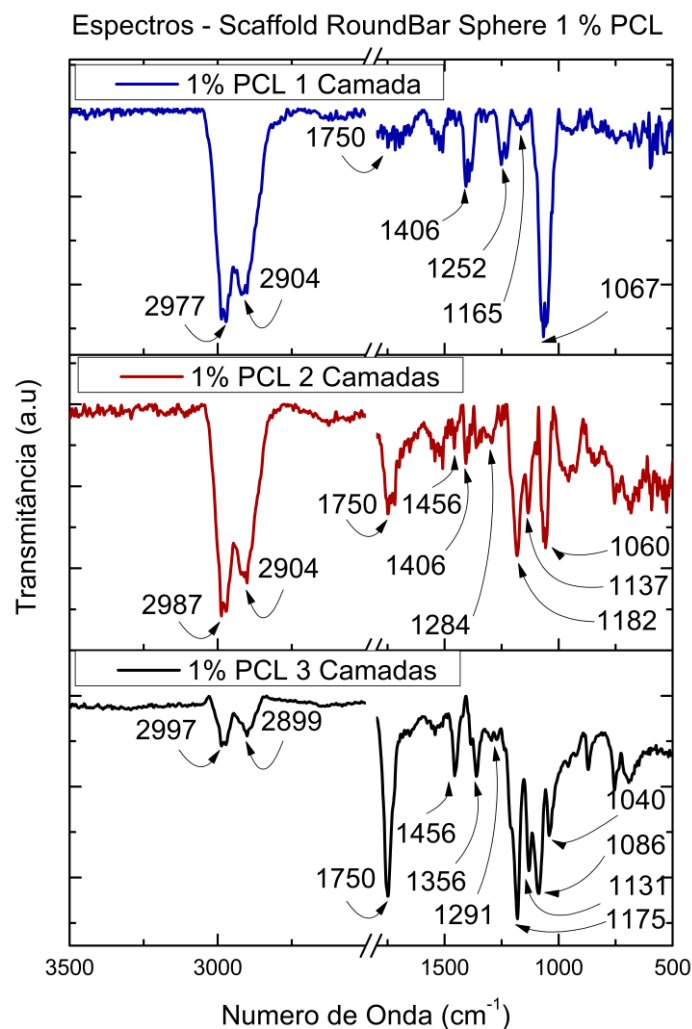


Figura 39 – Espectros Scaffold Geometria RoundBar Sphere 1% PCL. Fonte: dados do autor

A Figura 39 aponta os resultados obtidos para os *scaffolds* com geometria *RoundBar Sphere*, sendo recobertos com PCL na concentração 1%, com uma, duas e três camadas do material. A Tabela 13 destaca as principais bandas encontradas para os *scaffolds* citados.

1 Camada	2 Camadas	3 Camadas
2977 e 2904 cm^{-1} – Vibrações de estiramento assimétrico e simétrico -CH (Grupo CH_2).	2987 e 2904 cm^{-1} – Vibrações de estiramento assimétrico e simétrico -CH (Grupo CH_2).	2972 e 2904 cm^{-1} – Vibrações de estiramento assimétrico e simétrico -CH (Grupo CH_2).
1750 cm^{-1} – Vibração de estiramento do carbonilo C=O (Grupo -CO-O-).	1750 cm^{-1} – Vibração de estiramento do carbonilo C=O (Grupo -CO-O-).	1750 cm^{-1} – Vibração de estiramento do carbonilo C=O (Grupo -CO-O-).
1252 cm^{-1} – Vibração de estiramento assimétrico C-O-C.	1284 cm^{-1} – Vibração de estiramento C-O e C-C.	1291 cm^{-1} – Vibração de estiramento C-O e C-C.
1165 e 1067 cm^{-1} – Vibração de estiramento simétrico C-O-C.	1182, 1137 e 1060 cm^{-1} – Vibração de estiramento simétrico C-O-C.	1175, 1131, 1086 e 1040 cm^{-1} – Vibração de estiramento simétrico C-O-C.

Tabela 13 – Principais bandas do Scaffold RoundBar Sphere 1% PCL. Fonte: dados do autor.

Todos os resultados apresentados em forma de tabela serão abertos e aprofundados na discussão, pois tratam-se das bandas que mais distinguem o espectro do PLA do espectro do PCL. Ou seja, quanto mais camadas de PCL forem aplicadas sobre o *scaffolds*, mais bandas características deste material serão observadas e, por consequência, menos bandas do PLA serão encontradas.

5.4 Resultados MEV

Os resultados serão apresentados para cada *scaffold* analisado, em que serão destacados a espessura das camadas, os defeitos de fabricação, o tamanho dos poros obtidos e a qualidade do recobrimento realizado.

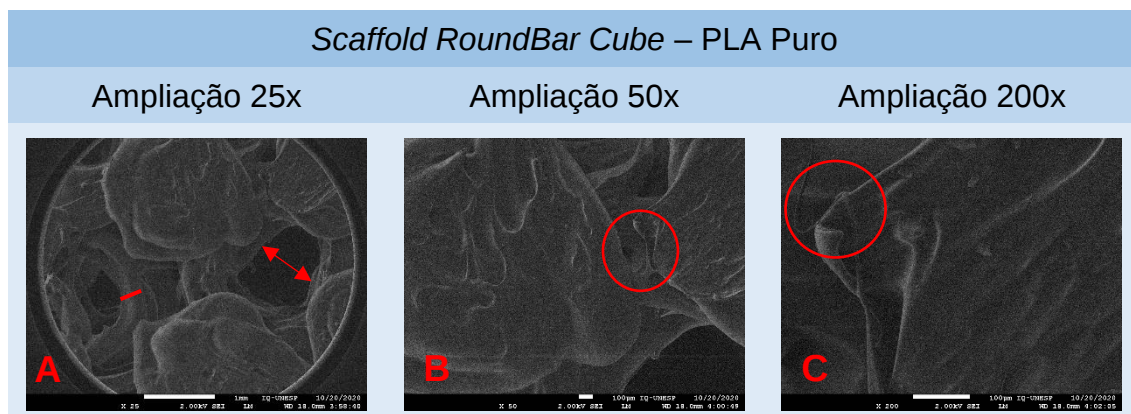


Figura 40 – Imagens MEV Scaffold RoundBar Cube – PLA Puro. Fonte: dados do autor.

Na Figura 40 são apresentados os resultados obtidos para o *scaffold RoundBar Cube* de PLA Puro, com a ampliação de 25x (A) foi possível medir a espessura da camada do *scaffold* que tem 298µm, sendo o poro medido de 1137µm. Com a ampliação de 50x (B) é possível observar a adesão entre as camadas do *scaffold* em destaque na imagem, que também possui pequenos defeitos de impressão, relacionados a temperatura, que causam as pequenas ondulações observadas. No destaque em C, com ampliação de 200x, existe um pequeno filamento solto ocasionado por um defeito relacionado a retração do material durante a impressão.

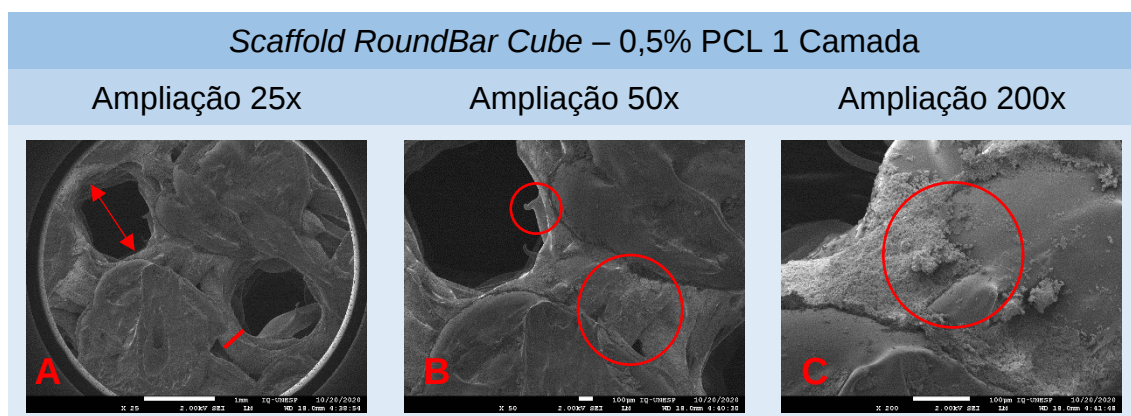


Figura 41 – Imagens MEV Scaffold RoundBar Cube – 0,5% PCL 1 Camada.

Fonte: dados do autor.

Na Figura 41 são apresentados os resultados obtidos para o *scaffold RoundBar Cube*, com recobrimento de 0,5% de PCL e uma camada. No destaque A, com ampliação de 25x, a dimensão do poro observado é de 1015µm a espessura medida da camada está em torno de 322µm. Com ampliação de

50x, destaque em B, pode ser observada a adesão correta entre as camadas e um pequeno defeito decorrente da retração do material, e não aparecem microfuros no superior do *scaffold*, o que está associado a utilização correta da temperatura durante a impressão. Na ampliação de 200x, destacado em C, observa-se uma camada porosa, relacionada ao PCL de recobrimento, que não cobre toda a superfície do *scaffold*, deixando algumas regiões apenas com PLA a mostra.

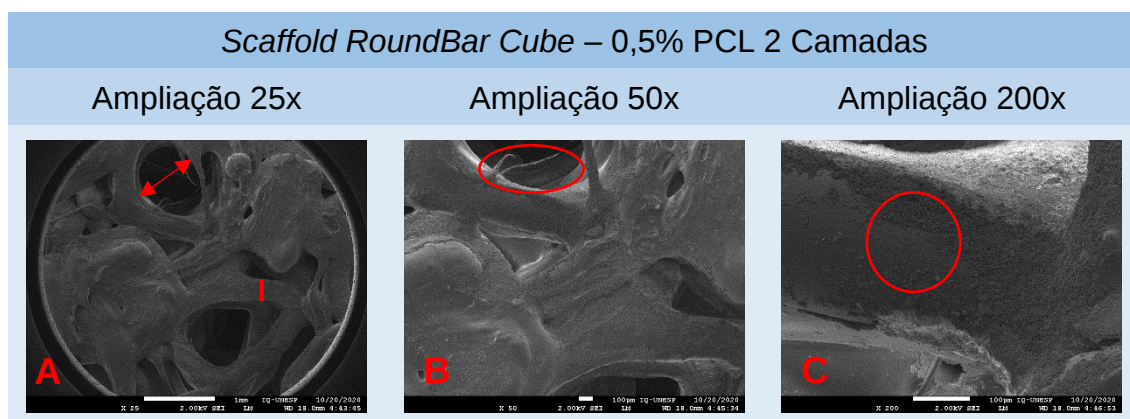


Figura 42 – Imagens MEV Scaffold RoundBar Cube – 0,5% PCL 2 Camadas.

Fonte: dados do autor.

Na Figura 42 são apresentados os resultados obtidos para o *scaffold RoundBar Cube*, com recobrimento de 0,5% de PCL e duas camadas. No destaque em A, ampliação de 25x, o tamanho do poro medido foi de 880µm e a espessura da camada foi de 286µm. Na imagem ampliada 50x, destaque em B, é possível observar a adesão correta entre as camadas do *scaffold*, porém as pequenas deformações relacionadas a retração do material também estão presentes. Na imagem destacada em C, ampliação de 200x, observa-se a presença do PCL, material de recobrimento, que quando comparado ao *scaffold* recoberto com uma camada, cobriu grande parte da superfície de PLA.

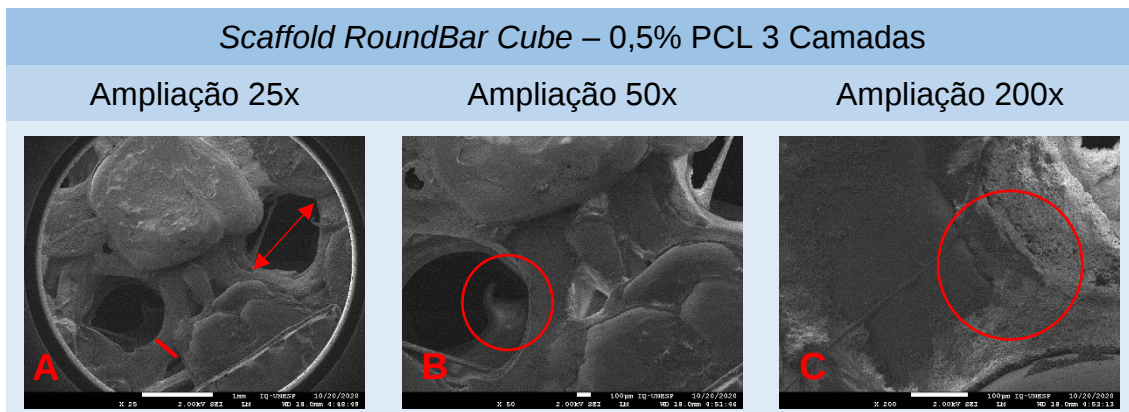


Figura 43 – Imagens MEV Scaffold RoundBar Cube – 0,5% PCL 3 Camadas.

Fonte: dados do autor.

Na Figura 43 são apresentados os resultados obtidos para o *scaffold RoundBar Cube*, com recobrimento de 0,5% de PCL e três camadas. No destaque em A, ampliação 25x, pode-se medir a espessura do filamento de 318µm e o tamanho do poro 1138µm. Na ampliação de 50x, destaque em B, pode ser observada a deformação por conta da retração do material. E por fim, no destaque em C, ampliação de 200x, o PCL do recobrimento está presente em quase toda a superfície do *scaffold*.

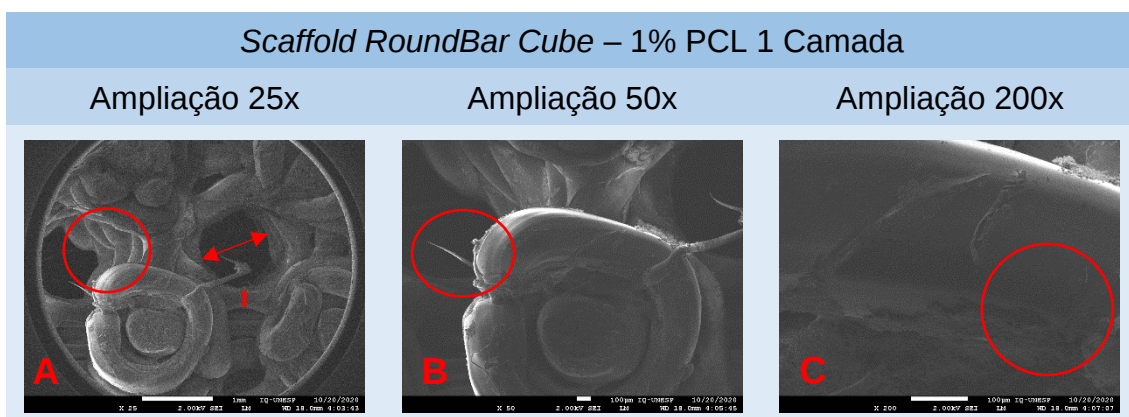


Figura 44 – Imagens MEV Scaffold RoundBar Cube – 1% PCL 1 Camada.

Fonte: dados do autor.

Na Figura 44 são apresentados os resultados obtidos para o *scaffold RoundBar Cube*, com recobrimento de 1% de PCL e uma camada. No destaque em A, ampliação de 25x, foi possível realizar a medição da espessura da camada, 292µm, e o tamanho do poro, 1091µm, além de ser possível observar a união entre as camadas durante a impressão do *scaffold*. Na imagem com ampliação de 50x, destaque em B, existem pequenas deformações, decorrentes

da retração do material durante a impressão, porém não existem micro furos na superfície dos *scaffold*, nem outros defeitos que podem ser oriundos do processo de impressão. Com a ampliação de 200x é possível observar de perto o material de recobrimento, que não ocupa toda a superfície como esperado.

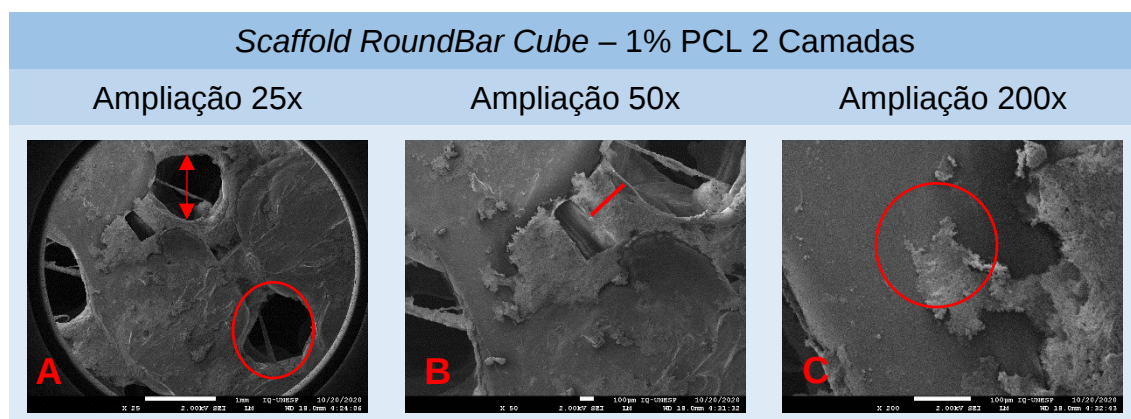


Figura 45 – Imagens MEV Scaffold RoundBar Cube – 1% PCL 2 Camadas.

Fonte: dados do autor.

Na Figura 45 são apresentados os resultados obtidos para o *scaffold* RoundBar Cube, com recobrimento de 1% de PCL e duas camadas. Foi possível realizar a medição dos poros do *scaffold*, destacado em A com ampliação de 25x, sendo 910µm, na mesma imagem é possível observar a formação das chamadas “pontes”, que surgem durante a impressão e são causadas pela retração insuficiente do material. No destaque em B, ampliação de 50x, foi possível realizar a medição da espessura da camada impressa, sendo de 305µm. E, por fim, o material de recobrimento, destacado em C, apresenta um aspecto poroso e não recobre boa parte da superfície do *scaffold*.

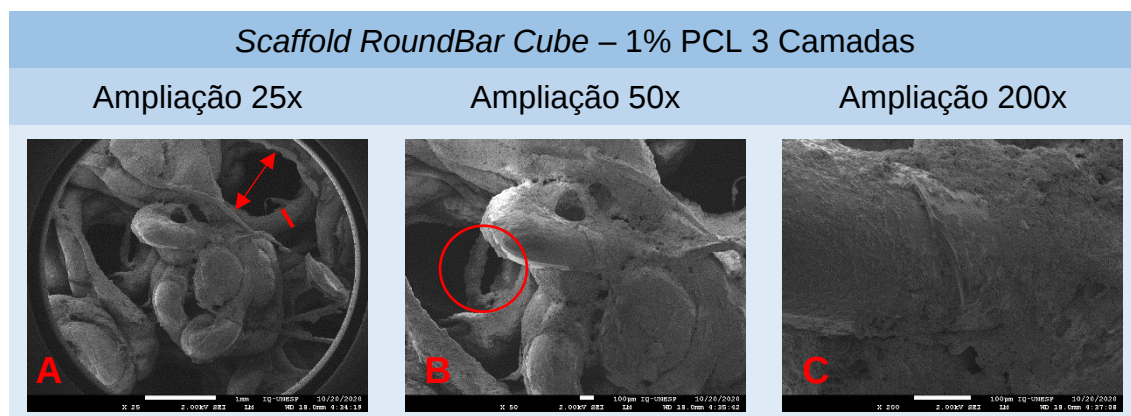


Figura 46 – Imagens MEV Scaffold RoundBar Cube – 1% PCL 3 Camadas.

Fonte: dados do autor.

Na Figura 46 são apresentados os resultados obtidos para o *scaffold RoundBar Cube*, com recobrimento de 1% de PCL e três camadas. O poro medido tem 926 μ m de dimensão e a espessura da camada tem 301 μ m. Ambas as medidas foram obtidas a partir da imagem com ampliação de 25x, destacado em A. A formação de “pontes” também ocorreu neste *scaffold*, como pode ser observado em B. E o PCL, destacado em C, possui aspecto poroso e está sobre toda a superfície do *scaffold*, como era esperado ao fim do processo de imersão.

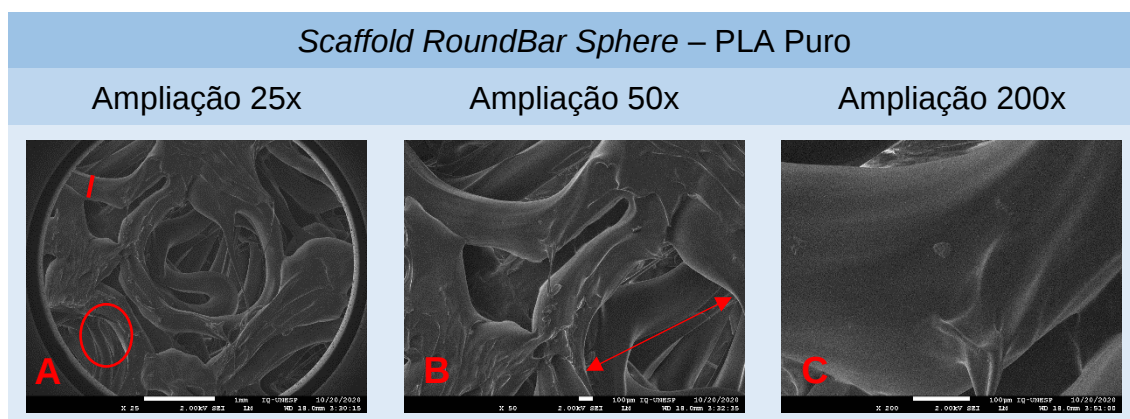


Figura 47 – Imagens MEV Scaffold RoundBar Sphere – PLA Puro. Fonte: dados do autor.

Na Figura 47 são apresentados os resultados obtidos para o *scaffold RoundBar Sphere*, de PLA Puro. Foi possível realizar a medição da espessura da camada que possui 336 μ m, e que está em destaque na imagem A, onde também pode ser observada a adesão correta entre as camadas do *scaffold*. Destacado em B, com ampliação de 50x, foi realizada a medição de um dos poros que possui 1160 μ m. A ampliação de 200x permite que a superfície seja observada de perto, sendo que nesta é uniforme e não apresenta micro furos ou grandes ondulações, características de um bom processo de impressão.

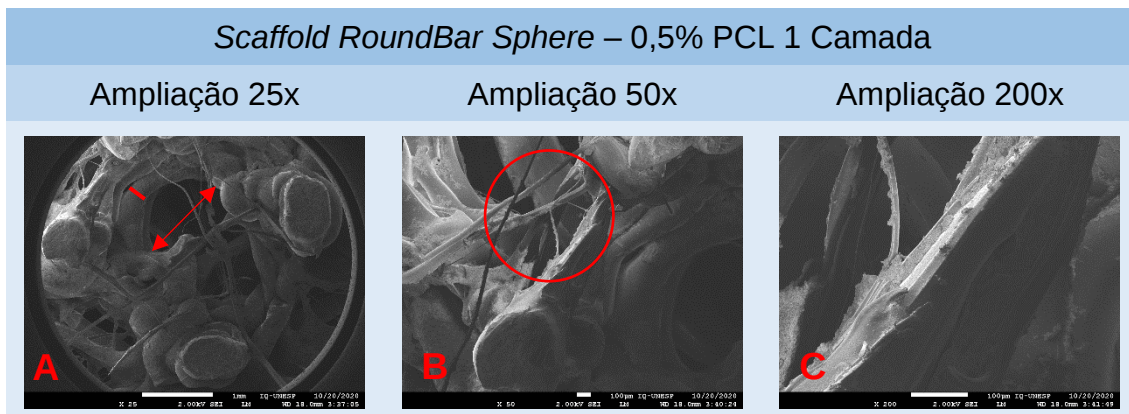


Figura 48 – Imagens MEV Scaffold RoundBar Sphere – 0,5% PCL 1 Camada.

Fonte: dados do autor.

Na Figura 48 são apresentados os resultados obtidos para o *scaffold RoundBar Sphere*, com recobrimento de 0,5% de PCL e uma camada. O poro medido foi de 1209 μ m e a espessura da camada medida foi de 296 μ m, ambas as medidas foram realizadas na imagem ampliada em 25x, destacado em A. No destaque em B, com ampliação de 50x, é possível observar uma grande quantidade de defeitos causados pela retração do material, e tais defeitos podem ser oriundos da baixa velocidade na retração do material, quando a ferramenta realiza o deslocamento, ou por fatores externos, como temperatura ambiente, já que a impressora não possui uma cabine isolada para a impressão. No destaque em C, imagem com ampliação de 200x, não foi possível verificar a presença do PCL, material de recobrimento, em toda a superfície do *scaffold*.

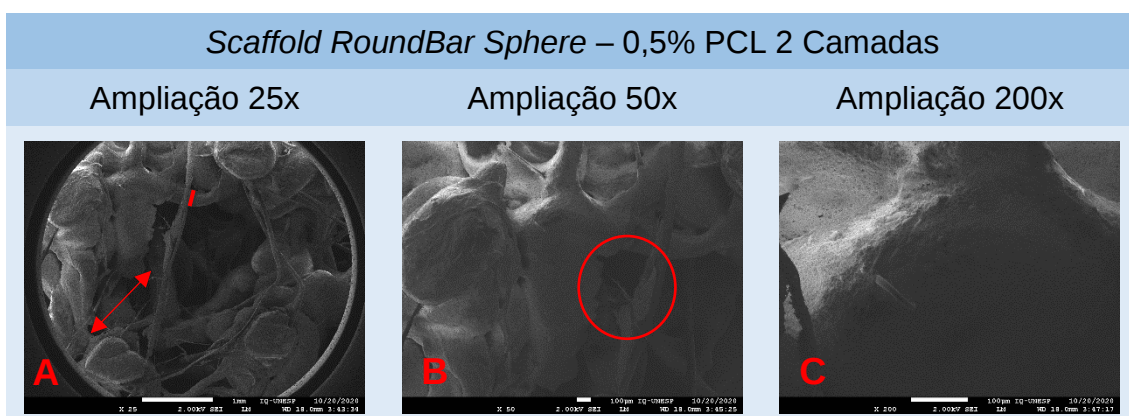


Figura 49 – Imagens MEV Scaffold RoundBar Sphere – 0,5% PCL 2 Camadas.

Fonte: dados do autor.

Na Figura 49 são apresentados os resultados obtidos para o *scaffold RoundBar Sphere*, com recobrimento de 0,5% de PCL e duas camadas. A partir

da imagem com ampliação de 25x, destaque em A, foi possível realizar a medição do poro, 1102 μ m, e a espessura da camada, 294 μ m. Os pequenos defeitos de fabricação, oriundos da velocidade de retração do material, também estão presentes neste *scaffold*, e podem ser observados no destaque em B cuja imagem tem ampliação de 50x. E, por fim, a partir da imagem com ampliação de 200x, destaque em C, foi possível observar o material de recobrimento PCL, que está sobre toda a superfície em destaque.

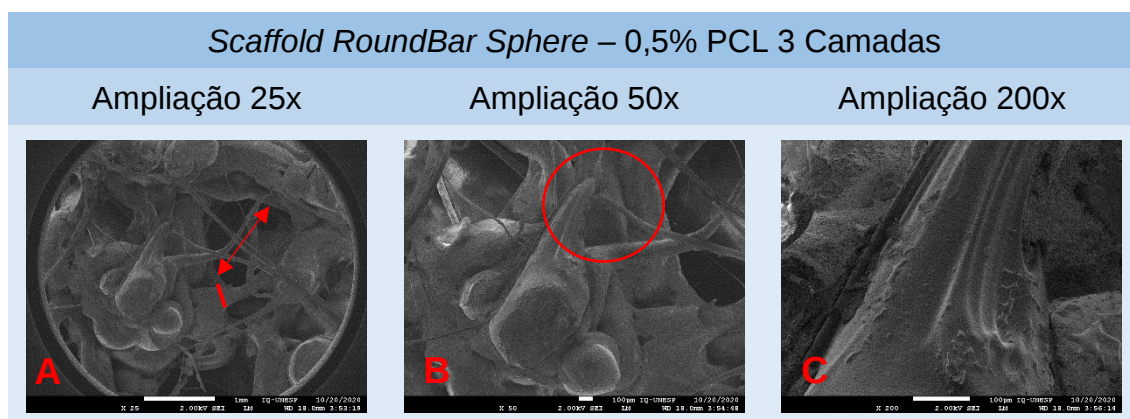


Figura 50 – Imagens MEV Scaffold RoundBar Sphere – 0,5% PCL 3 Camadas.

Fonte: dados do autor.

Na Figura 50 são apresentados os resultados obtidos para o *scaffold RoundBar Sphere*, com recobrimento de 0,5% de PCL e três camadas. Na imagem com ampliação de 25x, destaque em A, foi possível medir a espessura da camada, 319 μ m, e o tamanho do poro, 1178 μ m. No destaque B, ampliação de 50x, pode ser observada a adesão entre as camadas impressas. Por fim, no destaque C, ampliação de 200x, pode ser observado o PCL utilizado para recobrimento, na área destacada, a superfície do scaffold está, em grande parte, recoberta.

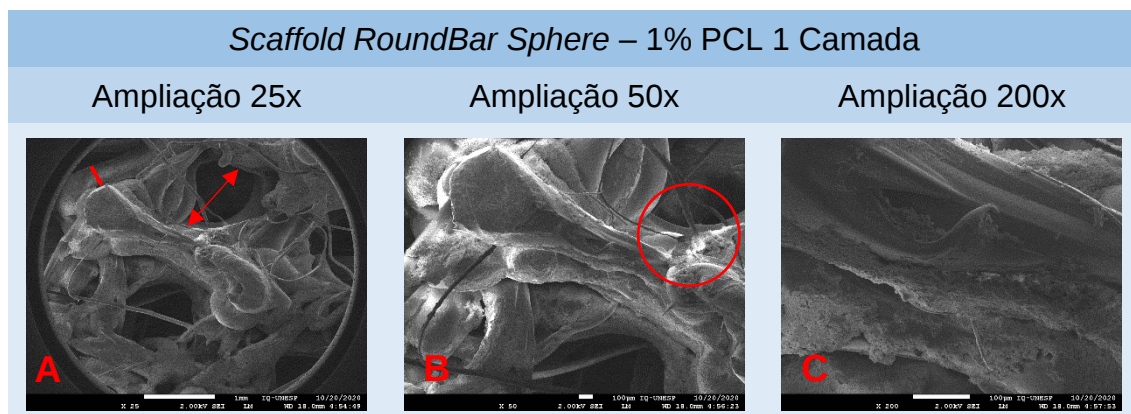


Figura 51 – Imagens MEV Scaffold RoundBar Sphere – 1% PCL 1 Camada.

Fonte: dados do autor.

Na Figura 51 são apresentados os resultados obtidos para o *scaffold RoundBar Sphere*, com recobrimento de 1% de PCL e uma camada. O poro medido tem $1083\mu\text{m}$ e a espessura da camada é de $300\mu\text{m}$, tais medidas foram realizadas a partir da imagem com ampliação de 25x, destaque A. No destaque B, ampliação 50x, observa-se a presença das deformações oriundas do processo de impressão. E por fim no destaque C, com ampliação de 200x, pode ser visto o PCL utilizado para recobrimento, aspecto poroso na imagem, sendo que o mesmo não está presente em toda a superfície do *scaffold*. Na imagem as regiões com aspecto liso são formadas de PLA.

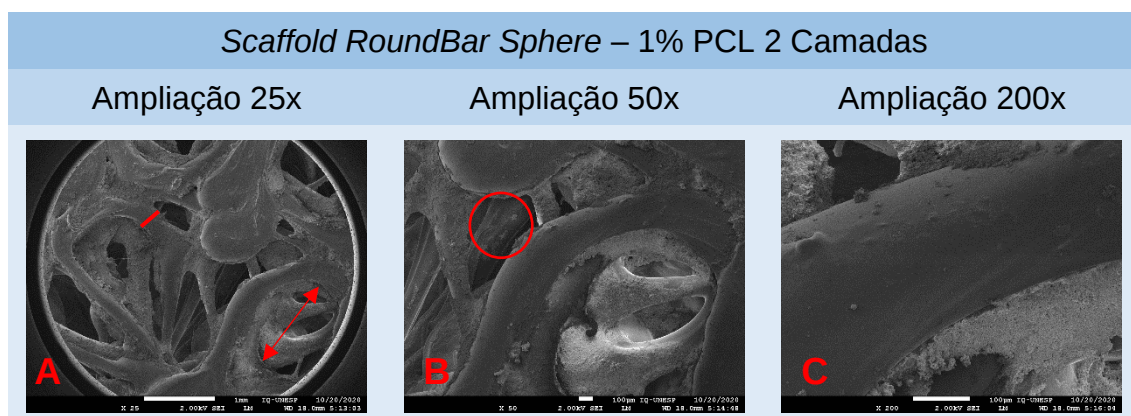


Figura 52 – Imagens MEV Scaffold RoundBar Sphere – 1% PCL 2 Camadas.

Fonte: dados do autor.

Na Figura 52 são apresentados os resultados obtidos para o *scaffold RoundBar Sphere*, com recobrimento de 1% de PCL e duas camadas, onde foram medidas a espessura da camada ($318\mu\text{m}$), e o tamanho do poro deste *scaffold* ($1195\mu\text{m}$) Estas medidas foram obtidas a partir da imagem destacada

A, que possui ampliação de 25x. A partir da imagem com ampliação de 50x, destaque B, pode-se observar a adesão correta entre as camadas de impressão. E por fim no destaque C, ampliação de 200x, observa-se o material de recobrimento, que está sobre grande parte da superfície do *scaffold*.

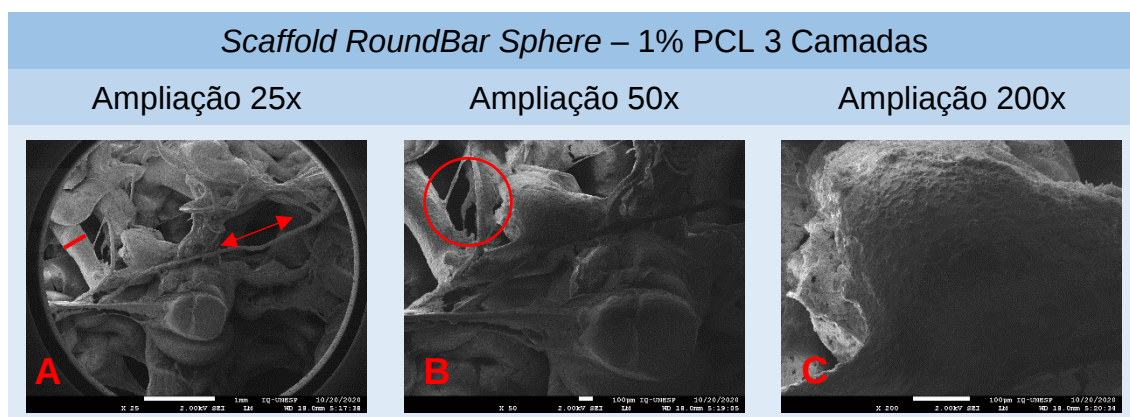


Figura 53 – Imagens MEV Scaffold RoundBar Sphere – 1% PCL 3 Camadas.

Fonte: dados do autor.

Na Figura 53 são apresentados os resultados obtidos para o *scaffold RoundBar Sphere*, com recobrimento de 1% de PCL e três camadas. No destaque A, imagem com ampliação de 25x, foi possível medir a espessura da camada, 360µm, e o tamanho do poro, 1105µm. Com uma ampliação de 50x, destaque B, foi possível observar algumas deformações já citadas. Já na imagem com ampliação de 200x, destaque C, foi possível observar a superfície do *scaffold* totalmente recoberta pelo material PCL que na imagem possui aparência porosa.

A Tabela 14 aponta uma síntese dos resultados obtidos, que serão utilizados na discussão para aprofundar a análise dos resultados.

Resultados MEV			
<i>Scaffold</i>	Camada	Poros	Observações
RoundBar Cube - PLA Puro	298µm	1137µm	Camadas aderidas corretamente; Pequenas ondulações na superfície; Pequenos defeitos relacionados à retração do material.
RoundBar Cube – 0,5% PCL 1 Camada	322µm	1015µm	Camadas aderidas corretamente; Pequenos defeitos relacionados à retração do material; Grandes falhas no recobrimento da superfície.
RoundBar Cube – 0,5% PCL 2 Camadas	286µm	880µm	Camadas aderidas corretamente; Pequenos defeitos relacionados à retração do material; Quantidade intermediária de falhas no recobrimento da superfície.
RoundBar Cube – 0,5% PCL 3 Camadas	318µm	1138µm	Camadas aderidas corretamente; Pequenos defeitos relacionados à retração do material; Poucas falhas no recobrimento da superfície.
RoundBar Cube – 1% PCL 1 Camada	292µm	1091µm	Camadas aderidas corretamente; Pequenos defeitos relacionados à retração do material; Grandes falhas no recobrimento da superfície.
RoundBar Cube – 1% PCL 2 Camadas	305µm	910µm	Camadas aderidas corretamente; Pequenos defeitos relacionados à retração do material; Grandes falhas no recobrimento da superfície.
RoundBar Cube – 1% PCL 3 Camadas	301µm	926µm	Camadas aderidas corretamente; Pequenos defeitos relacionados à retração do material; Superfície do <i>scaffold</i> totalmente recoberta.
RoundBar Sphere – PLA Puro	336µm	1160µm	Camadas aderidas corretamente; Pequenos defeitos relacionados à retração do material.
RoundBar Sphere – 0,5% PCL 1 Camada	296µm	1209µm	Camadas aderidas corretamente; Grandes defeitos relacionados à retração do material; Grandes falhas no recobrimento da superfície.
RoundBar Sphere – 0,5% PCL 2 Camadas	294µm	1102µm	Camadas aderidas corretamente; Pequenos defeitos relacionados à retração do material; Poucas falhas no recobrimento da superfície.
RoundBar Sphere – 0,5% PCL 3 Camadas	319µm	1178µm	Camadas aderidas corretamente; Pequenos defeitos relacionados à retração do material; Poucas falhas no recobrimento da superfície.
RoundBar Sphere – 1% PCL 1 Camada	300µm	1083µm	Camadas aderidas corretamente; Pequenos defeitos relacionados à retração do material; Grandes falhas no recobrimento da superfície.
RoundBar Sphere – 1% PCL 2 Camadas	318µm	1195µm	Camadas aderidas corretamente; Grandes defeitos relacionados à retração do material; Poucas falhas no recobrimento da superfície.
RoundBar Sphere – 1% PCL 3 Camadas	360µm	1105µm	Camadas aderidas corretamente; Grandes defeitos relacionados à retração do material; Superfície do <i>scaffold</i> totalmente recoberta.

Tabela 14 – Resultados MEV. Fonte: dados do autor.

5.5 Avaliação da Hemocompatibilidade dos *Scaffolds*

Os *scaffolds* puros e recobertos com PCL foram incubados em uma solução tampão fosfato-salino (PBS), e a avaliação da hemocompatibilidade dos corpos de prova foi realizada com seu eluato (lixiviado) incubados por 24 h em solução tampão (PBS). Borges et al. (2015) e Barros et al. (2016) consideram como um biomaterial não tóxico, caso os valores de hemólise sejam de até 5%. Desta forma, as amostras não apresentaram atividade hemolítica significativa para ensaios com 24 horas de incubação. A Figura 54 apresenta os valores de hemólise (%) dos *scaffolds* com as diferentes geometrias e distintos recobrimentos de PCL.

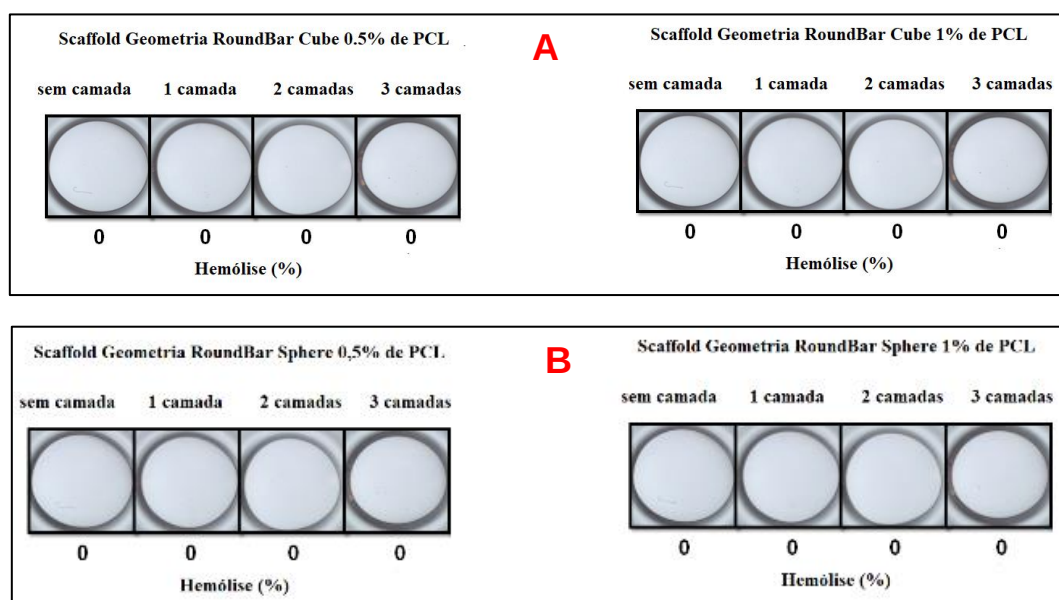


Figura 54 – Ensaio hemolítico dos *scaffolds* com as geometrias RoundBar Cube (A) e RoundBar Sphere (B) recobertos com 0,5% de PCL e 1% de PCL e diferentes camadas de recobrimento. Fonte: dados do autor

6 DISCUSSÃO

6.1 Geometria e Recobrimento dos *Scaffolds*

Quanto a geometria e utilização da tecnologia de manufatura aditiva FDM, Ciurana et al. (2013) aponta em seu trabalho a utilização da tecnologia de manufatura aditiva FDM para a fabricação de *scaffolds* de PLA e a impressora utilizada pertence ao mesmo projeto *RepRap*, assim como a impressora utilizada neste trabalho. O filamento utilizado foi um PLA branco com diâmetro de 1,75mm extrudado por um bico de 0,35mm, que possui um tamanho relativamente maior do que o utilizado neste projeto (0,2mm). Os *scaffolds* fabricados foram retangulares com a deposição do material em três orientações sendo 0/90°, 45/135° e 0/45/90/135°, para que fossem analisadas sua porosidade e comportamento mecânico. Segundo Ciurana et al. (2013), a tecnologia FDM, considerada versátil, de baixo custo e flexível, demonstrou-se eficaz para a fabricação de *scaffolds* de PLA.

Moura et al. (2016) realizou a fabricação de *scaffolds* de PLA utilizando técnicas de manufatura aditiva de extrusão derivadas da tecnologia FDM. Os *scaffolds* são retangulares com dimensões de 15 x 15 x 3mm, com diferentes tamanhos de poros, sendo as camadas fabricadas com a orientação 0/90°. Moura et al. (2016) aponta que a utilização da tecnologia de manufatura aditiva pode ser aplicada na fabricação de *scaffolds* de engenharia tecidual.

É importante observar que a geometria dos *scaffolds* fabricados por Ciurana et al. (2013) e Moura et al. (2016) são simples, como apontado na Figura 55, sendo as camadas fabricadas pela deposição do material em diferentes orientações, que formam os poros interconectados. Sendo assim, as dimensões e densidade destes poros são orientadas pela distância e espessura do filamento depositado. Neste trabalho são apresentados *scaffolds* formados pela repetição de geometrias complexas, geradas via *software*, que formam os poros interconectados conforme suas dimensões. Geometrias próximas as utilizadas neste projeto são apresentadas por Nguyen et al. (2011), que fabricaram *scaffolds* de magnésio utilizando a técnica SFF (*Solid Freeform Fabrication*), uma das técnicas de manufatura aditiva mais utilizadas para fabricação em metais.

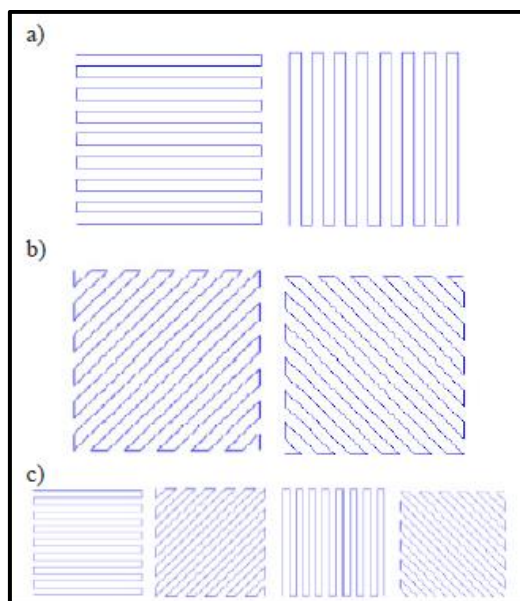


Figura 55 - Geometrias dos scaffolds retangulares: a) 0/90°; b) 45/135°; c) 0/45/90/135°. Fonte: adaptado de Ciurana et al. (2013).

As geometrias apresentadas por Nguyen et al. (2011) foram construídas em um software CAD, conforme pode ser observado na Figura 56, e repetidas para a formação dos *scaffolds*. Tais geometrias possuem diferentes dimensões, que quando repetidas formam poros com tamanho de densidade diferentes.

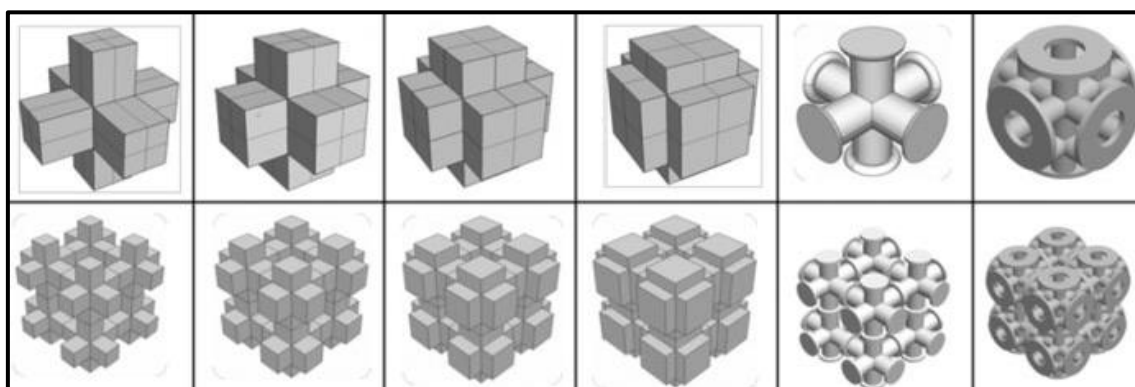


Figura 56 - Geometrias dos scaffolds de magnésio. Fonte: adaptado de Nguyen et al. (2011).

Braissant et al. (2014) e Chavanne et al. (2013) apontam geometrias próximas as utilizadas neste projeto, conforme pode ser observado na Figura 57, fabricaram *scaffolds* a base de hidroxiapatita a partir de uma tecnologia de manufatura aditiva voltada para a utilização de materiais cerâmicos, e tais *scaffolds* obtiveram resultados satisfatórios para suas aplicações.

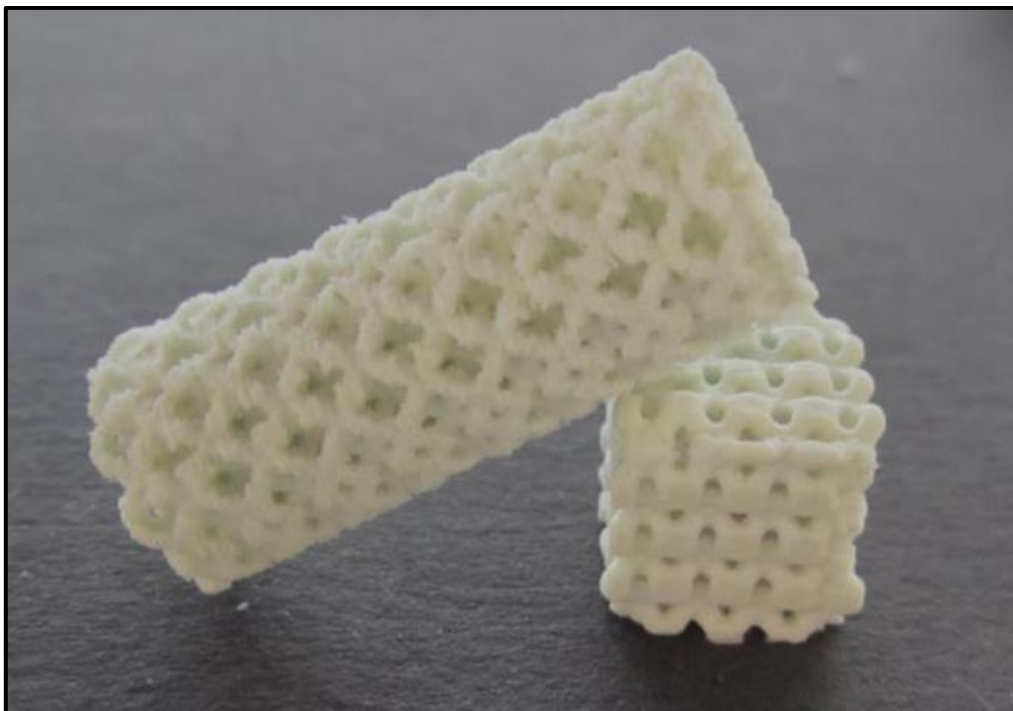


Figura 57 - Scaffolds de hidroxiapatita. Fonte: Chavanne et al. (2013).

Não há um consenso no que diz respeito ao tamanho dos poros para *scaffolds* utilizados em regeneração óssea. Yao et al. (2017) apontam dimensões próximas a 1000 μ m, Ahn et al. (2012) destacam que os poros devem ter dimensão entre 300-400 μ m e Patrício et al. (2014) fabricaram os *scaffolds* com poros de 350 μ m. Por mais que não haja um consenso sobre as dimensões dos poros, Murphy et al. (2010) apontam que tais dimensões devem girar em torno de 300 μ m. Os *scaffolds* fabricados neste trabalho possuem poros de dimensões maiores, porém estes serão reduzidos com o advento do recobrimento.

Em síntese, a tecnologia FDM empregada demonstrou-se sólida para a fabricação dos *scaffolds* de PLA, o tempo de fabricação foi relativamente curto e a precisão e qualidade das impressões foram muito satisfatórias, tornando possível a confecção dos corpos de prova que serão utilizados no decorrer deste projeto.

Em relação aos recobrimentos, os mesmos foram realizados a fim de aumentar a biocompatibilidade dos *scaffolds*, já que estes seriam fabricados de um PLA comercial, ou seja, um material que não está totalmente preparado para aplicações biológicas. Sendo assim, a utilização do PCL, polímero com alta

miscibilidade, já preparado para aplicações biológicas, foi utilizado para suprir estas questões de biocompatibilidade e bioatividade inerentes aos *scaffolds* de PLA.

A ideia da utilização do PCL em conjunto com o PLA partiu de diversos trabalhos que apontam a utilização de tais materiais em conjunto, para a fabricação de *scaffolds*. Em sua grande maioria estes materiais são utilizados em forma de blendas, ou seja, são misturados formando um único material. Yao et al. (2017) apontam a utilização da blenda PCL/PLA para a fabricação de *scaffolds* nanofibrosos, aplicados a regeneração do tecido ósseo craniano. Patricio et al. (2014) destacam a utilização da blenda PCL/PLA para a fabricação de *scaffolds* retangulares utilizando uma das técnicas de manufatura aditiva conhecidas. Em ambos os trabalhos citados os *scaffolds* foram fabricados com sucesso utilizando a blenda PCL/PLA, o mais importante a ser destacado neste caso é que existe a possibilidade de os materiais serem utilizados em conjunto sem que ocorra nenhum tipo de problemas decorrentes desta utilização.

É importante salientar que existem estudos em que é realizada a fabricação de *scaffolds* de PLA puro, como apontado por Ciurana et al (2013) e Moura et al. (2016), porém deve-se ter em mente que o PLA utilizado nestes casos já está preparado para aplicações biológicas. O mesmo ocorre com o PCL, pois existem diversos estudos que apontam sua aplicação na fabricação de *scaffolds*, até mesmo para aplicações em impressoras 3D a base de filamentos, como apontado por Muller et al. (2011). Porém como um dos objetivos deste estudo é realizar a fabricação de *scaffolds* de baixo custo, optou-se por realizar apenas o recobrimento com PCL, já que seria utilizada uma quantidade muito reduzida deste material sobre um material biocompatível de fácil acesso, o PLA.

O processo de recobrimento deu-se pelo processo de submersão, em que o modelo fabricado foi submerso em uma solução contendo acetona, água e PCL, em determinadas concentrações. A acetona mostrou-se um solvente interessante para tal aplicação, mesmo tendo uma ação lenta no que diz respeito a solubilidade do PCL, conforme apontado por Qin e Wu (2012) e Abel et al. (2019). A adição de água a solução ocorreu, pois quando o *scaffold* de PLA foi adicionado na solução contendo apenas acetona sofreu deformações, que

acabaram ocasionando o fechamento dos seus poros, bem como sua inutilização para as aplicações desejadas.

Alguns dos parâmetros utilizados para realização dos recobrimentos foram variados, sendo eles a concentração de PCL na solução e a quantidade de submersões realizadas. Quanto às concentrações, foram utilizadas pequenas quantidades de PCL, para que o custo dos *scaffolds* não fosse muito elevado.

Inicialmente foi realizado o recobrimento com a concentração de 0,5% PCL em um único mergulho, após 5 minutos os *scaffolds*, contendo todas as geometrias estudadas, foram retirados da solução e reservados por 24 horas para que secassem completamente. Após este procedimento, foi observado que os *scaffolds* possuíam nítidas regiões onde o PCL não teria aderido.

Por estas questões, optou-se por realizar uma nova submersão de 5 minutos e grande parte dos defeitos previamente apontados foram solucionados, com detecção de diversas regiões de PCL sobre a superfície dos *scaffolds*.

Para que fossem avaliados os efeitos do processo de recobrimento, foi utilizada uma outra solução, contendo 1% de PCL. O objetivo desta variação da solução é justamente avaliar os efeitos causados pelo recobrimento nos *scaffolds*, para averiguar possíveis mudanças nas suas propriedades mecânicas e biológicas.

É importante apontar que o processo de recobrimento não visa agir apenas na parte exterior dos *scaffolds*, mas também penetrar em todos os seus poros fazendo com que sua superfície seja totalmente formada por camadas de PCL, sem que este material feche os citados poros, o que poderia acarretar em problemas na aplicação. Por conta disto, todos os modelos fabricados e recobertos devem ser avaliados por análises mais precisas em que seu interior poderá ser observado em detalhes.

6.2 Ensaios Mecânicos de Compressão

As geometrias *RoundBar* e *SquareBar* mostram-se menos resistentes que os *scaffolds* formados por outras geometrias. Isto ocorre principalmente pelas grandes dimensões dos poros, 1500µm e 1750µm respectivamente, que limitam

as interconexões entre os poros, tornando-os mais frágeis, que acarreta na limitação de suas aplicações quando são envolvidas altas cargas.

A geometria *CrossBar* apresentou até 7,3 MPa de tensão limite de resistência à compressão, tendo desempenho intermediário quando comparado com as outras geometrias, e por conta das dimensões dos seus poros 1300µm, esta geometria é um pouco mais resistente que as geometrias *RoundBar* e *SquareBar*.

Quanto as geometrias *RoundBar+Sphere* e *RoundBar+Cube* são as mais resistentes dos *scaffolds* fabricados, seus poros são os menores dentre todas as geometrias, portanto as interconexões entre estes poros são maiores, tornando estes *scaffolds* mais resistentes.

Quanto a interferência do recobrimento nas propriedades mecânicas dos *scaffolds*, não é possível estabelecer, apenas com os ensaios mecânicos de compressão, uma relação direta entre os mesmos, já que o PCL proveniente do recobrimento não possui função estrutural, sendo orientada principalmente pela geometria e porosidade estabelecidas no modelo projetado.

Os *scaffolds* poliméricos aplicados em regeneração óssea, possuem diversas características distintas, conforme as suas aplicações. Por exemplo, os *scaffolds* fabricados por Patrício et al. (2014) são da blenda PCL/PLA, fabricados por uma tecnologia de manufatura aditiva, sendo a tensão limite de resistência à tração apontada pelo auto de 28 MPa, para diversas aplicações em engenharia tecidual.

Shahrezaee et al. (2018) apontam em seu trabalho a fabricação de *scaffolds* compostos pela blenda PLA/PCL, sendo que dentre as características analisadas a tensão limite de resistência apontada é 6,19 MPa. Segundo Ahn et al. (2012), *scaffolds* fabricados de PCL para aplicação em regeneração óssea apresentam tensão limite de resistência à compressão de 4,2 MPa.

O que se pode considerar, levando em conta a bibliografia observada, é que há uma grande variação no que diz respeito as propriedades mecânicas dos *scaffolds* aplicados a regeneração óssea, mesmo que os ossos sejam as estruturas que sofrem com os maiores esforços.

Levando em consideração os dados levantados, foram selecionadas duas geometrias para continuidade das análises, são elas *RoundBar+Cube* e

RoundBar+Sphere. Estas foram selecionadas por possuírem poros com as menores dimensões, 700 μ m e 750 μ m, e que com o acréscimo do material do recobrimento pode chegar à dimensão em torno de 300 μ m, que foi observado na bibliografia. A precisão da impressão, que não demonstrou nenhum problema durante o processo, e a resistência demonstrada por estes *scaffolds* foram outros fatores que favoreceram sua seleção para a continuidade das análises do projeto.

6.3 FTIR (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*)

A seguir serão comparados os espectros obtidos no FTIR com os espectros encontrados na bibliografia dos materiais PLA e PCL. Essa comparação tem o objetivo de avaliar os resultados do FTIR, sendo assim, os espectros obtidos e os levantados na bibliografia devem ser próximos uns aos outros.

Quanto ao espectro obtido para o PLA puro, Santana et al. (2018) aponta em sua pesquisa um espectro similar ao encontrado, conforme pode ser observado na Figura 58. Santana et al. (2018) divide o espectro em regiões em que são destacadas as principais bandas, que são importantes para a caracterização do material.

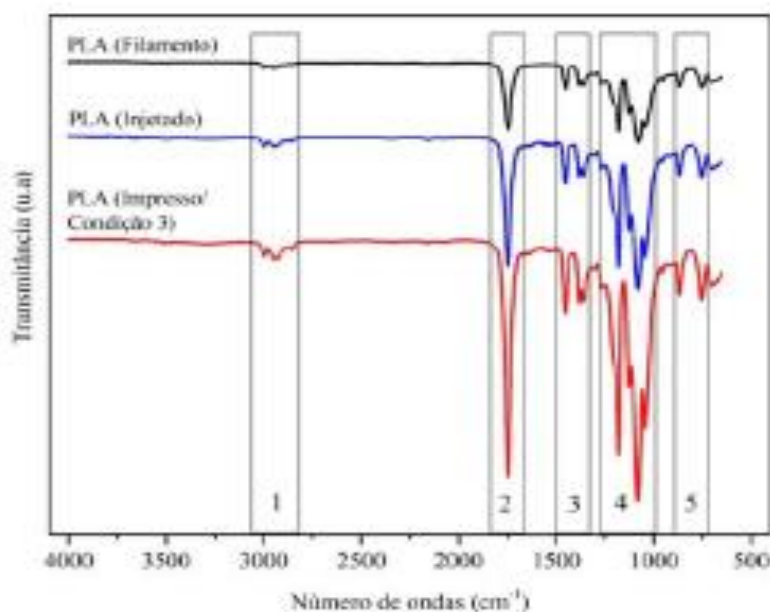


Figura 58 – Espectros PLA Puro 1. Fonte: adaptado de Santana et al. (2018).

Santana et al. (2018) destaca as principais bandas do PLA em regiões, sendo que a Região 1 agrupa bandas entre 2997 e 2855 cm^{-1} que são apontadas como vibrações de estiramento simétrico e assimétrico -CH e pertencem ao grupo CH_3 do PLA. A Região 2 agrupa bandas entre 1748 e 1712 cm^{-1} e são associados ao estiramento do carbonilo C=O pertencente ao grupo -CO-O- do PLA. A Região 3 agrupa bandas entre 1357 e 1453 cm^{-1} correspondentes à vibração de dobramento -CH, do grupo CH_3 do PLA. Já a Região 4 grupa as bandas entre 1016 e 1242 cm^{-1} e são ligadas às vibrações de estiramento C-O-C. Por fim, a Região 5 agrupa bandas entre 724 e 873 cm^{-1} que equivalem à vibração C-COO e vibrações da fase amorfa do PLA.

A Figura 59 aponta os espectros apresentados por Moazzen et al. (2019), é possível observar as várias bandas destacadas, sendo que se destacam as bandas em 2915 e 2848 cm^{-1} correspondentes ao estiramento assimétrico e simétrico -CH, do grupo CH_3 do PLA. As bandas em 1750 e 1730 cm^{-1} referentes ao estiramento do carbonilo C=O , do grupo -CO-O do PLA. A vibração de dobramento -CH, do grupo CH_3 , pode ser observado nas bandas em 1470 , 1394 e 1370 cm^{-1} , para o primeiro espectro apresentado, e em 1457 , 1384 e 1364 cm^{-1} , para o segundo espectro apresentado. Na faixa de bandas entre 1180 e 960 cm^{-1} pode ser observada a vibração de estiramento C-O.

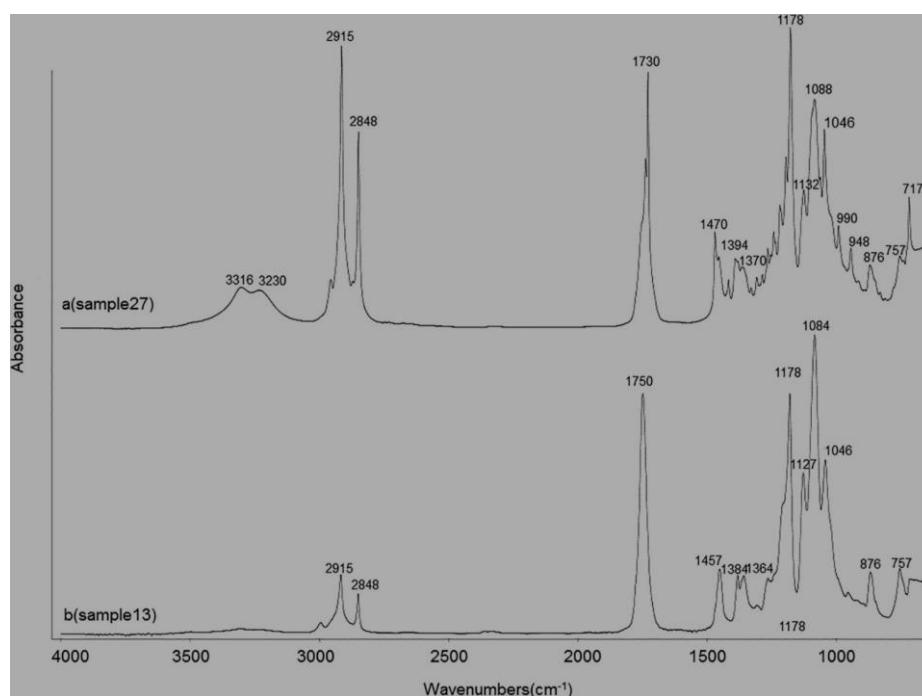


Figura 59 – Espectros PLA Puro 2. Fonte: adaptado de Moazzen et al. (2019).

Qin et al. (2016) destaca as principais bandas encontradas em sua análise utilizando o FTIR, são elas a banda em 2994 cm^{-1} referente a vibração de estiramento -CH, do grupo CH_3 do PLA. A banda em 1771 cm^{-1} referente a vibração do carbonilo C=O. As bandas em 1455 e 1382 cm^{-1} referentes ao dobramento -CH, do grupo CH_3 do PLA. E as bandas em 1230 , 1100 e 1052 cm^{-1} referentes à vibração de estiramento C-O.

Segundo Scaffaro et al. (2017), as bandas mais características do PLA estão presentes em 3000 cm^{-1} referente à vibração de estiramento assimétrico -CH, a banda em 2948 cm^{-1} referente à vibração de estiramento simétrico -CH, ambas pertencentes ao grupo CH_3 do PLA. A banda em 1747 cm^{-1} associada à vibração de estiramento do carbonilo C=O. As bandas em 1456 e $1315 - 1300\text{ cm}^{-1}$ são referentes à vibração de dobramento -CH, do grupo CH_3 do PLA. As bandas em 1265 , 1180 , 1129 e 1083 cm^{-1} estão associadas ao estiramento C-O. Por fim, a banda em 755 cm^{-1} refere-se às vibrações da fase amorfa do PLA.

Levando em consideração a bibliografia analisada, pode-se considerar que as principais bandas, comumente presentes no PLA, foram observadas no ensaio realizado apresentado no espectro de PLA Puro. As principais bandas encontradas foram em 2985 e 2901 cm^{-1} , relacionadas aos estiramentos assimétrico e simétrico -CH, a banda em 1746 cm^{-1} associada ao estiramento do carbonilo C=O. O dobramento -CH nas bandas em 1457 , 1401 e 1360 cm^{-1} . A vibração de estiramento C-O nas bandas em 1168 , 1121 e 1094 cm^{-1} . E por fim, a banda em 755 cm^{-1} correspondente as vibrações da fase amorfa do PLA.

Para o espectro de PCL puro, Lin e Lee (2003) apontam as principais bandas relacionadas ao material, conforme pode ser observado na Figura 60, onde são destacadas as bandas 1 e 2, 2950 e 2864 cm^{-1} correspondentes às vibrações de estiramento assimétrico e simétrico -CH, do grupo CH_2 do PCL. A banda 3 em 1755 cm^{-1} que está associada ao estiramento do carbonilo C=O, pertencente ao grupo -CO-O- do PCL. As bandas 4 e 5 em 1471 e 1433 cm^{-1} estão associadas ao dobramento simétrico -CH, do grupo CH_2 . Nas bandas 6 e 7 em 1361 e 1292 cm^{-1} pode ser observada à vibração de estiramento C-O e C-C. Em 1238 cm^{-1} , banda 8, está presente o estiramento assimétrico C-O-C, nas bandas 9, 10 e 11 em 1180 , 1046 e 1029 cm^{-1} , onde pode ser observado o

estiramento simétrico C-O-C. A banda 13 em 750 cm^{-1} referente as vibrações na fase amorfa do PCL.

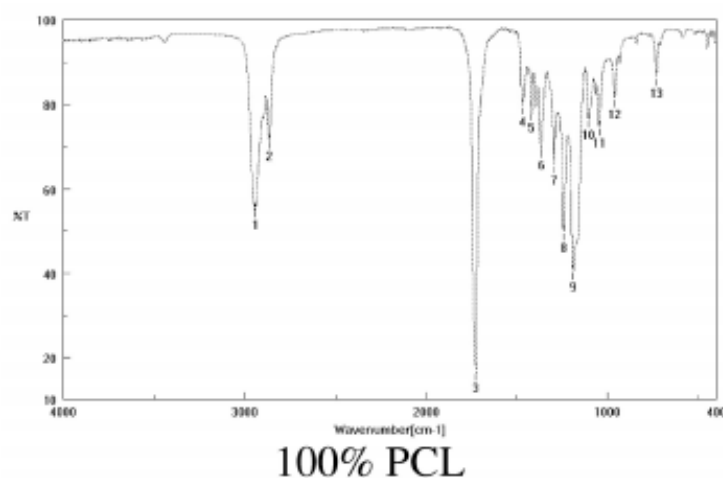


Figura 60 – Espectros PCL Puro 1. Fonte: adaptado de Lin e Lee (2003).

A Figura 61 aponta os espectros apresentados por Meikhail et. al (2018), em que podem ser observadas as principais bandas do PCL. São elas: a banda em 2951 cm^{-1} correspondente à vibração de estiramento assimétrico -CH, e a banda em 2872 cm^{-1} correspondente à vibração de estiramento simétrico -CH, ambas pertencentes ao grupo CH_2 do PCL. O estiramento do carbonilo C=O, do grupo -CO-O-, pode ser observado na banda em 1724 cm^{-1} . A banda em 1412 cm^{-1} está associada à vibração de dobramento simétrico -CH, do grupo CH_2 . As bandas em 1165 e 1025 cm^{-1} correspondem ao estiramento simétrico C-O-C.

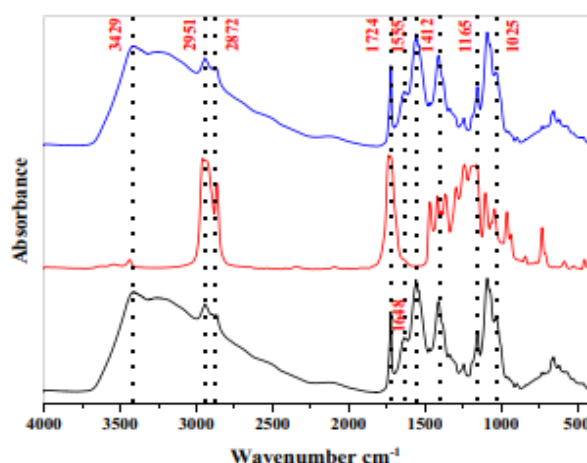


Figura 61 – Espectros PCL Puro 2. Fonte: adaptado de Meikhail et. al (2018).

Mofokeng e Luyt (2015) apontam as principais bandas características do PCL, são elas a banda em 2943 cm^{-1} correspondente à vibração de estiramento

assimétrico -CH do grupo CH_2 do PCL. A banda em 1756 cm^{-1} associada ao estiramento do carbonilo C=O, do grupo -CO-O- do PCL. A banda em 1453 cm^{-1} associada à vibração de dobramento simétrico -CH, do grupo CH_2 . E, por fim, as bandas em 1169 e 993 cm^{-1} correspondentes ao estiramento simétrico C-O-C.

Segundo Scaffaro et al. (2017), as principais bandas que estão presentes no espectro do PCL são a banda em 2949 e 2865 cm^{-1} correspondentes ao estiramento assimétrico e simétrico -CH, do grupo CH_2 . A banda 1727 cm^{-1} associada à vibração de estiramento do carbonilo C=O do grupo -CO-O- do PLA. A banda em 1293 cm^{-1} onde pode ser observado o estiramento C-O e C-C. A banda em 1240 cm^{-1} onde está presente o estiramento assimétrico C-O-C, já nas bandas em 1190 e 1157 cm^{-1} está presente o estiramento simétrico C-O-C.

Levando em consideração a bibliografia analisada, pode-se considerar que as principais bandas, comumente presentes no PCL, foram observadas no ensaio realizado apresentado no espectro de PCL Puro. As principais bandas observadas foram em 2944 e 2866 cm^{-1} quem apontam, respectivamente, as vibrações de estiramento assimétrico e simétrico -CH, pertencentes ao grupo CH_2 do PCL. A banda em 1726 cm^{-1} , corresponde ao estiramento do carbonilo C=O, pertencente ao grupo -CO-O-. A vibração de dobramento simétrico -CH pode ser observada em 1471 cm^{-1} . A banda 1294 cm^{-1} está associada ao estiramento C-O e C-C. A banda em 1241 cm^{-1} correspondente ao estiramento assimétrico C-O-C, já nas bandas 1175 e 1040 cm^{-1} , o estiramento simétrico C-O-C pode ser observado.

A partir das medições utilizando o FTIR, espera-se observar que os espectros dos *scaffolds*, conforme a variação do recobrimento, apresentem mais bandas características do PCL em comparação ao PLA. Ou seja, com o aumento na concentração de PCL e no número de camadas aplicadas sobre o *scaffold*, tende-se a ver as bandas em, aproximadamente, 1471 cm^{-1} do dobramento simétrico -CH, 1294 cm^{-1} do estiramento C-O e C-C, 1241 cm^{-1} do estiramento assimétrico C-O-C e 1175 e 1040 cm^{-1} do estiramento simétrico C-O-C, todas características do PCL (LIN; LEE, 2003; MEIKHAIL et al, 2018; MOFOKENG; LUYT, 2015; SCAFFARO et al, 2017).

Por exemplo, nos espectros obtidos para os *scaffolds* com geometria *RoundBar Cube*, com recobrimento na concentração de 0,5% PCL, com uma,

duas e três camadas. Algumas das bandas apresentadas são comuns entre o PLA e o PCL, como por exemplo as bandas entre 2987 e 2901 cm^{-1} correspondentes as vibrações de estiramento assimétricas e simétricas -CH, que são pertencentes aos grupos CH_3 do PLA e CH_2 do PCL, em 1749 cm^{-1} , correspondente ao estiramento do carbonilo C=O, pertencente ao grupo -CO-O- do PLA e PCL. Para os *scaffolds* recobertos com uma e duas camadas, pode ser observado o aparecimento de bandas em 1250 e 1244 cm^{-1} , características do PCL, onde está presente o estiramento assimétrico C-O-C (LIN; LE, 2003; SCAFFARO et al, 2017).

Por conta da baixa concentração, muitas bandas características do PLA podem ser observadas, porém observa-se que conforme o aumento no número de camadas mais bandas características do PCL estão presentes, por exemplo no *scaffold* recoberto com três camadas, onde bandas em 1296 cm^{-1} apontando a vibração C-O e C-C e em 1033 cm^{-1} apontando o estiramento simétrico C-O-C, estão presentes.

Conforme apontado anteriormente, o aumento na concentração e no número de camadas resulta em espectros mais próximos aos encontrados na bibliografia para o PCL, por exemplo para o *scaffold RoundBar+Cube* recoberto em uma solução com 1% de PCL e três camadas. O espectro obtido assemelha-se muito ao apresentado por Lin e Lee (2003), em que podem ser observadas bandas características do PCL, sendo as principais em 1467 cm^{-1} associada ao dobramento simétrico -CH, do grupo CH_2 , em 1296 cm^{-1} associada à vibração de estiramento C-O e C-C, em 1237 cm^{-1} onde pode ser observado o estiramento assimétrico C-O-C e, por fim, as bandas em 1178 e 1040 cm^{-1} que são correspondentes ao estiramento simétrico C-O-C.

É importante observar que para os *scaffolds* recobertos com uma e duas camadas, os espectros obtidos são próximos aos apresentados por Santana et al. (2018) e Moazzen et al. (2018), ou seja, assemelham-se mais aos espectros de PLA, por conta da baixa concentração de PCL e da pequena quantidade de camadas aplicadas.

Para o *scaffold RoundBar+Sphere* recoberto em uma solução contendo 0,5% de PCL com uma, duas e três camadas observam-se diversas bandas características do PCL, que são cada vez mais presentes conforme o número de

camadas é aumentado. No espectro obtido para o *scaffold* com uma camada, por exemplo, as bandas em 1271 cm^{-1} associada ao estiramento C-O e C-C e em 1189 e 1041 cm^{-1} associadas ao estiramento simétrico C-O-C, podem ser observadas e são características do PCL como descrito por Lin e Lee (2003). É interessante observar que a banda em 1271 cm^{-1} aparece timidamente no espectro do *scaffold* recoberto com uma camada, porém quando analisado o espectro do *scaffold* recoberto com duas camadas, nota-se o destacamento desta banda, agora presente em 1297 cm^{-1} , também associada ao estiramento C-O e C-C, o que reforça a teoria levantada sobre a influência da quantidade de camadas aplicadas sobre o *scaffold*.

Ainda para o espectro do *scaffold* recoberto com duas camadas, destacam-se as bandas em 1188 e 1067 cm^{-1} associadas à vibração de estiramento simétrico C-O-C, característico do PCL destacadas por Meikhail et. al (2018). Para o espectro do *scaffold* recoberto com três camadas, as bandas em destaque estão em 1256 cm^{-1} que aponta a vibração de estiramento assimétrico C-O-C e em 1175 e 1067 cm^{-1} associadas ao estiramento simétrico C-O-C, todas são características do PCL descritas por Scaffaro et al. (2017). Bandas características tanto do PCL como do PLA também podem ser observadas, como por exemplo as bandas entre 2972 e 2884 cm^{-1} relacionadas aos estiramentos assimétricos e simétricos -CH, dos grupos CH_3 do PLA e CH_2 do PCL e as bandas entre 1757 e 1744 cm^{-1} relacionadas à vibração de estiramento do carbonilo C=O, do grupo -CO-O- do PLA e do PCL.

Além disso, algumas bandas que são características apenas do PLA podem ser observadas, como por exemplo as bandas em 1361 cm^{-1} associada ao dobramento assimétrico -CH, do grupo CH_3 do PLA, e em 1086 cm^{-1} correspondente ao estiramento C-O, ambos presentes no espectro do *scaffold* recoberto com uma camada. Já para os espectros dos *scaffolds* recobertos com duas e três camadas, uma banda característica do PLA pode ser observada em 1406 cm^{-1} associada à vibração de dobramento -CH, do grupo CH_3 do PLA. Estas bandas aparecem por conta da baixa concentração de PCL na solução de recobrimento, bem como pode-se notar, que quanto mais camadas são aplicadas, menos bandas características apenas do PLA são observadas.

Nos espectros obtidos para o *scaffold RoundBar+Sphere* recobertos em solução contendo 1% de PCL com uma, duas e três camadas foram observadas diversas bandas características do PCL, no espectro do *scaffold* recoberto com uma camada a banda em 1252 cm^{-1} está associada ao estiramento assimétrico C-O-C, que conforme Lin e Lee (2003) é característica do PCL, assim como as bandas em 1165 e 1067 cm^{-1} que estão associadas ao estiramento simétrico C-O-C. Ainda nesse espectro existe uma banda, característica apenas do PLA, em 1406 cm^{-1} associada à vibração de dobramento -CH, do grupo CH_3 do PLA.

No espectro obtido para o *scaffold* recoberto com duas camadas, bandas em 1284 cm^{-1} relacionada ao estiramento C-O e C-C, e em 1182 , 1137 e 1060 cm^{-1} associadas ao estiramento simétrico C-O-C, todas características do PCL e descritas por Meikhail et. al (2018), podem ser observadas, porém bandas características apenas do PLA estão presentes, são elas as bandas em 1456 e 1406 cm^{-1} associadas ao dobramento -CH, do grupo CH_3 do PLA.

Já no espectro do *scaffold* recoberto com três camadas foram observadas as bandas do PCL em 1291 cm^{-1} associada ao estiramento C-O e C-C, e em 1175 , 1131 , 1086 e 1040 cm^{-1} associadas ao estiramento C-O-C. Neste espectro a vibração de dobramento -CH, do grupo CH_3 do PLA, pode ser observada nas bandas em 1456 e 1356 cm^{-1} .

O que se pode concluir da análise realizada é que o recobrimento total da superfície dos *scaffolds*, incluindo seu interior, está diretamente relacionada à concentração de PCL na solução e à quantidade de camadas aos quais os *scaffolds* foram submetidos. Ou seja, observa-se que quanto maior a concentração de PCL na solução menos bandas comuns apenas aos espectros do PLA aparecem. O mesmo ocorre com o número de camadas, nota-se que quanto mais camadas são aplicadas, mais bandas características apenas do PCL aparecem. Isso pode ser observado nos espectros do *scaffold RoundBar Cube* recobertos na solução com 1% de PCL, onde o *scaffold* recoberto com 3 camadas apresentou o resultado mais próximo aos encontrados na bibliografia para o material PCL. Isso pode ter ocorrido por conta da própria geometria do *scaffold*, já que para o *scaffold* com geometria *RoundBar+Sphere* o mesmo não

ocorreu, sendo que este último apresentou muitas bandas características do PLA, mesmo para a concentração e número de camadas mais elevadas.

Segundo o *software* utilizado para modelagem os *scaffolds*, os que possuem geometria *RoundBar+Cube* devem ter poros com dimensões de aproximadamente 700µm, já os que possuem geometria *RoundBar+Sphere* devem ter poros com dimensões de aproximadamente 750µm. Entretanto, micro deformações podem ter ocorrido durante a impressão dos *scaffolds* com geometria *RoundBar+Sphere*, deformações que não podem ser observadas a olho nu, fazendo com que a solução não preenchesse todo o interior do *scaffold*. Para averiguarmos com precisão o tamanho dos poros obtidos para cada geometria, e verificarmos o interior de cada *scaffold*, fez-se necessária uma análise via MEV, que será discutida a seguir.

6.4 MEV (Microscopia Eletrônica de Varredura)

Os resultados obtidos no MEV apresentaram diversos pontos que devem ser abertos à discussão, sendo o primeiro deles relacionado à geometria dos *scaffolds*, que apresentaram alguns defeitos oriundos do processo de impressão 3D. O defeito mais observado, com as ampliações realizadas no MEV, é conhecido como “ponte”, decorrente da retração do material durante a impressão. Esse defeito ocorre quando o bico extrusor realiza um movimento sobre uma região que não há material previamente depositado, como sobre os poros do *scaffold* por exemplo. É um dos defeitos mais comuns que podem ocorrer durante o processo de fabricação utilizando a tecnologia FDM, conforme apontado por Ngo et al. (2018), e pode ser solucionado aumentando a velocidade do motor responsável pela retração do filamento quando a camada é finalizada. Esse defeito deixou pequenos filamentos, principalmente sobre os poros, porém não afetou diretamente as propriedades mecânicas e a dimensão dos poros do *scaffold*.

Outra questão observada durante as análises obtidas no MEV foi a espessura da camada obtida. Como citado anteriormente, o bico extrusor utilizado para a impressão dos *scaffolds* é de 0,2mm, o que traz maior precisão durante a fabricação. A imagem obtida no MEV foi realizada com o *scaffold* em

pé, ou seja, nas imagens observa-se a visão superior do *scaffold*, e sendo assim, a espessura das camadas medidas variou em torno de 300 μ m. Isto ocorre por conta da própria natureza térmica do processo que causa pequenas deformações no componente impresso. A altura das camadas, no eixo Z dos *scaffolds*, foi estabelecida como 0,16mm (160 μ m), sendo 80% do diâmetro do bico extrusor, com é recomendado pelo próprio fabricante da impressora e do material.

Quanto as dimensões dos poros, foi citado anteriormente que as dimensões dos mesmos medidos via *software* são de 700 μ m para o *scaffold RoundBar+Cube*, e de 750 μ m para o *scaffold RoundBar+Sphere*. Nas imagens obtidas via MEV os poros dos *scaffolds* com geometria *RoundBar+Cube* e *RoundBar+Sphere* tiveram dimensões em torno de 1000 μ m. Esta grande variação ocorre justamente por conta do próprio processo térmico envolvido na impressão, que acaba trazendo pequenas deformações, principalmente em regiões em que não existem apoios, como os próprios poros dos *scaffolds*. Outra questão relacionada a esta variação é a própria precisão da máquina, que não é tão elevada por tratar-se de um equipamento de baixo custo. A utilização de um bico extrusor mais fino, algo em torno de 0,1mm e o fechamento do local de impressão, ou seja, uma impressora com a mesa de impressão isolada, reduziriam essas variações na geometria dos *scaffolds*.

A Figura 62 aponta uma comparação entre o *scaffold* projetado e o *scaffold* impresso, ambos com a geometria *RoundBar+Sphere* que possuem as deformações citadas. Como destacado anteriormente, a adição do material de recobrimento, PCL, acabaria por reduzir o tamanho dos poros. Isso ocorreu nos *scaffolds* desenvolvidos, em que pequenas reduções nos poros puderam ser observadas conforme a quantidade de camadas de PCL era adicionada.

Ainda sobre o recobrimento, foi observado que quanto maior a concentração de PCL na solução e quanto mais camadas aplicadas, menor a quantidade de falhas no recobrimento, o que já era esperado. Com a baixa concentração e poucas camadas aplicadas, os *scaffolds* não foram totalmente recobertos, o que foge do escopo do projeto, e sendo assim, fez-se necessária a aplicação de mais camadas com maior concentração, lembrando que a

quantidade de PCL aplicada sobre a superfície do *scaffold* é baixa por conta do custo envolvido com a utilização deste material.

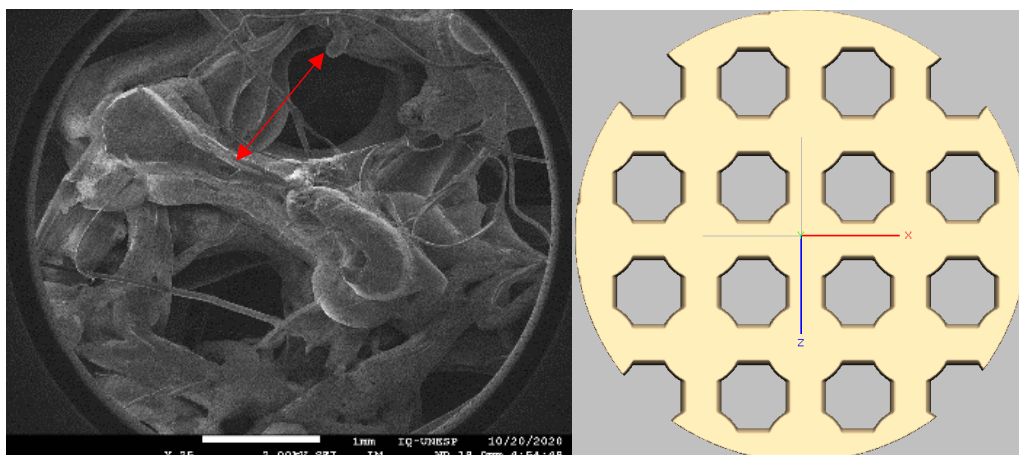


Figura 62 – Comparativo de geometrias RoundBar+Sphere. Fonte: dados do Autor.

Na próxima seção deste capítulo serão discutidas as aplicações diretas dos *scaffolds* desenvolvidos, apontando para estruturas ósseas conhecidas, levando em consideração o tamanho dos poros obtidos justamente as propriedades mecânicas relacionadas aos tecidos ósseos levantados na bibliografia.

6.5 Ensaios Hemolíticos

Como citado anteriormente, os ensaios hemolíticos foram realizados para verificar se os *scaffolds* fabricados seriam capazes de romper a membrana das células sanguíneas de carneiro. Caso houvesse uma resposta negativa, a hemólise (%) seria maior do que 5%, conforme apontado por Borges et al. (2015) e Barros et al. (2016).

Os *scaffolds* analisados apresentaram hemólise de 0% em todas as condições descritas, ou seja, nenhum deles foi capaz de romper a membrana das células sanguíneas de carneiro, não apresentando atividade hemolítica significativa. Isto ocorreu mesmo com o *scaffold* de PLA puro, que mesmo não sendo um material com elevada pureza não apresentou hemotoxicidade quando em contato com fluido sanguíneo.

Cesar et al. (2019) fabricou em seu trabalho membranas de PLA/Latex para aplicações biomédicas, foram realizados testes hemolíticos e os resultados mostraram-se satisfatórios, sendo que a membrana não apresentou características hemolíticas, tendo menos de 4% de hemólise apresentada, que como descrito é menor do que os 5%, que é considerado hemolítico. Isso aponta o potencial do PLA para aplicações biomédicas.

Perera et al. (2020) apontam que os *scaffolds* de PLA/SA/HA (SA – Alginato de Sódio, HA – Hidroxiapatita), fabricados em sua pesquisa, não apresentaram resultados hemolíticos significativos (3,29%), sendo viáveis para aplicações biomédicas.

Segundo Javanmard et al. (2016), os *scaffolds* de PCL/PLLA/colágeno, fabricados em sua pesquisa, apresentaram resultados não hemolíticos durante os testes de hemólise, sendo em média 1,68% para os ensaios realizados em triplicata, indicando que a o PCL possui alta hemocompatibilidade.

Os resultados obtidos durante os ensaios hemolíticos apontam que ambos os materiais utilizados para o desenvolvimento dos *scaffolds* são hemocompatíveis, até mesmo o PLA comercial utilizado, que não possui elevado grau de pureza. Sendo assim, o PCL utilizado no recobrimento dos *scaffolds*, têm função de elevar sua biocompatibilidade e bioatividade, quando em contato com tecido vivo, o que tende a favorecer o crescimento do tecido.

6.6 Aplicabilidade dos *Scaffolds* Desenvolvidos

Os *scaffolds* desenvolvidos possuem várias propriedades interessantes para aplicações em regeneração óssea, sendo mais específico para aplicações na substituição do tecido ósseo esponjoso, ou osso trabecular. Nesta seção serão discutidas essas aplicações, comparando os resultados obtidos para os *scaffolds* desenvolvidos, com os resultados encontrados na bibliografia.

A Tabela 15 aponta uma síntese das principais propriedades obtidas para os *scaffolds* desenvolvidos.

<i>Scaffold</i>	Tensão Lim. Res. a Compressão (MPa)	Módulo de Elasticidade (MPa)	Tamanho do Poro (μm)
RoundBar+Cube	27 – 28,5	4,15	880 - 1138
RoundBar+Sphere	10 – 11	2,7	1083 - 1209

Tabela 15 – Resultados obtidos pelo scaffolds desenvolvidos. Fonte: dados do autor.

Segundo Distler et. al (2020), as propriedades mecânicas do osso trabecular variam bastante, por exemplo o módulo de elasticidade está entre 0,5 e 1,5 GPa, já a tensão limite de resistência à compressão gira em torno de 2 a 12 MPa. Gregor et. al (2017) destacam em seu artigo que as propriedades mecânicas do osso trabecular variam de 0,1 – 1,0 GPa, sendo este seu módulo de elasticidade, e 1 – 10 MPa, sendo essa sua tensão limite de resistência à compressão. Já em Baptista e Guedes (2020), a tensão limite de resistência à compressão do osso trabecular é descrita como entre 2 e 12 MPa, e o módulo de elasticidade ficaria entre 50 e 500 MPa, portanto é descrito em seu artigo que a resistência mínima de um *scaffold* com alta porosidade, esteja em torno de 2,1 MPa.

Os *scaffolds* desenvolvidos possuem propriedades mecânicas próximas ao esperado para a aplicação, no que diz respeito ao módulo de elasticidade obtidos (4,15 e 2,7 MPa). Este está relacionado a capacidade de o material deformar e voltar para sua forma original, o PLA, material base do *scaffold*, possui alta dureza quando comparado ao osso trabecular, portanto tende a deformar menos quando está em sua região elástica, porém isso não é um problema para a aplicação apontada, pois serão vistos a seguir diversos *scaffolds* desenvolvidos por outros autores que apresentam essas mesmas questões levantadas.

Patrício et al. (2014) fabricaram em seu artigo *scaffolds* de PCL/PLA formados por uma blenda dos materiais e utilizados para aplicação em

regeneração óssea. Tais scaffolds atingiram 28MPa de tensão limite de resistência à compressão, o que está próximo aos resultados obtidos para os scaffolds desenvolvidos. Já os poros obtidos possuem 350µm de dimensão, o que é consideravelmente pequeno, quando comparado aos scaffolds desenvolvidos neste projeto, porém como citado anteriormente, não há um consenso no que diz respeito a dimensão dos poros de scaffolds utilizados para regeneração óssea.

Distler et. al (2020) mostram em seu artigo a fabricação de scaffolds formados por um material compósito de PLA e biovidro, sendo eles impressos em uma máquina com a tecnologia FDM e segundo o autor, demonstraram um potencial para aplicação como substituto para o osso esponjoso, ou trabecular, já que tiveram uma tensão limite de resistência à compressão de aproximadamente 18MPa e poros de aproximadamente 750µm.

Sendo assim, os scaffolds desenvolvidos apresentam ótimos resultados para a aplicação apontada no que diz respeito à resistência mecânica, já que diversos artigos apontam resultados próximos aos obtidos. Portanto, os pequenos defeitos oriundos do processo de impressão 3D, não interferiram diretamente nas propriedades dos scaffolds para sua aplicação final. Já no que diz respeito aos tamanhos dos poros, os mesmos estão de acordo com a bibliografia que variam de 20µm até 1500µm para aplicações em regeneração óssea, entretanto para a comprovação de sua eficácia, faz-se necessária a realização de testes *in vitro* para avaliar o crescimento ósseo quando em contato com o scaffold desenvolvido.

7 CONCLUSÕES

O objetivo de definir, projetar e variar as geometrias dos *scaffolds* foi atingida em sua totalidade. Foram desenvolvidos e prototipados 6 modelos com geometrias específicas e diferentes entre si, dos quais 2 seguiram para as etapas posteriores de caracterização.

O processo de fabricação utilizando a tecnologia FDM foi um sucesso, fabricando *scaffolds* 3D em PLA, mimetizando o osso trabecular e seus poros, aliando uma tecnologia barata, que diminui o custo dos *scaffolds*, com velocidade e precisão suficiente para a aplicação.

O recobrimento com PCL foi parametrizado com sucesso, contudo algum refinamento no processo se faz necessário, devido ao aparecimento de algumas falhas de cobertura. Também pode-se verificar a adesão e controle de espessura posteriormente para melhoria do processo.

As técnicas de caracterização utilizadas serviram de suporte para análise e validação dos *scaffolds* na aplicação em regeneração óssea. Os ensaios mecânicos apontaram os *scaffolds* mais resistentes e próprios para a aplicação. Já o MEV, auxiliou na comprovação das adesões entre as camadas e na medição dos poros obtidos, que estão próximos aos levantados na bibliografia. O FTIR apontou que o recobrimento com 3 camadas e na solução contendo 1% de PCL, é o mais indicado, pois cobre uniformemente toda a superfície do *scaffold*. Os ensaios hemolíticos auxiliaram na validação da aplicabilidade dos *scaffolds* quando em contato com tecido vivo.

Concluindo, o objetivo principal do projeto foi atingindo, obtendo êxito no desenvolvimento do *scaffold* 3D aliando as propriedades de biocompatibilidade e biodegradabilidade do PLA, simulando os poros do osso trabecular, com as características bioativas do recobrimento do PCL, promovendo condições potenciais à angiogênese, bem como capacidade para migração, diferenciação e proliferação de células de tecido ósseo.

8 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Como sugestões para trabalhos futuros, pode-se citar:

- O estudo de um processo de esterilização dos *scaffolds* recobertos com PCL;
- A realização de técnicas de caracterização biológica do *scaffold*, como a análise de toxicidade por exemplo;
- Definição / cálculo e simulação computacional das propriedades físicas dos *scaffolds* por análise estática linear ou elementos finitos para comparação / validação dos resultados de compressão mecânica;
- Testes *in vitro* com variações dos tamanhos dos poros para verificar o melhor tamanho de poro e desempenho para cultivo celular;
- Testes *in vitro* para definir e ajustar a taxa de degradação do *scaffold* x taxa de cicatrização/ formação do tecido ósseo;

9 REFERÊNCIAS

ABEL, S. B. et al Effect of benign solvents composition on poly(ϵ -caprolactone) electrospun fiber properties. **Materials Letters**, v. 245, p. 86-89, 2019.

AGRAWAL, C. M.; RAY, R. B. **Biodegradable polymeric scaffolds for musculoskeletal tissue engineering**. John Wiley & Sons, 2000. p. 141-150.

AHN, S. et al. A new hybrid scaffold constructed of solid freeform-fabricated PCL struts and collagen struts for bone tissue regeneration: fabrication, mechanical properties, and cellular activity. **Journal of Materials Chemistry**, v. 22, p. 15901-15909, 2012.

AMASS, W. et al. A review of biodegradable polymers: uses, current developments in the synthesis and characterization of biodegradable polyesters, blends of biodegradable polymers and recent advances in biodegradation studies. **Polymer International**, v. 47, n. 2, p. 89-144, 1998.

ARTIS. Tecnologias de prototipagem rápida: PolyJet, 2018. Disponível em: <<http://www.artis.com.br>>.

ASHMAN, O.; PHILLIPS, A. M. Treatment of non-unions with bone defects: wich option and why? **Injury**, v. 44, n. 1, p. 43-45, 2013.

BAPTISTA, R.; GUEDES, M. Morphological and mechanical characterization of 3D printed PLA scaffolds with controlled porosity for trabecular bone tissue replacement. **Materials Science & Engineering C**, v. 118, 111528, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111528>.

BARBANTI, S. H., et al. Polímeros bioabsorvíveis na engenharia de tecidos. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 15, n. 1, p. 13-21, 2005.

BARROS, N. R. et al. Oxytocin Sustained Release Using Natural Rubber Latex Membranes. **Int J Pept Res Ther**, v.22, p. 435-444, 2016.

BERTOL, L. S. **Contribuição ao estudo de prototipagem rápida, digitalização tridimensional e seleção de materiais no design de implantes personalizados**. 131 p. Dissertação (Mestrado Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais)- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008.

BORGES, F. A. et al. Natural rubber latex coated with calcium phosphate for biomedical application. **J. Biomater Science**, v. 27, n. 17, p. 1256–1268, 2015.

BRAISSANT, O. et al. Novel microcalorimetric assay for antibacterial activity of implant coatings: the cases of silver-doped hydroxyapatite and calcium hydroxide. **Society for Biomaterials**, v. 103, n. 6, p. 1161-1167, 2014.

BRITO, G. F. et al. Tenacificação do póli(ácido láctico) pela adição do termopolímero (etileno/acrilato de metila/metacrilato de glicidila). **Polímeros**, v. 22, n. 2, p. 164-169, 2012.

CALLISTER JR. W. D. **Ciência e Engenharia de Materiais: uma introdução**. 8ªEd. Rio de Janeiro. Rio de Janeiro: LTC, 2009.

CESAR, M. B. et al. Development and characterization of natural rubber latex and polylactic acid membranes for biomedical application. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 28, p. 220-230, 2019. <https://doi.org/10.1007/s10924-019-01596-8>.

CHAVANNE, P. et al. 3D printed chitosan/hydroxyapatite scaffolds for potential use in regenerative medicine. **Biomed Tech**, v. 58, 58 Suppl 1:/j/bmte.2013.58.issue-s1-C/bmt-2013-4069/bmt-2013-4069.xml., 2013. <https://doi.org/10.1515/bmt-2013-4069>.

CHOI, K. et al. Plasticization of poly(lactic acid) (PLA) through chemical grafting of poly(ethylene glycol) (PEG) via in situ reactive blending. **European Polymer Journal**, n. 49, p. 2356-2364, 2013.

CIURANA, J. de et al. Selecting process parameters in RepRap additive manufacturing system for PLA scaffolds manufacture. **Procedia CIRP**, n. 5, p. 152-157, 2013.

DIEGO, A. A. et al. Characterization of cerâmica powders used in the InCeram system do fixed dental prosthesis. **Material Research**, v. 10, n. 1, p. 47-51, 2007.

DISTLER, T. et al. Polymer-Bioactive glass composite filaments for 3D scaffold manufacturing by fused deposition modeling: fabrication and characterization. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 8, n. 552, 2020.

ESPOSITO, A. R.; CARDOSO, T. P.; Eliana Aparecida de Rezende Duek. Arcabouço de PLDLA/PCL-T aplicado como prótese de menisco. Patente de Invenção PI 1102316-3, 25 de junho de 2013.

FARAH, S. et al. Physical and mechanical properties of PLA, and their functions in widespread applications – A comprehensive review. **Advanced Drug Delivery Reviews**, n. 107, p. 367-392, 2016.

FISCHER, D. et al. In vitro Cytotoxicity testing of polycations: influence of polymer structure on cell viability and hemolysis. *Biomaterials*, v. 24, n. 7, p. 1121-1131, 2003.

GERMAIN, L. et al. 3D-printed biodegradable gyroid scaffolds for tissue engineering applications. **Materials and Design**, v. 151, p. 113-122, 2018.

GRANDO, N. **Segmentação de imagens tomográficas visando a construção de modelos médicos**. Centro Federal de Educação Tecnológica do Paraná, 2005. 141 p.

GREND, E. **Printing the future: the 3D printing and rapid prototyping source book**. 3rd. ed, Cambridge: Castle Island Company, 2006.

GREGOLIN, R. F. **Desenvolvimento, comportamento mecânico estrutural de uma prótese mandibular em liga de titânio produzida por sinterização direta a laser de metal (DMLS)**. 107p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica). Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista, 2013.

GREGOR, A. et al. Designing of PLA scaffolds for bone tissue replacement fabricated by ordinary commercial 3D printer. **Journal of Biological Engineering**. v. 11, eCollections, 31, 2017. <https://doi.org/10.1186/s13036-017-0074-3>.

GUO, C. et al. Novel fabrication method of porous poly(lactic acid) scaffold with hydroxyapatite coating. **Materials Letters**, v. 74, 197-199, 2012.

HUANG, Y. et al. Additive manufacturing: current state, future potential, gaps and needs, and recommendations. **Journal of Manufacturing Science and Engineering**, v. 137, n. 1, 014001, 2015. <https://doi.org/10.1115/1.4028725>.

ISO 10993-1 Biological evaluation of medical devices. 2018.

JAVANMARD, S. H. et al. In vitro hemocompatibility and cytocompatibility of a three-layered vascular scaffold fabricated by sequential electrospinning of PCL, collagen, and PLLA nanofibers, **Biomaterials Processing**, v. 31, n. 3, 2016. <https://doi.org/10.1177/0885328216652068>.

KUNDU, J. et al. An additive manufacturing-based PCL-alginate-chondrocyte bioprinted scaffold for cartilage tissue engineering, **Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine**, v. 24, p. 1286-1297, 2013.

LANZA et al. **Principles of Tissue Engineering**. 3rd. ed. London: Academic Press, 2007.

LI, X. et al. Composite PLA/PEG/nHA/Dexamethasone scaffold prepared by 3D printing for bone regeneration. **Molecular Bioscience**, v. 18, n. 6, e1800068, 2018. <https://doi.org/10.1002/mabi.201800068>.

LIN W.; LEE H. Design of a microporous controlled delivery system for theophylline tablets. **Journal of Controlled Release**, v. 89, p. 179-187, 2003.

LINO, F. J.; NETO, R. J. A prototipagem rápida na indústria cerâmica, comparação com outros sectores industriais. **Revista Kéramica**, v. 260, p. 14-28, 2003.

MAIA, M. et al. Reconstrução da estrutura facial por biomateriais: revisão de literatura. **Rev. Bras. Cir. Plást.** v. 25, n. 3, p. 566-572, 2010. <https://doi.org/10.1590/S1983-51752010000300029>.

MANO, E. B.; MENDES, L. C. **Introdução a Polímeros**. 2^a ed. São Paulo: Editora Blücher, 2004.

MAGALHÃES, L. C. **A influência dos parâmetros construtivos no comportamento mecânico de peças fabricadas pela técnica de modelagem por fusão e deposição (FDM)**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica e de Materiais) – UTFPR, Universidade Federal do Paraná, 2010.

MEIKHAIL, M. S. et al. Role of CdSe quantum dots in the structure and antibacterial activity of chitosan/poly ϵ - caprolactone thin films. **Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 5, p. 138-144, 2018.

MOURA, C. S. et al. Comparison of three-dimensional extruded poly(ϵ -caprolactone) and polylactic acid scaffolds with pore size variation. **Procedia CIRP**, v. 49, p. 209-212, 2016.

MOAZZEN, N. et al. Optimization and infrared spectrometric evaluation of the mechanical properties of PLA-based biocomposites. **Journal of Macromolecular Science**, v. 56, n. 1, p. 17-25, 2019.

MOFOKENG, J. P.; LUYT, A. S. Morphology and thermal degradation studies of melt-mixed poly(lactic acid) (PLA)/poly(ϵ -caprolactone) (PCL) biodegradable polymer blend nanocomposites' with TiO₂ as filler. **Polymer Testing**, v. 45, p. 93-100, 2015. <https://doi.org/10.1002/app.42138>.

MULLER, D. et al. Vascular Guidance: Microstructural scaffold patterning for inductive neovascularization. **Stem Cells International**, v. 2011, Article ID 547247, 2011. <https://doi.org/10.4061/2011/547247>.

MURPHY, C. M. et al. The effect of mean pore size on cell attachment, proliferation and migration in collagen-glycosaminoglycan scaffolds for bone tissue engineering. **Biomaterials**, v. 31, p. 461-466, 2010.

NAMPOOTHIRI, K. M. et al. An overview of the recent developments in polylactide (PLA) research. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 8493-8501, 2010.

NGO, T. D. et al. Additive manufacturing (3D printing): A review of materials, methods, applications and challenges. **Composites Part B**, v. 143, p. 172-196, 2018.

NGUYEN, T. L. et al. A novel manufacturing route for fabrication of topologically-ordered porous magnesium scaffolds. **Advanced Engineering Materials**, v. 13, n. 9, p. 872-881, 2011.

ONDER, O. C. et al. Preparation of monolithic polycaprolactone foams with controlled morphology. **Polymer**, v. 136, p. 166-178, 2018.

ONUMA, Y. et al. Identification of putative palytoxin as the cause of clupeotoxism. **Toxicon**, v. 37, n. 1, p. 55-65, 1999.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Life expectancy. Disponível em: <https://www.who.int/gho/mortality_burden_disease/life_tables/en/>. 2018.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Musculoskeletal conditions. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/musculoskeletal-conditions>>. 26 de novembro de 2019.

PADILHA, A. F. **Materiais de Engenharia: Microestruturas Propriedades**. 1. Ed. Curitiba, PR: Hemus, 2000.

PATRÍCIO, T. et al. Fabrication and characterisation of PCL and PCL/PLA scaffolds for tissue engineering. **Rapid Prototyping Journal**, v. 20, n. 2, p. 145-156, 2014.

PEREIRA, R. B.; MORALES, A. R. Estudo do comportamento térmico e mecânico do PLA modificado com aditivo nucleante e modificador de impacto. **Polímeros**, v. 23, n. 4, p. 198-202, 2014.

PERERA, C. J. C. et al. Characterization and hemocompatibility assessment of porous composite scaffolds with a biomimetic human clavicle macrostructure. **Health and Technology**, v. 10, p. 423-428, 2020.

PINTO, M. O. C. M. et al. Estudo da biocompatibilidade in vivo de arcabouço de póli(ácido láctico)(PLA) fabricados por impressão 3D para aplicações em engenharia tecidual. 9º Congresso Latino-Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais, p. 784-794, 2016.

PIRES, A. L. R. et al. Biomateriais: tipos, aplicações e mercado. **Química Nova**, v. 38, n. 7, p. 957-971, 2015.

QIN, X.; WU, D. Effect of different solvents on poly(caprolactone) (PCL) electrospun nonwoven membranes. **J Therm Anal Calorim**, v. 107, p. 1007-1013, 2012.

QIN, Y. et al. Development of active packaging film made from poly(lactic acid) incorporated essential oil. **Progress in Organic Coatings**, v. 103, p. 76-82, 2017.

RAMOS, S. L. F. **Membranas de policaprolactona obtidas por eletrofiação para utilização em engenharia tecidual**. 2011. 64p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

RATNER, B. D. et al. **Biomaterials science**: an introduction to materials in medicine. 2nd. ed. San Diego, Califórnia: Elsevier, 2004.

ROSA, D. S. et al. Biodegradabilidade e propriedades mecânicas de novas misturas poliméricas. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 11, nº 2, p. 82-88, 2001.

SANTANA et al. Estudo comparativo entre PETG e PLA para impressão 3D através de caracterização térmica, química e mecânica. **Revista Matéria**, v. 23, n. 4, artigo e-12267, 2018. <https://doi.org/10.1590/S1517-707620180004.0601>.

SASMAZEL, H. T. et al. Comparison of cellular proliferation on dense and porous PCL scaffolds. **Bio-Medical Materials and Engineering**, v. 18, p. 119-128, 2008.

SCAFFARO, R. et al. Preparation, characterization and hydrolytic degradation of PLA/PCL co-mingled nanofibrous mats prepared via dual-jet electrospinning. **European Polymer Journal**, n. 96, p. 266-277, 2017.

SHAHREZAEE, M. et al. In vitro and in vivo investigation of PLA/PCL scaffold coated with metformin-loaded gelatin nanocarriers in regeneration of critical-

sized bone defects. **Nanomedicine: Nanotechnology, biology and Medicine**, v. 14, p. 2061-2073, 2018.

SILVA, L. A. J. da. **Obtenção e caracterização de scaffolds de hidroxiapatita utilizando amido de milho como agente porogênico**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) - Universidade Estadual de Campinas, 95 p., 2012.

STRATASYS, I. ®. Tecnologia PolyJet. 2015. Disponível em: <
<http://www.stratasys.com/landing/404.aspx?item=n%2f3dprinters%2ftechnologies%2fpolyjet-technology&user=extranetn%5cAnonymous&site=stratasys>>

TEODORO, L. G. L. R. et al. Estudo da fabricação de um inserto para moldes de injeção manufaturado pelo processo de FDM. In: Setis - III Seminário de Tecnologia e Inovação e Sustentabilidade, Joinville, p. 260-278, 2014.

TURNBULL, G. et al. 3D bioactive composite scaffolds for bone tissue engineering. **Bioactive Materials**, v. 3, p. 278-314, 2018.

VARANASI V. G. et al. The Texas A&M University System. In vivo live 3D printing of regenerative bone healing scaffolds for rapid fracture healing. Patente dos Estados Unidos. US 20170143831, 25 de maio de 2017.

VOLPATO, N. et al. **Manufatura Aditiva: tecnologias e aplicações da impressão 3D**. 1ª ed. São Paulo: Blücher, 2017.

WILLIAMS, D. F. The Williams dictionary of biomaterials, 1ª ed. Liverpool University Press, 1999.

WILLIAMS, D. F. Compatibility of Implant Materials, Sector Pub. Ltd., London, 1976.

WONG, K. V.; HERNANDEZ, A. A review of additive manufacturing. International Scholarly Research Network, 2012.

YANG, S. et al. In vivo biodistribution, biocompatibility, and, efficacy of sorafenib-loaded lipid-based nanosuspensions evaluated experimentally in cancer. **International Journal of Nanomedicine**, v. 11, p. 2329-2343, 2016.

YAO, Q. et al. Three dimensional electrospun PCL/PLA blend nan fibrous scaffolds with significantly improved stem cell osteogenic differentiation and cranial bone formation. **Biomaterials**, n. 115, p. 115-127, 2017.

YOSHIMOTO, H. et al. A biodegradable nanofiber scaffold by electrospinning and its potential for bone tissue engineering. **Biomaterials**, v. 24, p. 2077-2082, 2003.

ZAGO, M. A. et al. **Tratado de Hematologia**. São Paulo: Atheneu, 2013.